AVALIAÇÃO DE FUNGOS ENTOMOPATOGÊNICOS VISANDO AO
CONTROLE DO CUPIM SUBTERRÂNEO *Heterotermes tenuis*
(HAGEN, 1858) (ISOPTERA, RHINOTERMITIDAE)

JOSÉ EDUARDO MARCONDES DE ALMEIDA

Engenheiro Agrônomo

Orientador: PROF. DR. SÉRGIO BATISTA ALVES

Dissertação apresentada à
Escola Superior de Agricultura
"Luiz de Queiroz", da
Universidade de São Paulo,
para a obtenção do título
de Mestre em Ciências Biológicas,
Área de Concentração:
Entomologia.

PIRACICABA

Estado de São Paulo - Brasil

Fevereiro/1994

Ficha catalográfica preparada pela Seção de Livros da
Divisão de Biblioteca e Documentação - PCLQ/USP

A447a Almeida, José Eduardo Marcondes de
Avaliação de fungos entomopatogênicos visando
ao controle do cupim subterrâneo *Heterotermes*
tenuis (Hagen, 1858) (Isoptera, Rhinotermitidae).
Piracicaba, 1994.
105p.

Diss.(Mestre) - ESALQ
Bibliografia.

1. Controle biológico 2. Cupim - Controle biológico 3. Fungo entomopatogênico 4. Fungo para controle biológico I. Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Piracicaba

CDD 632.736

AVALIAÇÃO DE FUNGOS ENTOMOPATOGÊNICOS VISANDO AO
CONTROLE DO CUPIM SUBTERRÂNEO *Heterotermes tenuis*
(HAGEN, 1858) (ISOPTERA, RHINOTERMITIDAE)

JOSÉ EDUARDO MARCONDES DE ALMEIDA

Aprovada em: 02. 02. 1994

Comissão julgadora:

Prof. Dr. Sérgio Batista Alves

ESALQ/USP

Prof. Dr. Carlos Fernando de A. Salgueirosa

UNICAMP

Dr. Enrico Beni Arrigoni

COPERSUCAR

Prof. Dr. Sérgio Batista Alves
Orientador

*Aos meus pais, Francisco e Ivanir
e irmão José Francisco,
E a todos aqueles que acreditam na
obra que Jesus Cristo pode operar
em nosso coração.*

OFEREÇO E DEDICO ESTE TRABALHO

AGRADECIMENTOS

A Deus por ter me dado saúde e força para que eu realizasse este curso de Pós-graduação.

Ao Departamento de Entomologia da ESALQ pela acolhida e por ter me colocado à disposição suas instalações e equipamentos.

Ao Prof. Sérgio Batista Alves, pela orientação, estímulo e amizade.

Aos professores do curso de Pós-Graduação em Entomologia da ESALQ, pelos ensinamentos e colaborações.

Ao Conselho Nacional de Pesquisa e Desenvolvimento Tecnológico (CNPq) pela bolsa de estudos.

À FINEP, pelo financiamento da pesquisa.

Aos funcionários do Departamento de Entomologia da ESALQ, especialmente a Solange Aparecida Vieira, João Angelo Cerignoni, Armando Longatti e Heraldo Negri pelo apoio e amizade.

Aos funcionários da biblioteca da ESALQ pela colaboração e apoio.

Aos colegas do curso de Pós-Graduação pelos incentivos e amizade.

À Usina Santa Helena por ter me cedido a propriedade da Fazenda Retiro para os experimentos de campo.

Ao Prof. Evôneo Berti Filho pela elaboração do Summary.

Aos meus familiares pelo apoio e incentivo.

Aos irmãos da Igreja Metodista Betânia pelas orações e amizade.

À Ana Paula, pelo amor e compreensão em todos os momentos.

Aos amigos de "república" José Baldin Pinheiro, Alcides Moino Júnior e Luís Francisco A. Alves.

A todos que contribuíram na realização deste trabalho.

SUMÁRIO

LISTA DE FIGURAS.....	vii
LISTA DE TABELAS.....	viii
RESUMO.....	xii
SUMMARY.....	xiii
1. INTRODUÇÃO.....	1
2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	4
2.1 - <i>Heterotermes tenuis</i> (Hagen, 1858).....	4
2.2 - Estudos de manutenção de cupins subterrâneos em laboratório.....	6
2.3 - Uso de iscas e armadilhas no controle de cupins.....	10
2.4 - Controle químico.....	15
2.5 - Controle microbiano.....	23
2.5.1 - Seleção de patógenos.....	24
2.5.2 - Modo de ação dos fungos nos cupins.....	27
2.5.3 - Uso de fungos entomopatogênicos para o controle de cupins.....	29
2.6 - Persistência dos fungos entomopatogênicos no solo.....	32
3. MATERIAL E MÉTODOS.....	35

3.1 - Seleção de recipientes e substratos para a manutenção do cupim <i>Heterotermes tenuis</i> em laboratório.....	35
3.2 - Comparação dos diferentes métodos de inoculação dos fungos entomopatogênicos e seleção dos isolados mais virulentos.....	37
3.2.1 - Seleção do método de inoculação....	37
3.2.2 - Seleção de isolados mais virulentos dos fungos <i>M. anisopliae</i> e <i>B. bassiana</i> ao cupim <i>H. tenuis</i>	39
3.3 - Teste sob condições de laboratório e de campo de diferentes tipos de iscas.....	41
3.3.1 - Teste de laboratório.....	41
3.3.1.1 - Teste de atratividade do cupim <i>H. tenuis</i> às iscas de papelão com fungo <i>B. bassiana</i> em laboratório.	42
3.3.2 - Experimentos de campo.....	43
3.4 - Transmissão dos fungos <i>B. bassiana</i> em colônias artificiais de <i>H. tenuis</i> em laboratório....	45
3.5 - Efeito sinérgico do inseticida imidacloprid com diferentes formulações do fungo <i>B. bassiana</i> em isca de papelão em laboratório.....	46

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	49
4.1 - Seleção de recipientes e substratos para a manutenção do cupim <i>H. tenuis</i> em laboratório.....	49
4.2 - Comparação dos diferentes métodos de inoculação dos fungos entomopatogênicos <i>M. anisopliae</i> e <i>B.</i> <i>bassiana</i> e seleção de isolados mais virulentos a <i>H. tenuis</i>	50
4.2.1 - Seleção do método de inoculação.....	50
4.2.2 - Seleção de isolados mais virulentos do fungo <i>B. bassiana</i> ao cupim <i>H. tenuis</i>	56
4.3 - Teste sob condições de laboratório e de campo de diferentes tipos de iscas.....	66
4.3.1 - Experimentos de laboratório.....	66
4.3.3.1 - Teste de atratividade do cupim <i>H. tenuis</i> às iscas de papelão com fungo <i>B. bassiana</i> em laboratório.....	69
4.3.2 - Experimentos de campo.....	69
4.4 - Transmissão dos fungos <i>B. bassiana</i> em colônias artificiais de <i>H. tenuis</i> em laboratório.....	74
4.5 - Efeito sinérgico do inseticida imidacloprid com diferentes formulações do fungo <i>B. bassiana</i> em isca de papelão.....	78

4.5.1 - Teste de concentração de imidacloprid..	
.....	78
4.5.2 - Teste de sinergismo.....	80
5. CONCLUSÕES.....	85
6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	87

LISTA DE FIGURAS

- Figura 1. Número de isolados de *Beauveria bassiana* e *B. brongniatii* aplicados sobre o cupim *Heterotermes tenuis* sob condições de laboratório.....57
- Figura 2. Número médio de cupins *Heterotermes tenuis* coletados em diferentes tipos de iscas em condições de campo, após 8 dias. Piracicaba-SP, 1992.....72
- Figura 3. Número médio de cupins *Heterotermes tenuis* coletados em diferentes tipos de iscas dispostas em grupos em condições de campo, após 8 dias. Piracicaba-SP, 1992.....73
- Figura 4. Mortalidade de cupins *Heterotermes tenuis* contaminados por *Beauveria bassiana* em colônias artificiais por Introdução Inoculativa. (Temperatura 26°C, U.R. 70±10% e fotofase 12 horas).....77

LISTA DE TABELAS

Página

Tabela 1. Mortalidade confirmada de <i>Heterotermes tenuis</i> pulverizados com diferentes suspensões de <i>Beauveria bassiana</i> isolado 447 em laboratório.....	52
Tabela 2. Mortalidade confirmada de <i>Heterotermes tenuis</i> pulverizados com diferentes suspensões de <i>Metarhizium anisopliae</i> isolado PL-43 e 865 em laboratório.....	53
Tabela 3. Mortalidade de <i>Heterotermes tenuis</i> colocados em substrato impregnado com conídios de <i>Beauveria bassiana</i> isolado 447, em laboratório	55
Tabela 4. Mortalidade de <i>Heterotermes tenuis</i> causada por diferentes isolados de <i>Beauveria bassiana</i> comparados com o isolado padrão 447, em laboratório	58

- Tabela 5. Tempo Letal Mediano e mortalidade final
confirmada de *Heterotermes tenuis* provocadas por
isolados selecionados de *Beauveria bassiana*...64
- Tabela 6. Esporulação do fungo *Beauveria bassiana* de
diferentes isolados em placas com B.D.A.,
arroz pré-cozido e cadáveres de *Heterotermes*
tenuis em laboratório66
- Tabela 7. Número médio de indivíduos de *Heterotermes tenuis*
atraídos por diferentes materiais após 7 dias em
condições de laboratório.....67
- Tabela 8. Atratividade de diferentes materiais para
Heterotermes tenuis sob condições de laboratório.
.....68
- Tabela 9. Mortalidade de *Heterotermes tenuis* em populações
artificiais contaminados por insetos previamente
infectados com conídios de *Beauveria bassiana*..75

- Tabela 10. Porcentagem de mortalidade média de cupins *Heterotermes tenuis* sujeitos à iscas tratadas com diferentes concentrações de imidacloprid em iscas atrativas em laboratório.....79
- Tabela 11. Porcentagem de atração de *Heterotermes tenuis* à iscas tratadas com diferentes concentrações de imidacloprid80
- Tabela 12. Tempo Letal 50 (TL₅₀) de *Heterotermes tenuis* contaminados com o fungo *Beauveria bassiana* em diferentes formulações associado ao inseticida imidacloprid na concentração 0,001% em iscas atrativas em laboratório.....81
- Tabela 13. Tempo Letal 50 (TL₅₀) para *Heterotermes tenuis* contaminados com o fungo *Beauveria bassiana* em diferentes formulações com a concentração 0,01% de imidacloprid, em iscas atrativas em laboratório.....82

Tabela 14. Porcentagem de mortalidade de <i>Heterotermes</i> <i>tenuis</i> contaminados com o fungo <i>Beauveria</i> <i>bassiana</i> em diferentes formulações e duas concentrações de imidacloprid em iscas atrativas após 8 dias.....	83
---	----

AVALIAÇÃO DE FUNGOS ENTOMOPATOGÊNICOS VISANDO CONTROLE DO
CUPIM SUBTERRÂNEO *Heterotermes tenuis* (HAGEN,
1858)(ISOPTERA, RHINOTERMITIDAE).

Autor: José Eduardo Marcondes de Almeida

Orientador: Prof. Dr. Sérgio Batista Alves

RESUMO

Estudou-se em condições de laboratório, a potencialidade dos fungos *Beauveria bassiana* (Balz.) Vuill., *Beauveria brongniartii* (Sacc.) Peth e *Metarhizium anisopliae* (Metsch.) Sorok. para o controle do cupim subterrâneo *Heterotermes tenuis* (Hagen, 1858), importante praga da cana-de-açúcar no Brasil. Foram testados 134 isolados de *Beauveria bassiana*, 8 isolados de *Beauveria brongniartii* e dois isolados de *Metarhizium anisopliae*. O isolado selecionado foi o 634 de *B. bassiana* por ter causado 90% de mortalidade em *H. tenuis* e boa esporulação em diversos meios de cultura e sobre o inseto teste. Determinou-se também que o inseticida imidacloprid pode ser associado com o fungo *B. bassiana* nas formulações conídio puro, pasta de arroz e micélio seco, nas armadilhas de papelão especialmente selecionadas para essa finalidade. Verificou-se também que o fungo *B. bassiana* pode ser transmitido para outros indivíduos sadios de uma população de *H. tenuis*.

EVALUATION OF ENTOMOPATHOGENIC FUNGI FOR CONTROLLING THE
SUBTERRANEAN TERMITE *Heterotermes tenuis* (HAGEN,
1858)(ISOPTERA, RHINOTERMITIDAE)

Author: José Eduardo Marcondes de Almeida

Adviser: Dr. Sérgio Batista Alves

SUMMARY

The potentiality of the fungi *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuill., *B. brongniartii* (Sacc.) Peth. and *Metarhizium anisopliae* (Metsch.) Sorok. was studied under laboratory conditions, for the control of the subterranean termite *Heterotermes tenuis* (Hagen, 1858) which is an important sugarcane pest in Brazil. 134 isolates of *B. bassiana*, 8 of *B. brongniartii* and 2 of *M. anisopliae* were tested. The isolate 634 of *B. bassiana* was selected for its high virulence (90% of mortality of *H. tenuis*) as well as for its good sporulation on several culture media and on the insect test. As to the cardboard traps for the termites it was observed that the insecticide imidacloprid may be associated with the fungus *B. bassiana* in the formulations pure conidia, rice paste and dry mycelium. It was observed that the fungus *B. bassiana* may be transmitted to other healthy individuals of a population of *H. tenuis*.

1 - INTRODUÇÃO

A cana-de-açúcar é considerada uma das principais culturas do Estado de São Paulo, devido à sua importância na produção de açúcar e álcool. Assim como as demais culturas, é atacada por diversas pragas, entre estas, os cupins.

A espécie *Heterotermes tenuis* é considerada a mais importante, devido à sua vasta distribuição no Estado e intensidade de danos que provoca. PIZANO & FONTES (1986) relataram, pela primeira vez, a ocorrência de *H. tenuis* no Brasil na cultura da cana.

Os prejuízos causados por esta espécie de cupim dependem da infestação, chegando a atingir em algumas áreas, prejuízos de até 10 t/ha/ano (NOVARETTI, 1985). A cana-de-açúcar é atacada durante a fase de plantio, ocorrendo falhas na germinação das gemas, no período de maturação e após o corte, nas soqueiras, causando falhas na

rebrotam.

O ninho de *H. tenuis* é subterrâneo e difuso, o que torna seu controle muito difícil, sendo necessários inseticidas de alto poder residual, como os clorados. Estes inseticidas causam sérios problemas ao ambiente, contaminando animais e o homem, sendo responsáveis por uma série de doenças. Por isso, a sua aplicação foi proibida em cana-de-açúcar através da portaria 329 do Ministério da Agricultura de 02 de setembro de 1985.

Como alternativas de controle estão surgindo novos inseticidas de poder residual mais baixo e com outros modos de ação, assim como o controle microbiano, com fungos entomopatogênicos.

Os fungos entomopatogênicos são favorecidos pelas condições de temperatura, umidade e baixa radiação solar que ocorrem nos ninhos de cupins. Além disso, os cupins possuem hábitos comportamentais, tais como: canibalismo, lambimento do corpo e trofolaxia, além de aspectos biológicos como a fisogastria da rainha que facilitam a disseminação desses patógenos nas colônias e o desenvolvimento de epizootias, (FERNANDES, 1991).

O Laboratório de Patologia dos Insetos do Departamento de Entomologia da Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz" /USP, vem desenvolvendo trabalhos com os fungos *Beauveria bassiana* e *Metarhizium*

anisopliae para o controle de cupins de pastagens (FERNANDES & ALVES, 1992; ALMEIDA et al., 1992). Os resultados dessas pesquisas vêm demonstrando o potencial que esses fungos possuem, ficando evidente a necessidade de estudos com estes patógenos para o controle do cupim *H. tenuis*, utilizando uma estratégia específica de controle.

O objetivo principal desta pesquisa foi selecionar isolados de fungos altamente patogênicos para *H. tenuis* visando utilizá-los na estratégia de controle por Introdução Inoculativa.

2 - REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 - *Heterotermes tenuis* (Hagen, 1858)

A espécie *Heterotermes tenuis* é muito pouco estudada em todos os aspectos. Sua ocorrência em cana-de-açúcar foi constatada apenas no Panamá, Jamaica e Ilhas Luward em 1924 por Snyder & Zateck.

No Brasil a sua ocorrência e constatação em cana-de-açúcar foi feita por PIZANO & FONTES (1986), quando também encontraram a espécie *Heterotermes longiceps*, que é morfológicamente semelhante ao cupim *H. tenuis*. Essas espécies de cupins ocorrem principalmente em solos arenosos, penetram nos toletes e rizomas e são capazes de danificar o colmo.

Segundo GALLO et al. (1988), no plantio dos toletes de cana-de-açúcar ou de tubérculos, quando o ataque é intenso, torna-se necessário o replante.

ALMEIDA et al. (1989) verificaram que as

espécies de maior distribuição no Estado de São Paulo são do gênero *Cornitermes*, porém as espécies dos gêneros *Heterotermes* e *Procornitermes* estão mais associadas com danos aos canaviais.

ARRIGONI et al. (1989) constataram que a espécie *H. tenuis* foi a mais freqüente e constante nos sessenta municípios em que estudaram a ocorrência de cupins em canaviais.

São poucos os trabalhos ou relatos sobre a espécie *H. tenuis*, já que sua constatação como praga da cana-de-açúcar é recente. Também, por ser um cupim subterrâneo e ter colônia difusa, torna-se difícil estudar a sua bioecologia e o seu controle.

De acordo com MILL (1992), os cupins pragas se encontram-se em três categorias: 1-aqueles que são pragas esporádicas e ocorrem ocasionalmente sem causar danos econômico; 2-aqueles que são pragas em potencial, ou seja, poderiam ser importantes se ocorresse um aumento do número de colônias e 3-aqueles que são pragas regulares, isto é, espécies que estão sempre presentes e causam dano econômico na cultura.

O cupim *H. tenuis* pode ser enquadrado nas três categorias já que é considerado praga das seguintes culturas: cana-de-açúcar, soja, amendoim, algodão, arroz, milho, pastagens, essências florestais e frutíferas.

2.2 - Estudos de manutenção de cupins subterrâneos em laboratório.

Para o estudo da biologia, comportamento e hábito de um inseto, é necessário que se possa observá-lo constantemente. No caso de insetos sociais seria interessante a observação em uma colônia artificial.

Os cupins de hábitos subterrâneos podem formar colônias em laboratório, com possibilidade de serem observados e manuseados para estudos de biologia e controle (ADAMSON, 1941). Este autor usou placas de vidro com espaço ocupado por madeira, solo, areia e outros materiais nos quais os cupins podem caminhar e formar túneis e galerias. A distância entre as placas pode ser equivalente à altura dos insetos. A luz pode ser evitada através de uma cobertura com papel ou pano preto e a água pode ser fornecida por um fio de água no vidro.

BECKER (1969) estudou a manutenção de cupins em laboratório, observando que o melhor tipo de alimento para cupins subterrâneos é a madeira de baixa densidade, e substrato ou solo arenoso ou a vermiculita. Para aeração, é necessário uma sala com boa ventilação, mas sem correntes de ar. A maioria dos cupins necessita de umidade relativa saturada entre 90 a 92%. A temperatura pode variar de 20 a 28°C com temperatura ótima a 26°C. Os agentes contaminantes

de colônias de cupins subterrâneos são inúmeros, mas os que mais se destacam são os fungos *Aspergillus flavus* e *Trichoderma viridae*. Alguns ácaros são parasitos de cupins, fixando-se sobre os mesmos e chegando a eliminar uma colônia; os mais conhecidos são *Tyrolichus casei* Ouds e *Pyemotes scolyti* Huds.

Os recipientes a serem utilizados devem ser providos de espaço necessário para o crescimento da colônia e aeração, e devem manter as condições ecológicas e nutricionais da colônia, além de não permitir a fuga dos insetos. Os materiais mais utilizados são vidros, polietileno, cerâmica, concreto, cimento-asbestos, metal ou madeira. O polietileno e madeira podem ser destruídos após algum tempo.

As colônias podem ser iniciadas a partir de adultos alados, ou seja, o casal real, o que demanda maior tempo para a formação da colônia, ou através da coleta de operários e soldados que possuem neotenia, a capacidade de formar uma rainha e um rei a partir de operários ou ninfas de substituição (BECKER, 1969).

Dentre todos os fatores apresentados por BECKER, (1969) o mais importante é a umidade. AHMAD et al. (1982) estudaram o efeito da umidade relativa sobre operários e soldados de *Heterotermes indicola* usando as seguintes soluções para a obtenção das umidades relativas;

K_2SO_4 (97% U.R.); $Na_2S_2O_3$ (79% U.R.); $Ca(NO_3)_2 \cdot 4H_2O$ (51 % U.R.); $CaCl_2 \cdot 6H_2O$ (31% U.R.) e $ZnCl_2$ (8% U.R.), colocadas em dessecadores. Após 48 horas os cupins foram colocados no interior desses dessecadores. Grupos de indivíduos foram pesados e colocados imediatamente nos dessecadores em frascos de 2 cm de diâmetro e 4 cm de altura. Os dessecadores foram mantidos a uma temperatura de $20 \pm 1^\circ C$ sendo cada teste repetido 5 vezes. As observações foram diárias sendo que os indivíduos mortos foram pesados para se determinar o peso perdido. Os operários de *H. indicola* permaneceram vivos por 12,2 dias na condição de 97% de Umidade Relativa e por 1,3 dias na condição de 8% Umidade Relativa. Para soldados, 97% de Umidade Relativa também foi melhor, mas para os soldados individualizados houve uma grande queda na sobrevivência. O máximo de perda de peso foi a 8% de U. R. e esta perda diminuiu com o aumento da Umidade Relativa. Os soldados isolados perderam mais peso do que os mantidos em grupo.

SU & LA LAGE (1986) estudaram o efeito da proporção de soldados em colônias de laboratório, verificando também o efeito da falta de alimento, sobrevivência e manutenção da colônia de *Coptotermes formosanus*. Grupos de 300 cupins foram colocados em laboratório sendo o primeiro tratamento na proporção de 255 operários e 45 soldados. Um segundo tratamento com 255

operários e um terceiro com 45 soldados. Três grupos foram mantidos sem alimento e outros três com alimento. Os soldados mantidos isolados morrem após 10 dias, mesmo na presença de alimento, o que comprova que os soldados não podem se alimentar. A taxa de mortalidade de soldados em grupos com operários sem alimento foi alta, ocorrendo também uma elevada taxa de canibalismo. A mortalidade dos operários foi menor neste tratamento devido às reservas de celulose que possuem. A mortalidade dos operários começou a acelerar após 10 dias, quando a população de soldados diminuiu, ocorrendo canibalismo entre os operários.

O alimento é um dos fatores reponsáveis na flutuação de soldados e operários. Outros fatores ambientais como predação, competição inter e intra-específica podem alterar o número de soldados e operários. Sob condições de falta de alimento, a composição das castas pode ser alterada para a colônia se ajustar às condições de estresse.

2.3 - Uso de iscas e armadilhas no controle de cupins.

Para o estudo de monitoramento de uma população de cupins ou mesmo para o controle, pode-se usar armadilhas atrativas, com alta quantidade de celulose, tais

como: papelão corrugado, papel de filtro ou jornal, papel higiênico e blocos de madeira de baixa densidade entre outros.

TAMASHIRO et al. (1973) discutiram a introdução de um patógeno de alta virulência em galerias de madeira, feitas por cupins *Coptotermes formosanus*. Verificaram que há necessidade do uso de indivíduos contaminados com o patógeno, já que as galerias chegam a 50 m de comprimento. Esses insetos movem-se bastante e têm hábitos de trofolaxia e canibalismo, o que facilita a disseminação do fungo.

Alguns pesquisadores iniciaram o estudo de armadilhas atrativas para determinadas espécies de cupins. FRENCH et al. (1981) estudaram a preferência do cupim subterrâneo *Heterotermes ferox* por três tipos diferentes de madeira, usando papel higiênico para a coleta dos cupins no solo. Os rolos de papel higiênico infestados com os cupins foram colocados em bandejas de vidro contendo pedaços de madeira de três espécies de árvores, verificando-se a preferência deste cupim por um tipo de madeira.

No estudo do hábito de forrageamento também se faz necessário o uso de armadilhas. SU et al. (1984) estudaram o hábito de forrageamento do cupim *Coptotermes formosanus* utilizando armadilhas de papel higiênico, marcando os cupins com o corante Sudan Red 713.

THOMPSON (1985) utilizou estacas enterradas no solo em um condomínio na Flórida em Hallandale para verificar a infestação e o controle de cupins com inseticida. As estacas de 4,0 cm por 2,0 cm por 6,0 cm de comprimento foram enterradas a 30 cm de profundidade num intervalo de 30 m próximos à fundação do edifício. O autor observou que 14 estacas foram infestadas com *Coptotermes formosanus*, 4 com *Reticulitermes flavipes* e 2 com espécies não conhecidas.

WALLER & La FAGE (1987) estudaram a preferência alimentar do cupim subterrâneo *Coptotermes formosanus*, que tem como hábito se alojar em madeira da espécie *Toxodium districhum*. Para isso foram perfurados buracos de 2,4 cm de diâmetro *Toxodium* até o limite do ninho central. Tubos de plástico (PVC) foram encaixados nos buracos e em alguns colocou-se 68g de raspas de alburno de *Toxodium* e em outros 68g de raspas de alburno de *Pinus*.

GAO (1987) estudou a ação atrativa de alguns fungos como alimento em iscas com o Mirex. A princípio, testou a atratividade de cupins *Coptotermes formosanus* aos fungos *Gloeophyllum trabeum*, *Tremella fueiformis*, *Auricularia auricula*, *Hericius erinacens*, *Lentinus edodu* em uma arena circular contendo os fungos com meio de cultura Saundust e meio de cultura Saundust puro como controle. A isca tóxica utilizada foi o Mirex, sendo a isca

preparada com bagaço em pó, meio de cultura Saundust com o fungo atrativo e Mirex, numa proporção de 1:1:1:2 e 500 ml de ágar a 3%. Verificou-se que o cupim *C. formosanus* não foi atraído pelo fungo *H. erinaceus* e o fungo *T. fuciformis* foi o mais atrativo. Também o cupim *C. formosanus* não foi atraído pelo fungo *H. erinaceus*. A aplicação da isca geleificada obteve sucesso de controle em todos os tratamentos.

JONES et al. (1987) estudaram a atividade de forrageamento do cupim *Heterotermes aureus* em 30 áreas de 6m². Em cada área foram colocados 25 rolos de papel higiênico, sendo que todos os pedaços de madeira foram eliminados da área.

GRACE et al. (1989) estudaram o comportamento de forragem do cupim *Reticulitermes flavipes*. Sendo esta espécie de hábito críptico, o que dificulta o estudo de tal comportamento. Portanto, utilizaram iscas de *Pinus strobus* de 1,5x4x15 cm revestidos por uma camada de papelão. O papelão foi usado para propiciar um abrigo e aumentar a área disponível dos oprários encarregados do forrageamento. O período de observação foi de duas semanas.

O hábito de forrageamento do cupim *Hodontotermes monambicus* foi estudado em capins nas savanas da África do Sul, no estado de Orange Free. Para o controle, utilizou-se iscas comerciais com carbaril sódio

fluoribicato como ingrediente ativo, em forma de "pelets" (DUNCAN & HEWITT, 1989).

Os estudos de forrageamento completam os trabalhos visando ao uso de iscas e controle das espécies de cupins subterrâneos. Diversas técnicas de marcação podem ser utilizadas. VAN der LINE et al. (1989) estudaram o hábito de forrageamento de *Hodontotermes monambicus* (Hagen) no sul da África, utilizando os isótopos ^{131}I e ^{125}I para a marcação dos cupins. A área de forrageamento medida foi de 0,5 a 3,1 ha, sendo que não são necessariamente de uma simples colônia.

GRACE & ABDALLAY (1990) estudaram o uso do corante Sudan Blue 35 em contraste com Sudan Red 7B para a marcação de cupins *R. flavipes* em estudos de forrageamento e comportamento. Verificaram que concentrações acima de 2% causaram mortalidade alta, devido a um efeito deterrente. Em contraste com o Sudan Red 713, o Sudan Blue 35 mostrou-se adequado para os estudos de comportamento e forrageamento de *R. flavipes*, podendo ser usado após a marcação, liberação e recaptura, 5 a 6 dias por ciclo.

JONES (1990) estudou o tamanho da área de forrageamento do cupim *Heterotermes aureus*. Para tanto utilizou 30 parcelas de 2,25m² com 25 rolos de papel higiênico. No estudo de forrageamento, os cupins foram marcados com Sudan Red 713 e recolocados na área de onde

foram retirados.

O método químico convencional, para o controle de cupins subterrâneos não é adaptado para explorar o comportamento social deste inseto.

As estratégias de controle desses cupins podem ser divididas em duas categorias: barreira estratégica e mortalidade retardada. A barreira estratégica, pode ser dividida em química e física (construção própria, escudo do cupim e barreira arenosa). A mortalidade retardada pode ser dividida em duas categorias: estratégia de atração e estratégia de armadilha. A estratégia de atração confia na ingestão voluntária de tóxicos e transmissão de trofolático pela intoxicação de indivíduos, portanto a quantidade de tóxico transmitida é pequena. A estratégia de armadilha é mais flexível e utiliza os indivíduos atraídos para carregar o princípio ativo. Assim, os indivíduos que entrarem em contato com as armadilhas podem carregar grandes quantidades de tóxicos, ou patógenos, os quais são transmitidos pelo comportamento de contato (MYLES, 1992).

2.4 - Controle Químico.

O uso de inseticidas, principalmente os de maior poder residual é o método de controle mais utilizado.

HARRIS (1984) constatou que para o controle satisfatório de cupins na cana-de-açúcar, seria melhor utilizar inseticidas clorados, mas devido a sua alta capacidade residual, são proibidos para tais atividades.

O controle econômico dos cupins da cana, depende das condições locais, custo da mão-de-obra, máquinas e custos dos inseticidas. As misturas de fertilizantes e inseticidas são utilizadas para minimizar os custos, devido à redução de uma operação.

HOWARD (1984) estudou o efeito da concentração e tempo do metoprene, inseticida que imita o hormônio juvenil, em laboratório. Para a avaliação verificou as variáveis pré-soldado, soldado, produção de intercasta, sobrevivência, consumo do bloco de madeira como armadilha e os níveis da população dos protozoários simbióticos. O efeito da concentração do metoprene foi significativo para a produção do pré-soldado e soldado. Verificou-se que os cupins foram atraídos pelos blocos de madeira impregnados com metoprene, indicando que não há obstáculos práticos para a utilização do metoprene como agente de controle de cupins.

NOVARETTI (1985) estudou o controle de cupins na cana-de-açúcar com aplicação de inseticidas no solo. Verificou que o heptacloro e o endosulfan foram os que apresentaram melhores resultados de controle, com os

acréscimos de produção viáveis do ponto de vista econômico. O clorpirifós e o permetrina não apresentaram bons resultados, mas há que se considerar o emprego desses produtos em cana de ano ou soqueiras, onde o ciclo da cana é significativamente menor. Segundo Hitchcock et al. (1984)¹ citado por NOVARETTI (1985) o inseticida Dursban 10 CR de ingrediente ativo clorpirifós, incorporado a uma matriz termo plástica proporcionam uma liberação controlada do inseticida no solo, aumentando substancialmente o efeito residual do defensivo agrícola.

De acordo com SU et al. (1987) a estratégia para o controle de cupins subterrâneos é a utilização de inseticidas de ação lenta, não repelente, em armadilhas ou em pó. Essa estratégia é baseada na premissa de que se uma parte pequena da colônia for contaminada, a ação tóxica é distribuída na colônia através de interações sociais (trofolaxia e limpeza). Estes autores testaram os produtos amidihidrazona, avermectin B1, clordane e clorpirifós em 4 concentrações. Constataram que o tempo para matar os cupins foi similar tanto nas altas como nas baixas concentrações. A velocidade na mortalidade foi calculada através da TL₅₀, definida como tempo requerido de um inseticida para matar

¹ HITCHOCK, B. E.; CHANDRER, K. V.; STICKLEY, B. D. A.. Controlled released pesticides for soil insect control in sugar cane. Proc. Aust. Soc. Sugar Cane Technol. Conf., Sidney, 87-94, 1984.

90% da população.

OSBRINK et al. (1987) estudou o efeito da fumigação com sulferil fluoreto por 22 h em laboratório. *Reticulitermes flavipes* e *Reticulitermes tibialis* foram mais sensíveis (DL_{50} = 13,42 e 14,52 mg.h/l, respectivamente) e *Incisitermes minor* foi menos sensível (DL_{50} = 30,36 mg.h/l). As mortalidades mais significativas foram para as espécies *R. tibialis* e *Incisitermes snyderi*.

SU & SCHEFFRAHN (1988) verificaram que Dialolquil Asissulfona A-9248 mostrou-se eficiente sobre o cupim *Coptotermes formosanus*. O tempo requerido para matar 90% da população foi de 8,4 a 18,9 dias quando administrado topicamente, 21 a 26 dias quando administrado em alimentação forçada e 19 a 22 dias quando os cupins foram confinados continuamente em um substrato para alimentação. Os resultados mostraram que o A-9248 é deterrente nas concentrações maiores ou iguais a 8000 ppm. Para os grupos de *C. formosanus* expostos em madeira tratada com 1000 a 6000 ppm, somente aqueles grupos expostos à madeira tratada com menos de 1000 ppm continuaram a se alimentar do substrato tratado. A ingestão destas concentrações resultaram em 85-100% de mortalidade no final de 4 semanas do experimento.

LOECK & NAKANO (1988) estudaram a persistência dos inseticidas piretróides cipermetrina e deltametrina num

solo barro-areno-argiloso, em condições de campo, comparados com inseticidas carbofuran e aldrin. A avaliação foi feita com o auxílio de operários de *Cornitermes cumulans*, na presença ou ausência de plantas de trigo. Verificaram que na presença de plantas, diminuiu a eficiência da cipermetrina e somente após o 30º dia os cupins iniciaram a escavação de túneis no solo tratado com os inseticidas piretróides enquanto que nos tratamentos com aldrin e carbofuran, o mesmo ocorreu no 17º e 24º dias respectivamente. Os inseticidas piretróides tiveram perda mais acentuada do poder residual nas primeiras três semanas, contudo, ao longo do tempo, mantiveram-se mais estáveis e foram detectados pelo método durante 150 dias.

NOVARETTI et al. (1988) estudaram o efeito de inseticidas clorados e fosforados em lavouras de cana-de-açúcar de cinco regiões do estado de São Paulo, infestadas com cupins dos gêneros *Heterotermes*, *Cornitermes*, *Procornitermes*, *Syntermes*, *Nasutitermes* e *Neocapritermes*. Constataram que os inseticidas heptacloro e endosulfan foram os mais eficientes, pois houve uma diminuição da infestação, aumentando assim a produção em toneladas por ha.

SU & SCHEFFRAHAN (1988) estudaram a toxicidade e a dose letal do N-etil perfluooctona sulfonamida sobre os cupins *Coptotermes formosanus* e *Reticulitermes flavipes*,

sendo a DL₅₀ para *C. formosanus* de 9,94 µg/g e 68,61 µg/g para *R. flavipes*. Quando aplicado topicamente em *R. flavipes*, ocorreu uma mortalidade de 90%, entre 5-15 dias, já para *C. formosanus*, a mesma mortalidade, foi em apenas 2 a 7 dias.

De acordo com TERAN (1989), os danos dos cupins são revelados pela redução drástica do crescimento e variação do crescimento. Para o controle dessas pragas pode ser empregado o controle biológico, físico ou químico, mas em todos os casos há a necessidade de se fazer o monitoramento da área, verificando-se as espécies existentes e suas densidades.

ALMEIDA et al. (1989) estudaram o efeito de inseticidas aplicados no solo de um canavial na região de Sertãozinho-SP. Utilizaram-se dos inseticidas endossulfan, heptacloro e cartap. Verificaram que as menores ocorrências de cupins foram obtidas onde se utilizaram os produtos clorados: heptacloro e o endossulfan. As variações populacionais, em função das épocas de levantamento, foram pequenas, sendo os maiores danos registrados nos meses de fevereiro para toletes e março para as touceiras de cana.

COWIE et al. (1989) verificaram que para o controle de cupins subterrâneos em áreas florestais na África, seria necessário o uso de barreiras químicas, já que não há como utilizar-se de outros métodos, como o

físico ou químico. Essa barreira só é permitida quando em viveiro ou no transplante, mas a persistência na árvore é de somente 3 a 4 anos e somente os ciclodienos (aldrin, dieldrin, clordane e heptacloro) têm uma performance adequada.

Outros métodos foram utilizados, como o de Gao et al. (1985)² citado por COWIE et al. (1989) que usaram armadilhas impregnadas com inseticida, mas a eficácia foi baixa, diminuiu os danos mas não eliminou a praga.

SU & SCHEFFRAHAN (1990) estudaram a ação tóxica de 11 inseticidas de solo através da aplicação tópica sobre *Coptotermes formosanus* e *Reticulitermes flavipes* e verificaram que *R. flavipes* foi mais susceptível do que *C. formosanus* para todos os inseticidas. A deltametrina foi mais tóxica para *C. formosanus*. Observaram também que a escavação de túneis foi inibida nos solos tratados com 1 ppm de permetrina e que os inseticidas deltametrina e cialotin inibiram totalmente a escavação em concentrações abaixo de 0,4 a 0,8 ppm.

SMITH & RUST (1991) utilizaram os inseticidas diclorvós, clorpirifós e cipermetrina em forma de vapor

² GAO, D; ZHU, B.; GAN, B.; HE, S. & YUAN, S.. A new toxic bait for the control of forest-infested termites [em chinês]. Journal Nanjing Inst. For. 1985, 128-131, 1985.

verificando a ação destes nos túneis e galerias dos cupins *Reticulitermes hesperus*. Estes estudos foram realizados em laboratório. Observaram que com o vapor de diclorvós, 96% dos cupins ficaram moribundos 3 horas após, sendo similar para o clordane, clorpirifós ou cipermetrina.

JONES (1991) estudou, em condições de laboratório, o disódio octaborato tetrahidrato (TIM-BOR ^R) como armadilha tóxica para o controle de *Heterotermes aureus* (Snyder). Utilizou como armadilhas blocos de madeira de *Liquidambar styraciflua* impregnados à vácuo com 5 diferentes concentrações de TIM-BOR e a testemunha com água. Esses blocos foram colocados em cilindros de plástico com 100 operários de *H. aureus*. Em condições de campo, utilizaram-se de armadilhas de papel corrugado, tratadas por submersão em solução aquosa de TIM-BOR e água para testemunha. Nas condições de laboratório, os cupins foram atraídos em todas as concentrações de TIM-BOR (0,2 a 1,4%). Tomando-se como base a concentração 1%, testou-se sob condições de campo o TIM-BOR em papelão como armadilha.

GRACE (1991) tratou operários de *Coptotermes formosanus* e *Reticulitermes flavipes* topicamente com disódio octaborato tetrahidrato, borato de zinco e ácido bórico. O tratamento com ácido bórico causou 100% de mortalidade após 15 dias. Para *Coptotermes formosanus* a mortalidade foi baixa, somente com 10.000 e 15.000 ppm de

borato de zinco obteve-se uma mortalidade alta.

THAKAR et al. (1991) testaram diferentes modos de aplicação de aldrin para o controle de cupins no trigo. O inseticida foi usado para o tratamento de sementes; tratamento do solo e outras combinações com BHC 10% pó 25 kg/ha como tratamento solo no controle de cupins. O tratamento de sementes com aldrin 400 ml/100kg de semente foi mais apropriado e econômico com o controle de cupins em trigo.

LOGAN et al. (1992) testaram vários inseticidas e formulações para o controle de cupins em *Arachis hypogea*, amendoim, na Índia e no Sudão, sendo estes clorpirifós granulado, isofenfós granulado, clorpirifós, forate, carbosulfan, carbofuran e clorpirifós para sementes. O clorpirifós em "peletes" controlou tão bem quanto o aldrin, usado como padrão. O clorpirifós e isofenfós granulado aumentaram o rendimento e reduziram o dano de poda. Os outros tratamentos foram menos efetivos.

GRACE et al. (1992) determinaram o efeito do inseticida silafluorfen (HOE 084498) em tunelamento e sobrevivência para *Coptotermes formosanus*, através de bioensaios de exposição direta e indireta ao inseticida. No bioensaio de exposição direta, foram necessários 10 ppm de silafluorfen para causar mortalidade significativa. No bioensaio de exposição indireta, foram necessários 500 ppm.

SMITH & RUST (1992) verificaram que a toxicidade tóxica da cipermetrina foi aproximadamente três vezes maior para *Reticulitermes hesperus* do que clorpirifós e 35 vezes maior do que clordane após 7 dias.

As amostras dos termiticidas no solo, clorpirifós, clordane, ou cipermetrina moveram-se 30,7 e 7 cm de profundidade no solo, respectivamente. Com cipermetrina, verificou-se um efeito subletal a 42 cm de profundidade.

ZECK & MONKE (1992) estudaram a aplicação do inseticida imidacloprid (BAYER) para o controle dos cupins *Coptotermes formosanus* e *Reticulitermes flavipes* em armadilhas de papel corrugado em condições de laboratório. Verificaram o efeito sinérgico da mistura de sub-doses desse inseticida com fungos entomopatogênicos.

2.5 - Controle microbiano.

De acordo com LOGAN et al. (1990), o controle alternativo, ou seja sem o uso de inseticidas, envolve dois princípios: (1) prevenção contra o acesso do cupim à planta e (2) redução da susceptibilidade ou aumento da resistência das plantas.

O controle biológico através de predadores é possível através de formigas termitófagas, necessitando estudos mais detalhados destas espécies de formigas. O uso

de inseticidas naturais, obtidos a partir de extratos vegetais, podem ser efetivos em alguns casos, mas como não estão sujeitos aos testes rigorosos de segurança ambiental dos inseticidas comerciais, podem ser sancionados incondicionalmente.

Como alternativa, surge o uso de patógenos, principalmente os fungos, bactérias e nematóides.

2.5.1 - Seleção de patógenos.

Uma das fases mais importantes para o sucesso de um programa de controle microbiano é a seleção das espécies e raças do patógeno a ser utilizado.

HANEL (1981) através de um bioensaio estudou a virulência do fungo *Metarhizium anisopliae* sobre *Nasutitermes exitiosus*. Pulverizou suspensões de conídios sobre os cupins que foram armazenados por 11 dias a $25 \pm 1^\circ\text{C}$ em aproximadamente 100% de umidade relativa. Através da análise de Próbit, verificou que a concentração letal (LC_{50}) após 8 dias foi $5,16 \pm 0,67 \times 10^5$ conídios/ml e após 11 dias de $3,56 \pm 0,040 \times 10^4$ conídios/ml. Mostrando portanto, que o *M. anisopliae* é um promissor agente de controle do cupim *N. exitiosus*.

KRAMM & WEST (1982) expuseram grupos separados de cupins subterrâneos *Reticulitermes* sp. a

culturas de *Beauveria bassiana*, *Gliocladium vireus* e *Metarhizium anisopliae*. Os indivíduos foram removidos após vários intervalos de tempo e o conteúdo do intestino foi plaqueado em meio de cultura Batata-Dextrose-Ágar (BDA). Vários conídios viáveis foram retirados após 8 horas da exposição. Os fungos reisolados do intestino dos cupins doentes foram patogênicos aos cupins sadios. Um exame histológico demonstrou que a invasão da hemocele por *M. anisopliae* ocorreu exclusivamente pela invasão direta do tegumento após 24 horas da morte. O fungo *B. bassiana* matou com 12 horas após a invasão.

HANEL (1982a) testou 22 raças de cinco espécies de fungos, sendo estes *Conidiobolus obscurus*, *Entomophthora virulenta*, *E. destruens*, *Metarhizium anisopliae* e *Absidia coerulea*. Os critérios de seleção foram: infectividade nos operários, ninfas e soldados de *Nasutitermes exitiosus*, crescimento e esporulação dos fungos em duas faixas de temperatura: 25-27°C e 30-31°C e a durabilidade relativa dos estágios infectivos. Somente *M. anisopliae* permitiu resultado satisfatório.

LAI et al. (1982) verificaram a patogenicidade de um isolado de *Beauveria bassiana*, dois isolados de *Beauveria* sp. e três isolados de *Metarhizium anisopliae* a operários de *Coptotermes formosanus*. Determinaram que o tempo letal mediano para *Beauveria* spp.

foi maior que para *Metarhizium anisopliae*, 4,6 dias e 4,2 dias respectivamente (dose de 3137,8 conídios/mg de peso do inseto de *Beauveria* spp. e 1148 conídios/mg para *M. anisopliae*). O que demonstra que o *M. anisopliae* foi mais virulento.

FERNANDES (1991) estudou a patogenicidade de 4 isolados de *Metarhizium anisopliae*, 5 isolados de *Beauveria bassiana* e um isolado de *Aspergillus* sp. sobre cupins de montículo *Cornitermes cumulans* inoculando-os através de fragmentos de ninhos contaminados pela imersão em uma suspensão de $1,2 \times 10^8$ conídios/ml. Observou que o fungo *M. anisopliae* foi o mais virulento, seguido dos isolados de *B. bassiana*, havendo diferenças de virulência entre os isolados da mesma espécie, indicando a existência de variação genética entre isolados da mesma espécie de fungo, provenientes de locais diferentes e infestando insetos diferentes.

2.5.2 - Modo de ação dos fungos em cupins.

A ação dos fungos entomopatogênicos nos insetos passa por diversas fases: fixação do conídio na cutícula, germinação, penetração, crescimento na hemocèle, produção de toxinas, morte do hospedeiro, invasão de todos

os órgãos do hospedeiro, crescimento externo do fungo, produção de unidades infectivas e dispersão das mesmas, (ROBERTS & HUMBER, 1981). De acordo com ALVES (1986a), a morte do inseto, após 4 a 5 dias depois da inoculação com fungos ocorre devido à produção de micotoxinas, mudanças patológicas na hemocele, ação histolítica, bloqueio mecânico do aparelho digestivo devido ao crescimento vegetativo e a outros danos físicos decorrentes do crescimento do micélio. A ação desses fungos em cupins, de uma maneira geral é semelhante aos dos demais insetos, havendo pequenas diferenças devido ao comportamento e morfologia desses insetos.

YENDOL & PASCHKE (1985) verificaram a patogenicidade do fungo *Entomophthora coronata* Kevokian sobre cupins subterrâneos *Reticulitermes flavipes* (Kollar) e observaram que após 84 horas de incubação, ocorreu a morte de 97% da população. De acordo com os autores, a morte pela inoculação do fungo *E. coronata* foi precedida de paralisia, perda de coordenação e incapacidade de voltar à posição normal quando colocados dorsalmente.

SANNASI (1969a,b) investigou o tegumento de uma rainha de *Odontotermes obesus* infectado com *Aspergillus flavus*. Na região do esclerito, a epicutícula foi levantada no ponto de entrada da hifa do fungo. A lâmina endocuticular foi empurrada. Na endocutícula da membrana

intersegmental houve a melanização nos pontos de penetração do fungo. Além disso, polifenol o qual é mascarado nos ácidos mucopolissacarídeos da endocutícula do inseto sadio parece ser liberado após a infecção. Concomitantemente, a δ -metacromasina da endocutícula das rainhas normais reverte para hipocromasina, e grânulos de ácido ascórbico positivo presentes na epiderme desaparecem. O ácido ascórbico e feniltiuréia têm sido achados efetivos protetores da melanose no integumento do cupim *O. obesus*.

Foram feitas observações histopatológicas sobre cupins *Reticulitermes flavipes* infectados pelo fungo *B. bassiana*. Os sintomas iniciais dos cupins foram: vômitos, diarréias, passividade e dificuldade para responder ao estímulo tátil. Os cupins infectados no 5º instar mudaram de coloração, de creme para marron. A penetração do integumento pelos tubos germinativos do fungo *B. bassiana* ocorreu após 16 horas da inoculação. Infecção do tubo digestivo também foi verificada. Após atacar o tegumento o fungo cresceu sobre o sistema nervoso e finalmente sobre a musculatura, (BAO & YENDOL, 1971).

HANEL (1982b) estudou a germinação e a penetração de conídios de *M. anisopliae*. Após penetrar no tecido de *Nasutitermes exitiosus* o fungo produz o máximo de hifas no inseto, matando bactérias saprófitas com toxina. Ocorre a extensão do conteúdo dos intestinos, para reduzir

a possibilidade de uma bacteriose secundária. Após então utiliza-se dos tecidos para a produção de conídios e no caso da colonização de outros organismos (*Mucor* spp.; *Aspergillus* spp.) ocorre a formação dos corpos de frutificação.

KRAMM et al. (1982) estudaram a transmissão do fungo *M. anisopliae* através de cupins (*Reticulitermes* sp.) infectados com o tempo de exposição após 4, 8, 12 e 48 horas com cupins sadios. Os indivíduos sadios concentraram a atividade de limpeza nos indivíduos doentes e começaram a ser infectados. Os indivíduos mortos pelo fungo foram evitados pelos indivíduos sadios, havendo uma menor efetividade da doença.

2.5.3 - Uso de fungos entomopatogênicos para o controle de cupins.

O fungo *M. anisopliae* causou uma alta mortalidade em um grupo de cupins da espécie *Nasutitermes exitiosus* em laboratório. O fungo iniciou uma epizootia quando introduzido nas colônias de *N. exitiosus*, sendo que alguns cupins foram tratados por pulverização de uma suspensão de conídios do fungo. Em alguns casos, a doença persistiu por 15 semanas e por esse pouco tempo os cupins sadios eram encontrados na metade da colônia tratada.

Amostras de operários das colônias mostraram altos níveis de infecção por *Metarhizium*, mas os fatores que inibiam o completo desenvolvimento do fungo na colônia não foram determinados (HANEL & WATSON, 1983).

Estudos para o controle do cupim de montículo, *Cornitermes cumulans*, praga das pastagens no Brasil, através dos fungos *M. anisopliae* e *B. bassiana* têm sido realizados com sucesso. Através da aplicação de conídios puros (3g/cupinzeiro) ou de formulações com arroz resíduo, proveniente da produção pelo método da bandeja (ALVES, 1986b), obtiveram-se 100% de mortalidade na população após 30 dias da aplicação (FERNANDES & ALVES, 1991; ALVES et al. 1992; ALMEIDA et al., 1992).

ZECK & MONKE (1992) demonstraram que os cupins *Coptotermes formosanus* e *Reticulitermes flavipes* foram atraídos por armadilhas de papelão corrugado com fungos entomopatogênicos *Metarhizium anisopliae*, *Paecilomyces farinosus*, *Conidiobolus coronatus*, *Beauveria bassiana* e *Actinomucor* sp. Verificaram que houve um efeito sinérgico do fungo *M. anisopliae* com o inseticida imidacloprid em sub-dosagem. Os fungos foram aplicados através de uma suspensão de conídios. O fungo *M. anisopliae* foi o mais eficiente, sobre as duas espécies de cupins.

Além dos fungos, alguns pesquisadores testaram outros patógenos, como SMYTHE & COPPEL (1965) que

aplicaram uma suspensão de toxina de *Bacillus thuringiensis* sobre os cupins *Reticulitermes flavipes*, *R. virginicens*, *R. hesperus* e *Zootermopsis angusticallis*. Verificaram que 75% da população morreu após 9 dias. A toxina solúvel em combinação com esporos e resultou em 90% de mortalidade.

ESPKY & CAPINERA (1988) observaram que operários de *Reticulitermes tibialis* foram susceptíveis ao nematóide *Steinernema feltiae*, sendo requerido um grande número de nematóides para causar mortalidade nos cupins. Estimou-se uma DL₅₀ de $1,5 \times 10^4$ nematódeos/cupim nos ensaios com papel de filtro impregnado. Os nematódeos foram aplicados diretamente no solo e em armadilhas numa taxa de $1 \times 10^7/m^2$ nos tratamentos. Houve diferença significativa entre armadilhas e solo tratados e não tratados e no número de cupins por armadilha, havendo proteção por um período de 2 a 3 semanas. Os cupins atacaram as armadilhas tratadas do canto para o topo, sugerindo que os cupins evitavam o contato com o nematódeo. A reinvasão potencial dos cupins mostrou que há necessidade da reaplicação freqüente.

MAULDIN & BEAL (1989) estudaram em laboratório o efeito de nematódeos entomopatogênicos *Steinernema feltiae*, *S. bibionis* e *Heterorhabditis heliothidis* sobre cupim da espécie *Reticulitermes flavipes*. Os cupins *R. flavipes* moviam-se em um ninho contendo uma mistura de areia, vermiculita e água para uma câmara onde

os nematódeos se encontravam. Depois de 9,5 semanas os cupins sobreviventes dos tratamentos com nematódeos não diferenciavam do controle, o que demonstrou que os nematódeos não controlaram os cupins através do tratamento do solo úmido ou em infestações naturais.

Devido ao pouco conhecimento da influência de patógenos sobre os cupins e até a falta de conhecimento da biologia e comportamento da maioria das espécies de cupins, os trabalhos de controle microbiano são em número reduzido, havendo a necessidade de mais estudos básicos.

2.6 - Persistência dos fungos entomopatogênicos no solo.

Os fungos entomopatogênicos sofrem influência de fatores do ambiente, tais como a luz, temperatura, umidade, substratos, folhagem, hospedeiros, produtos químicos (inseticidas) e solo. Estes fatores afetam a persistência do fungo, havendo uma diminuição em seu potencial de inóculo.

No solo, os fungos são afetados principalmente por metabólitos produzidos por actinomicetos e bactérias, sendo que conídios de *B. bassiana* podem sobreviver em solo não-estéril por até dois anos (ROBERTS & CAMPBELL, 1978).

LINGG & DONALDSON (1981) verificaram o efeito fungistático de *Penicilium urticae*, que produz uma substância solúvel em água (patulina), inibindo o fungo *Beauveria bassiana*.

FARGUES et al. (1982) observaram que algumas substâncias antagônicas aos blastósporos de *B. bassiana*, foram consideradas como uma barreira que impede introdução massiva do fungo para o controle de pragas do solo.

GOTTWARD & TEDDERS (1984) estudaram o controle de larvas de *Curculio carye* no solo, utilizando os fungos *B. bassiana* e *M. anisopliae*. Foram aplicados conídios puros em solo de casa de vegetação infestado com o inseto. Observaram que as larvas eram atacadas pelos fungos mesmo após 120 dias da aplicação.

FARGUES & ROBERT (1985) testaram a persistência dos fungos *M. anisopliae*, *Nomureae rileyi*, *Paecilomyces fumoso-roseus* e *Beauveria bassiana*, sendo usados vários isolados de cada fungo. Verificaram que existe diferença de persistência dos fungos e seus isolados. A maioria foi degradada no solo após 6 meses da aplicação (70 - 80% de umidade). O fungo *M. anisopliae* isolado 51 foi o mais persistente.

PEREIRA et al. (1993) testaram o efeito antagônico do solo de formigueiro de *Solenopsis invicta* estéril e não-estéril sobre o fungo *B. bassiana* (isolado

447). No solo estéril, a DL₅₀ foi de 1×10^2 conídios/g e no solo não-estéril de 2×10^9 conídios/g, o que demonstra o efeito antagônico do solo sobre o fungo.

Em trabalhos com cupins, KO et al. (1982) determinaram uma grande variação na ocorrência de microrganismos em diferentes solos, e esse fator interfere na sobrevivência da população de *Coptotermes formosanus*. Foram encontrados os fungos *M. anisopliae*, *Entomophthora coronata* e *Aspergillus flavus*, agentes entomopatogênicos presentes no solo de onde foram retirados os cupins.

De acordo com ALVES (Comunicação Pessoal), a estratégia de controle de pragas de solo por Introdução Inundativa não é viável, já que seriam necessários 400 kg de conídios/ha, além dos problemas de antagonismo, variando de acordo com o tipo de solo.

Assim o uso de armadilhas torna mais viável o controle de *Heterotermes tenuis* já que é possível explorar os hábitos e comportamentos destes cupins. Porém, muitos trabalhos básicos ainda precisam ser realizados.

3 - MATERIAL E MÉTODOS

O presente trabalho foi desenvolvido no Laboratório de Patologia dos Insetos do Departamento de Entomologia, Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", Universidade de São Paulo (ESALQ/USP) em Piracicaba (SP), no período de março de 1991 a novembro de 1993. Os experimentos de campo foram realizados na Fazenda Retiro da Usina Santa Helena em Piracicaba (SP), no período citado.

3.1 - Seleção de recipientes e substratos para a manutenção do cupim *Heterotermes tenuis* em laboratório.

Foram utilizados vários recipientes como copos plásticos, placas de Petri e placas de plástico com tampa telada. Os substratos testados foram: solo, papel filtro, pedaço de colmo de milho, celulose e papelão. Estes substratos foram mantidos com um chumaço de algodão

umedecido diariamente com 1 ml de água, com exceção do solo, que foi umedecido diariamente.

Os cupins, operários e soldados, foram coletados de áreas infestadas da Fazenda Retiro com a armadilha estudada neste trabalho.

Utilizou-se um delineamento experimental inteiramente casualizado, sendo feitas 5 repetições por tratamento. Em cada tratamento foram colocados 30 cupins, operários e soldados na proporção de 5:1, contendo ao todo 150 cupins por tratamento. A contagem de indivíduos vivos foi feita diariamente.

O experimento foi mantido em uma sala escura com aproximadamente 22°C de temperatura e 92% de umidade relativa.

A melhor combinação de substrato/recipiente foi utilizada para os testes de seleção dos isolados mais virulentos de *Beauveria spp.* e *Metarhizium anisopliae*.

Para os experimentos com solo, desenvolveu-se um recipiente plástico com fundo de gesso para a manutenção da umidade do solo. A camada de gesso era umedecida ficando em contato com água durante dois dias.

3.2 - Comparação dos diferentes métodos de inoculação dos fungos entomopatogênicos e seleção dos isolados mais virulentos.

3.2.1 - Seleção do método de inoculação.

Visando à seleção do melhor método de inoculação dos cupins, foram realizados experimentos com os fungos *B. bassiana* isolado 447 (isolado de *Solenopsis invicta*) e o *M. anisopliae* isolado PL-43 (isolado de *Mahanarva posticata*) e isolado 865 (isolado de *Cornitermes cumulans*), provenientes da coleção de microrganismos entomopatogênicos do Laboratório de Patologia dos Insetos do Departamento de Entomologia da ESALQ/USP. Os fungos armazenados em óleo mineral acondicionados em freezer, foram repicados em meio de esporulação à base de extrato de carne e sais minerais, para maior produção de conídios.

Experimento 1: Pulverização direta de suspensões de conídios sobre os cupins.

O delineamento experimental foi inteiramente

casualizado, com sete tratamentos e 5 repetições. Os tratamentos foram representados pelas seguintes suspensões de *B. bassiana* e *M. anisopliae*: 5×10^6 , 10^7 , 5×10^7 , 10^8 , 5×10^8 e 10^9 conídios/ml, pulverizadas na quantidade de 0,1 ml diretamente sobre 30 cupins (operários e soldados (5:1)) mantidos nos recipientes selecionados anteriormente. Como testemunha pulverizou-se apenas água destilada sobre os insetos.

A aplicação das suspensões foi feita através de uma torre de pulverização provida de bico de alta precisão de gotas, marca SPRAYING CO. 1/8 JBC Nº 70 3376, com pressão de 20 lb/cm².

A avaliação do número de indivíduos mortos foi feita diariamente durante um período de 8 dias. Os cupins mortos eram retirados, lavados em álcool 96°GL e água destilada e em seguida colocados em câmara úmida para a comprovação da infecção pelo fungo através da sua esporulação sobre o cadáver.

O experimento foi mantido em uma estufa para B.O.D. a $26 \pm 0,5^\circ\text{C}$ de temperatura e fotofase de 12 horas.

A análise dos dados foi feita através do teste de Tukey e análise de Probit determinando-se a Concentração Letal noventa (DL₉₀) para *H. tenuis*.

Experimento 2: Pulverização de substratos com suspensões de conídios.

Os substratos de celulose (alfacel) foram pulverizados com as suspensões 10^5 , 10^6 , 10^7 e 10^8 conídios/ml, do isolado 447 de *B. bassiana*. A testemunha foi pulverizada com água destilada.

Após a secagem dos substratos, foram colocados 30 cupins, operários e soldados, em cada placa. O delineamento experimental foi inteiramente casualizado com 5 tratamentos e 5 repetições, perfazendo um total de 150 cupins por tratamento.

As suspensões foram pulverizadas com o mesmo bico utilizado no Experimento 1.

Os dados foram analisados através do teste de Tukey.

3.2.2 - Seleção de isolados mais virulentos dos fungos *M. anisopliae* e *B. bassiana* ao cupim *H. tenuis*.

Foram realizadas baterias de testes com isolados de *B. bassiana* e *B. brongniartii* armazenados no banco de patógenos do Laboratório de Patologia do Departamento de Entomologia da ESALQ/USP, sendo testados ao

todo 142 isolados. Em todos os bioensaios pulverizou-se também o isolado padrão 447, para comparação.

O delineamento experimental de cada teste, foi inteiramente casualizado tendo como tratamentos os isolados testados com 5 repetições cada.

Os isolados de fungos foram pulverizados diretamente sobre os cupins, na concentração de 5×10^8 conídios/ml na quantidade de 0,1 ml utilizando-se o mesmo bico pulverizador da etapa 3.2.1. Na testemunha foi aplicada apenas água. Cada repetição foi representada por 30 cupins, operários e soldados (5:1).

Os bioensaios foram mantidos em câmara para B.O.D. a $26 \pm 0,5^\circ\text{C}$ de temperatura e fotofase de 12 horas.

A avaliação foi feita contando-se o número de insetos mortos diariamente, durante um período de 8 dias. Os indivíduos mortos eram retirados, lavados em álcool 96°GL e água destilada e colocados em uma câmara úmida para a confirmação da morte pelo fungo.

A análise dos dados foi feita através da porcentagem de mortalidade, sendo selecionados os isolados que apresentaram mortalidade final confirmada igual ou superior a 89%. Posteriormente, esses isolados foram testados da mesma forma citada acima, em comparação com o isolado padrão 447. Após esses bioensaios selecionaram-se 6 isolados mais virulentos para *H. tenuis* que foram

submetidos a testes de esporulação em meio de BDA (Batata-Dextrose-Ágar), em cadáveres de *H. tenuis* e sobre arroz pré-cozido, usando o método da bandeja, (ALVES, 1986b).

O isolado que apresentou maior esporulação nos meios utilizados, foi selecionado para as próximas etapas.

3.3 - Testes sob condições de laboratório e de campo de diferentes tipos de iscas.

3.3.1 - Teste de laboratório.

Para o teste de atratividade de iscas para o cupim *H. tenuis* foi utilizado um dispositivo plástico composto de uma placa central de 6 cm de diâmetro e quatro ramificações. Essas ramificações eram compostas de quatro placas de plástico de 6 cm de diâmetro com tampa telada ligadas à placa central por tubos de 8 cm de comprimento e 1 cm de diâmetro.

Foram testados os seguintes materiais: papelão corrugado, papel sulfite, papel jornal, papel higiênico, colmo de milho e colmo de cana maduro. O papelão, sulfite, jornal e papel higiênico foi oferecido em pedaços de 2 cm X 2 cm e o colmo de milho e cana em toletes de 2 cm comprimento e 1 cm de diâmetro.

Os materiais foram testados em dois experimentos utilizando o papelão e o milho como padrões.

O delineamento experimental foi inteiramente casualizado com 4 tratamentos e 4 repetições, sendo utilizados 60 cupins (operários e soldados (5:1)) em cada repetição. Os cupins foram colocados na placa central de cada dispositivo.

Os tratamentos foram: papelão, papel sulfite, colmo de milho e colmo de cana-de-açúcar maduro para o primeiro experimento e papelão, colmo de milho, jornal e papel higiênico para o segundo experimento.

A avaliação foi feita após uma semana, contando-se o número de indivíduos em cada repetição (placa central). A análise dos dados foi feita através de um teste não-paramétrico com comparações múltiplas.

3.3.1.1 - Teste de atratividade do cupim *H.*

tenuis às iscas de papelão com
fungo *B. bassiana* em laboratório.

Experimento 1

Utilizou-se o mesmo dispositivo plástico usado na etapa anterior.

O delineamento experimental foi inteiramente

casualizado com dois tratamentos e 8 repetições cada. Os tratamentos foram os seguintes: papelão com fungo e papelão sem fungo. O tratamento papelão com fungo foi polvilhado com 0,1 g de conídios puros de *B. bassiana* isolado 447.

Cada pedaço de papelão de 2 cm X 2 cm foi umedecido previamente com 1 ml de água destilada.

Experimento 2

Foi utilizado o mesmo delineamento experimental e os mesmos tratamentos do experimento 1.

Nesse experimento, o tratamento papelão com fungo foi colocado alternadamente nos dispositivos plásticos com papelão sem fungo de modo que em cada dispositivo plástico havia 2 repetições de cada tratamento.

Os dois experimentos desta etapa foram mantidos ambiente sob a temperatura de $25 \pm 2^\circ\text{C}$ e $70 \pm 10\%$ de umidade relativa.

3.3.2 - Experimentos de campo.

Experimento 1: Iscas dispostas em fileiras.

O delineamento experimental foi inteiramente

casualizado com 6 tratamentos e 10 repetições. Os tratamentos foram os seguintes: 1-papelão; 2-papel sulfite; 3-papel jornal; 4-papel higiênico; 5-colmo de milho e 6-colmo de cana-de-açúcar.

Cada isca possuía 9 cm de diâmetro por 15 cm de altura, sendo que os tratamentos colmo de milho e colmo de cana eram representados por feixes de colmos presos com elástico. Todas as armadilhas foram enterradas ficando o terço superior fora do solo.

A disposição das iscas foi sistematizada, onde cada isca era implantada numa fileira de cana-de-açúcar de 5 em 5 m, caminhando-se na forma de zigue-zague, sendo a área do experimento de 300 m², 30 m de comprimento e 10 m de largura.

A avaliação foi feita pela contagem dos cupins, operários e soldados em cada isca, após 8 e 16 dias.

Experimento 2: Isca dispostas em grupos.

Neste experimento, foram utilizados os mesmos tratamentos do experimento 1, sendo que o delineamento foi inteiramente casualizado com 5 repetições. As iscas foram dispostas em grupos que continham todos os tratamentos, nos locais onde foi detectada a presença de *H. tenuis*.

A análise dos resultados foi através de teste estatística descritiva.

3.4 - Transmissão dos fungos *B. bassiana* em colônias artificiais de *H. tenuis* em laboratório.

Para o teste de transmissão da doença em indivíduos de uma população artificial de *H. tenuis*, foram utilizados copos de plástico com 9 cm de diâmetro superior, 5 cm de fundo e 7 cm de altura, com uma camada de gesso de 1,5 cm de espessura, para a manutenção da umidade. Como substrato utilizou-se solo podzólico vermelho-amarelo com iscas de papelão de 4 cm de diâmetro 5 cm de altura.

O delineamento foi inteiramente casualizado, com 6 tratamentos, sendo uma testemunha, repetidos 5 vezes. Cada repetição foi representada por 30 cupins (operários e soldados (5:1)).

Os insetos tratados, foram pulverizados com uma suspensão 5×10^8 conídios/ml do isolado selecionado 634 de *B. bassiana*, sendo utilizados os seguintes tratamentos:

1- 1 inseto inoculado + 29 sadios; 2- 5 insetos inoculados + 25 sadios; 3- 10 insetos inoculados + 20 sadios; 4- 15 insetos inoculados + 15 sadios; 5- 20 insetos inoculados +

10 sadios e tratamento 6 composto de 30 insetos sadios.

A mortalidade foi verificada após 10 dias da instalação do experimento.

Os resultados foram analisados pelo teste de Probit determinando-se o número de insetos contaminados necessário para matar 90% da população. Também calculou-se a porcentagem de mortalidade que ocorreu em cada tratamento devido ao fornecimento inóculo.

3.5 - Efeito sinérgico do inseticida imidacloprid com diferentes formulações de *B. bassiana* em isca de papelão em laboratório.

O inseticida utilizado foi o imidacloprid, de fórmula 1-(6-cloro3piridini) metil - 4,5-dihidro-N-nitro-1H-imidazol-2-amino, (BAYER) formulação pó solúvel com concentração de ingrediente ativo de 70%.

O experimento foi dividido em duas partes. Na primeira parte estudou-se a concentração de imidacloprid não repelente para *H. tenuis*.

O delineamento foi inteiramente casualizado com 6 tratamentos e 5 repetições cada. Os tratamentos foram os seguintes: 1- 0,1; 2- 0,01; 3- 0,001; 4- 0,0001; 5- 0,00001 % de imidacloprid e 6- testemunha, apenas água.

O imidacloprid foi dissolvido em água e impregnado por imersão em iscas de papelão corrugado de 2 cm de diâmetro.

Foram utilizados 20 cupins (operários e soldados (5:1)) por repetição perfazendo um total de 100 cupins por tratamento. Os recipientes foram os mesmos da etapa 3.4, com o mesmo tipo de solo. Estes recipientes permaneceram em contato com água durante 48 horas para o umedecimento do gesso. Diariamente eram pulverizados 200 ml de água sobre todos os recipientes. A isca atrativa foi enterrada até o fundo do recipiente.

A avaliação foi feita após 2, 4 e 6 dias, retirando-se os mortos.

Os resultados foram analisados através de teste de Tukey entre as porcentagens de mortalidade e as porcentagens de atratividade de cada dosagem.

Na segunda parte foi feita a avaliação da concentração selecionada com diferentes formulações do fungo *B. bassiana* isolado 634.

O delineamento experimental foi inteiramente casualizado com 8 tratamentos e 5 repetições cada, usando-se 20 cupins por repetição.

Os tratamentos foram os seguintes: 1- somente conídios do fungo; 2- conídios puros + imidacloprid; 3- pasta de fungo; 4- pasta de fungo + imidacloprid; 5-

micélio seco; 6- micélio seco + imidacloprid; 7- armadilha somente e 8- imidacloprid.

Os tratamentos foram aplicados na isca de papelão igual à utilizada na etapa anterior previamente impregnada com solução de 0,001 e 0,01% de imidacloprid.

A formulação conídios puros foi produzida pelo método da bandeja segundo ALVES (1986b). Para a formulação arroz em pasta foi utilizado arroz esporulado, moído no liquidificador, numa relação de 100 g de arroz esporulado com 100 ml de água destilada.

O micélio seco foi produzido pelo método utilizado por McCABE & SOPER (1985).

A contagem do número de cupins mortos foi efetuada aos 2, 4, 6 e 8 dias após a instalação do experimento, quando os cupins mortos foram lavados em álcool e colocados em câmara úmida para a confirmação da mortalidade pelo fungo.

Os resultados foram analisados pelo teste de Probit, que permitiu a determinação do Tempo Letal Mediano (TL₅₀) para os diferentes tratamentos.

4 - RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 - Seleção de recipientes e substratos para a manutenção do cupim *Heterotermes tenuis* em laboratório.

Apesar de não ter ocorrido diferença significativa entre os tratamentos, verificou-se que placas de plástico de 6 cm de diâmetro por 1 cm de altura com tampa telada e celulose (alfacel), com chumaço de algodão umedecido diariamente foi a melhor combinação recipiente/substrato. Neste tratamento ocorreu menor taxa de mortalidade e os cupins permaneceram vivos durante 10 dias, período suficiente para realização dos bioensaios com fungos.

Com os substratos de colmo de milho ou cana também obtive-se uma baixa mortalidade, no entanto esses materiais nem sempre se encontram disponíveis, tendo sido observado também, altos níveis de contaminação com fungos e bactérias.

Os recipientes com tampas herméticas causaram problemas de condensação de água e contaminações com bactérias. Devido a dificuldade de manuseio, os recipientes com boca pequena e paredes altas foram descartados.

O solo não foi considerado um bom substrato quando se fôr necessário o manuseio diário, pois para se contar os cupins há necessidade da retirada de todo o material do recipiente, causando danos aos insetos.

Segundo BECKER (1969) a umidade é um fator relevante na manutenção dos cupins em laboratório. Foi possível observar os cupins alimentando-se da celulose, apesar do tempo de exposição (8 dias) ser baixo, mas a umidade deveria ser em torno de 90% havendo necessidade de umedecimento diário, já que o algodão e a celulose perdiam água rapidamente.

4.2 - Comparação dos diferentes métodos de inoculação dos fungos entomopatogênicos e seleção de isolados mais virulentos.

4.2.1 - Seleção do método de inoculação

Experimento 1: Pulverização direta de
suspensões de conídios sobre
os cupins.

Para o fungo *B. bassiana* isolado 447, foi possível observar o aumento da mortalidade de *H. tenuis* com o aumento da concentração da dosagem de conídios na suspensão aplicada.

A suspensão 10^8 conídios/ml causou 100% de mortalidade (Tabela 1). A Dose Letal Noventa (DL₉₀) foi de $2,4 \times 10^8$ conídios/ml, o que levou à decisão de aplicar a concentração de 5×10^8 conídios/ml para testar os 142 isolados comparando-os com o isolado 447 considerado padrão. Esta concentração poderia diferenciar melhor os isolados quanto à sua patogenicidade.

Tabela 1. Mortalidade confirmada de *Heterotermes tenuis* pulverizados com diferentes suspensões de *Beauveria bassiana* isolado 447, em laboratório. Temperatura 26°C, Umidade Relativa 70% e fotofase de 12 horas.

Suspensão (conídios/ml)	Mortalidade após 8 dias de aplicação (%)
5x10 ⁶	20,0 e
10 ⁷	32,0 cd
5x10 ⁷	62,0 bc
10 ⁸	71,3 ab
5x10 ⁸	97,3 a
10 ⁹	100,0 a
Testemunha	0,0 e

Médias seguidas de mesma letra, não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey (5%). CV=27,28%

O fungo *M. anisopliae* isolados PL-43 e 865 causaram baixas mortalidades em *H. tenuis*, mesmo nas concentrações altas, (Tabela 2). Apesar de patogênicos não foram virulentos para o cupim *H. tenuis*, não sendo usados nas outras etapas da pesquisa.

Tabela 2. Mortalidade confirmada de *Heterotermes tenuis* pulverizados com diferentes suspensões de *Metarhizium anisopliae* isolados PL-43 e 865. Temperatura 26°C, Umidade Relativa 70% e fotofase de 12 horas.

Suspensão (conídios/ml)	Mortalidade após 8 dias de aplicação (%).	
	PL-43	865
5x10 ⁶	12,6 a	6,6 c
10 ⁷	19,3 a	5,3 c
5x10 ⁷	12,6 a	18,0 bc
10 ⁸	27,3 a	26,0 bc
5x10 ⁸	22,0 a	50,0 ab
10 ⁹	25,3 a	67,3 a
Testemunha	0,0 a	0,0 c

Médias seguidas de mesma letra, não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey (5%). CV = 37,94% e 40,41%. Dados transformados pela equação $\sqrt{x + 0,5}$.

Estes resultados concordam com alguns pesquisadores os quais concluíram que existe diferença de virulência e patogenicidade entre espécies de fungos entomopatogênicos.

Assim, HANEL (1982a) testou cinco espécies de fungos entomopatogênicos, sobre o cupim *Nasutitermes exitiosus* e verificou que somente *M. anisopliae* foi

eficiente. LAI et al. (1982) verificaram que o fungo *M. anisopliae* causou maior mortalidade do cupim *Coptotermes formosanus* do que os fungos *Beauveria bassiana* e *Beauveria* sp.. Por outro lado FERNANDES (1991) relatou que o fungo *M. anisopliae* foi mais patogênico que *B. bassiana* para *Cornitermes cumulans* havendo inclusive diferença de virulência entre os isolados de *M. anisopliae*.

Experimento 2: Pulverização de substratos com suspensões de conídios

Os resultados obtidos neste experimento demonstram a baixa eficiência do fungo *B. bassiana* (447) quando aplicação é feita sobre o substrato (Tabela 3).

Tabela 3. Mortalidade de *Heterotermes tenuis* colocados em substrato impregnado com conídios de *Beauveria bassiana* isolado 447, em laboratório. (Temperatura 26°C, Umidade Relativa 70% e fotofase 12 horas).

Suspensão (conídios/ml)	Mortalidade após 8 dias da aplicação	
10 ⁵	2,6	b
10 ⁶	6,6	b
10 ⁷	28,0	a
10 ⁸	33,3	a
Testemunha	0,0	b

Médias seguidas de letras iguais, não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey (5%). CV = 67,26%.

Também verificou-se que o manuseio dos cupins é um fator muito importante a ser considerado. O manuseio intenso gera estresse nos insetos e aumenta a mortalidade por outros fatores.

Portanto, decidiu-se pelo método de inoculação direta dos fungos (Experimento 1). Nesse método a suspensão fúngica é aplicada diretamente sobre os cupins; o manuseio dos insetos é menor e a aplicação do patógeno é mais fatal.

**4.2.2 - Seleção de isolados mais virulentos
do fungo *Beauveria* spp. ao cupim *H.*
tenuis.**

Os resultados de porcentagem de mortalidade obtidos da aplicação de 134 isolados de *B. bassiana* e 8 isolados de *B. brongniartii* sobre operários e soldados de *H. tenuis* encontram-se na Tabela 4.

Por essa tabela pode-se observar que apenas 2 isolados causaram mortalidade entre 0 a 2%; 11 isolados provocaram mortalidade entre 20 e 40%. A maioria dos isolados (86) causaram mortalidade entre 40 a 80% e 39 isolados foram capazes de matar 80 a 100% de *H. tenuis* (Figura 1). Foram selecionados os isolados que causaram mais de 89% de mortalidade confirmada. A mortalidade foi considerada confirmada quando se observou a conidiogênese do fungo sobre os cadáveres na câmara úmida.

Figura 1. Número de isolados de *Beauveria bassiana* e *B. brongniartii* aplicados sobre o cupim *Heterotermes tenuis* sob condições de laboratório. (Temperatura 26°C, Umidade Relativa 70±10% e fotofase de 12 horas).

Tabela 4. Mortalidade de *Heterotermes tenuis* causada por diferentes isolados de *Beauveria* spp. comparados com o isolado padrão 447. (Temperatura 26°C, Umidade Relativa 70% e fotofase 12 horas).

Isolado nº	Hospedeiro	% mort. total	% mort. conf.
PL-61	<i>Cosmopolites sordidus</i>	63,3	56,0
PL-63	<i>Solenopsis</i> sp.	100,0	90,6
197	<i>Diatraea saccharalis</i>	78,6	56,6
210	<i>Diatraea saccharalis</i>	95,3	78,0
268	<i>Cosmopolites sordidus</i>	99,2	71,3
282	Phasmatidae	100,0	67,3
292	<i>Anthonomus grandis</i>	87,3	65,3
309	Broca do olho da eritrina	82,0	56,6
341	<i>Diatraea saccharalis</i>	93,3	73,3
353	Pentatomidae	62,0	42,6
391	<i>Anthonomus grandis</i>	80,0	68,0
428	<i>Solenopsis invicta</i>	96,6	59,3
448	<i>Solenopsis</i> sp.	88,6	80,6
457	<i>Euschistus heros</i>	94,0	72,0
458	<i>Piezodorus</i> sp.	88,0	59,3
462	Grylotalpidae	93,3	54,0
469	<i>Heliothis virescens</i>	93,3	85,3
473	Grylotalpidae	100,0	86,6
476	<i>Cosmopolites sordidus</i>	97,3	87,3
484	<i>Solenopsis</i> sp.	91,3	86,6
485	<i>Solenopsis</i> sp.	28,0	25,3
489	Hemileucidae	86,0	77,3
494	<i>Dorcacereus barbatus</i>	98,0	85,3
498	<i>Cycloneda sanguinea</i>	100,0	96,6
499	<i>Diabrotica speciosa</i>	100,0	87,3

Tabela 4. Mortalidade de *Heterotermes tenuis* causada por
(cont.) diferentes isolados de *Beauveria* spp.
comparados com o isolado padrão 447. (Temperatura
26°C, Umidade Relativa 70% e fotofase 12 horas).

Isolado nº	Hospedeiro	% mort. total	% mort. conf.
501	<i>Maecolaspis monrosi</i>	76,0	48,6
509	<i>Solenopsis</i> sp.	53,3	32,0
512	<i>Solenopsis</i> sp.	100,0	89,3
515	<i>Solenopsis</i> sp.	65,3	34,6
520	<i>Solenopsis</i> sp.	84,0	66,6
524	<i>Solenopsis</i> sp.	95,3	86,0
529	<i>Solenopsis</i> sp.	84,6	66,6
531	<i>Solenopsis</i> sp.	75,3	56,6
532	<i>Solenopsis</i> sp.	74,6	66,6
534	<i>Solenopsis</i> sp.	82,6	78,6
535	<i>Solenopsis</i> sp.	54,0	40,6
536	<i>Solenopsis</i> sp.	68,6	57,6
538	<i>Solenopsis</i> sp.	86,0	72,0
542	<i>Solenopsis</i> sp.	84,0	75,3
544	<i>Solenopsis</i> sp.	66,0	57,3
545	<i>Solenopsis</i> sp.	94,6	71,3
548	<i>Solenopsis</i> sp.	100,0	95,3
549	<i>Solenopsis</i> sp.	83,3	65,3
550	<i>Solenopsis</i> sp.	84,6	74,6
553	<i>Solenopsis</i> sp.	82,0	46,6
554	<i>Solenopsis</i> sp.	69,3	59,3
555	<i>Solenopsis</i> sp.	68,0	54,0
556	<i>Solenopsis</i> sp.	82,6	54,6
558	<i>Solenopsis</i> sp.	72,6	59,3
560	<i>Solenopsis</i> sp.	58,6	39,3
562	<i>Solenopsis</i> sp.	99,3	80,0

Tabela 4. Mortalidade de *Heterotermes tenuis* causada por
(cont.) diferentes isolados de *Beauveria* spp.
comparados com o isolado padrão 447. (Temperatura
26°C, Umidade Relativa 70% e fotofase 12 horas).

Isolado nº	Hospedeiro	% mort. total	% mort. conf.
565	<i>Solenopsis</i> sp.	90,6	33,3
566	<i>Solenopsis</i> sp.	74,6	64,4
569	<i>Solenopsis</i> sp.	81,3	49,0
571	<i>Solenopsis</i> sp.	89,3	48,0
572	<i>Solenopsis</i> sp.	74,0	60,0
573	<i>Solenopsis</i> sp.	60,6	56,6
574	<i>Solenopsis</i> sp.	58,6	46,6
579	<i>Canthon</i> sp.	82,6	64,0
585	<i>Solenopsis</i> sp.	88,6	53,3
587	<i>Solenopsis</i> sp.	97,3	93,3
591	<i>Solenopsis</i> sp.	60,0	56,0
598	<i>Solenopsis</i> sp.	40,6	38,5
600	Solo	77,3	74,0
602*	Solo	86,6	66,6
604	Solo	84,0	80,6
607*	Solo	55,3	47,3
609*	Solo	91,3	84,0
612	Solo	84,0	73,3
615	Solo	93,3	90,6
616*	<i>Solenopsis</i> sp.	51,3	32,6
617	Pentatomidae	80,0	72,0
618	<i>Tibraca limbatirentis</i>	98,0	92,0
619	Pentatomidae	54,0	46,6
620	<i>Nezara viridula</i>	90,0	75,3
634	<i>Solenopsis</i> sp.	98,0	91,3
635	<i>Solenopsis</i> sp.	98,6	88,0

Tabela 4. Mortalidade de *Heterotermes tenuis* causada por
(cont.) diferentes isolados de *Beauveria* spp.
comparados com o isolado padrão 447. (Temperatura
26°C, Umidade Relativa 70% e fotofase 12 horas).

Isolado nº	Hospedeiro	% mort. total	% mort. conf.
641	<i>Scapteriscus</i> sp.	77,3	70,6
643	Solo	94,0	66,6
649	Solo	80,6	70,0
651	Solo	88,6	78,6
663*	<i>Solenopsis invicta</i>	74,3	61,3
665	<i>Solenopsis</i> sp.	78,0	70,0
666	<i>Solenopsis</i> sp.	78,0	65,0
669*	Solo	82,0	70,6
672	<i>Solenopsis invicta</i>	95,3	80,0
694	Tenebrionidae	60,0	55,3
704	<i>Solenopsis invicta</i>	82,0	67,3
705	Solo	54,0	49,3
732	<i>Solenopsis</i> sp.	91,3	85,3
738*	<i>Solenopsis</i> sp.	96,0	80,6
741	<i>Solenopsis</i> sp.	50,0	37,3
742	<i>Solenopsis</i> sp.	80,0	59,3
743	<i>Solenopsis</i> sp.	98,0	92,6
744	<i>Solenopsis</i> sp.	98,6	80,6
745	<i>Solenopsis</i> sp.	42,0	31,3
747	<i>Solenopsis</i> sp.	100,0	93,3
748	<i>Solenopsis</i> sp.	100,0	88,9
750	<i>Solenopsis</i> sp.	98,0	87,3
752	<i>Solenopsis</i> sp.	98,6	94,0
755	<i>Solenopsis</i> sp.	100,0	84,8
756	<i>Solenopsis</i> sp.	100,0	90,7
760	<i>Cornitermes cumulans</i>	97,3	89,3

Tabela 4. Mortalidade de *Heterotermes tenuis* causada por
(cont.) diferentes isolados de *Beauveria* spp.
comparados com o isolado padrão 447. (Temperatura
26°C, Umidade Relativa 70% e fotofase 12 horas).

Isolado nº	Hospedeiro	% mort. total	% mort. conf.
764	Solo	96,0	87,3
767	Solo	73,3	70,6
778	Solo	85,3	84,0
781	Solo	74,0	72,6
783	Solo	62,6	57,3
784	Solo	56,6	50,6
786	Solo	52,0	48,6
787	Solo	84,0	72,6
800	<i>Solenopsis invicta</i>	94,0	76,0
822	Solo	70,0	57,3
823	Solo	85,3	62,6
841	<i>Solenopsis</i> sp.	92,0	77,3
843	<i>Solenopsis</i> sp.	87,7	70,0
845	<i>Solenopsis</i> sp.	98,3	79,3
848	<i>Solenopsis</i> sp.	79,3	68,6
852*	<i>Solenopsis</i> sp.	74,0	49,3
855	<i>Solenopsis</i> sp.	48,6	46,0
857	<i>Solenopsis</i> sp.	52,0	44,3
868	Formicidae	91,3	82,6
876	<i>Solenopsis</i> sp.	87,3	82,6
878	<i>Solenopsis</i> sp.	63,3	40,0
879	<i>Solenopsis</i> sp.	32,0	30,6
883	<i>Solenopsis</i> sp.	31,3	31,3
885	<i>Solenopsis</i> sp.	30,0	26,6
888	<i>Solenopsis</i> sp.	90,0	80,6
900	<i>Solenopsis</i> sp.	100,0	97,3

Tabela 4. Mortalidade de *Heterotermes tenuis* causada por
(cont.) diferentes isolados de *Beauveria* spp.
comparados com o isolado padrão 447. (Temperatura
26°C, Umidade Relativa 70% e fotofase 12 horas).

Isolado nº	Hospedeiro	% mort. total	% mort. conf.
940	<i>Diabrotica speciosa</i>	62,6	14,6
957	<i>Euselasia eucereus</i>	60,0	58,6
969	<i>Blattela germanica</i>	86,6	78,0
986	<i>Boophilus microplus</i>	99,3	83,3
987	<i>Heterotermes tenuis</i>	99,3	90,0
988	Kalotermitidae	100,0	80,6
1003	<i>Cycloneda sanguinea</i>	46,0	40,6
1006	<i>Cycloneda sanguinea</i>	63,3	60,0
1010	<i>Diabrotica speciosa</i>	90,0	52,0
1024	<i>Phyllophaga</i> sp.	18,6	16,6
1028	Solo	89,3	87,3

* *Beuveria bongniartii*

A partir destes resultados, os seguintes isolados de *B. bassiana* foram selecionados: PL-63, 498, 512, 548, 587, 618, 634, 743, 752, 756, 760, 900 e 987. Estes isolados foram testados novamente em um bioensaio com o cupim *H. tenuis*, tendo como isolado padrão o 447. O Tempo Letal Mediano (TL₅₀) para cada isolado, assim como o coeficiente angular da reta, que indica a virulência do isolado, estão apresentados na Tabela 5.

Tabela 5. Tempo Letal Mediano e mortalidade final

confirmada de *Heterotermes tenuis* provocados por isolados selecionados de *Beauveria bassiana*.

Temperatura 26°C, Umidade Relativa 70% e fotofase 12 horas.

Isolado	TL ₅₀ (dias)	I. C. (dias)	Coef. Ang.	Mort. conf. (%)
Padrão 447	3,03	2,35-3,88	5,685	97,3 a
PL-63	3,76	3,00-4,69	3,116	90,6 a
498	4,61	3,68-5,76	4,555	96,6 a
512	3,66	2,90-4,58	3,730	89,3 a
548	4,33	3,48-5,37	2,569	95,3 a
587	4,17	3,62-4,79	4,394	93,3 a
618	4,91	3,92-6,15	4,804	92,0 a
634	4,46	3,54-5,60	5,836	91,3 a
743	4,44	3,53-5,56	4,967	92,6 a
747	4,86	3,18-6,10	4,436	93,3 a
752	3,75	2,97-4,71	4,407	94,0 a
756	3,89	3,08-4,90	5,314	90,7 a
760	3,45	2,64-4,45	6,104	89,3 a
900	2,91	2,25-3,72	5,395	97,3 a
987	3,52	2,76-4,48	8,004	90,0 a

Médias seguidas de mesma letra não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey (5%). CV=17,59%

Constatou-se que não houve diferença na

mortalidade de *H. tenuis* inoculados com estes isolados previamente selecionados. Porém foram escolhidos para os testes de esporulação os 6 isolados que apresentaram o maior coeficiente angular da reta de mortalidade. Esse coeficiente pode indicar a virulência do isolado. Assim foram selecionados os seguintes isolados: Padrão 447, 756, 760, 634, 900 e 987.

Os resultados da esporulação dos 6 isolados selecionados, em placas com B.D.A., cadáveres de *H. tenuis* e arroz pré-cozido constam na Tabela 6.

O isolado 634 obteve ótima esporulação em placas de B.D.A. e em arroz, sendo superado pelo isolado 756 que produziu maior número de conídios. Na esporulação em cadáveres de *H. tenuis*, o isolado 634 foi o que obteve melhor resultado diferenciando-se dos demais. Esta característica é muito importante, pois a melhor estratégia de controle é a Introdução Inoculativa, e essa característica do isolado pode induzir uma epizootia na colônia pela transmissão da doença por indivíduos contaminados. Portanto decidiu-se utilizar o isolado 634 de *B. bassiana* para as demais etapas do programa de controle de *H. tenuis*.

Tabela 6. Esporulação do fungo *Beauveria bassiana* de diferentes isolados em placas com B.D.A., arroz pré-cozido e cadáveres de *Heterotermes tenuis* em laboratório. (Temperatura 25°C, Umidade Relativa 70%±10% e fotofase de 12 horas).

Isolado	B.D.A. (conídios/cm)	ARROZ (conídios/g)	CADÁVERES (conídio/10cad)
756	1,18x10 ⁸ a	116,15x10 ⁸ a	9,8x10 ⁶ d
634	1,15x10 ⁸ a	87,55x10 ⁸ b	21,1x10 ⁶ a
900	1,02x10 ⁸ ab	84,17x10 ⁸ b	9,8x10 ⁶ d
447	0,80x10 ⁸ ab	47,72x10 ⁸ c	17,4x10 ⁶ b
987	0,70x10 ⁸ b	37,95x10 ⁸ c	11,5x10 ⁶ c
760	0,27x10 ⁸ c	3,52x10 ⁸ d	4,4x10 ⁶ e

Médias seguidas de mesma letra não diferem estatisticamente entre si, pelo teste de Tukey (5%). CV=26,26%, CV=0,02%, CV=12,91%.

4.3 - Testes sob condições de laboratório e de campo de diferentes tipos de iscas.

4.3.1 - Teste de laboratório.

Os resultados desses experimentos estão apresentados na Tabela 7 e 8.

Tabela 7. Número de médio indivíduos de *Heterotermes tenuis* atraídos por diferentes materiais após 7 dias em condições de laboratório. (Temperatura 25°C, Umidade Relativa 70±10% e fotofase de 12 horas).

Material	Média de cupins
1- Papelão	12,75 a
2- Sulfite	1,25 a
3- Milho	25,50 a
4- Cana-de-açúcar	4,75 a

Médias seguidas de mesma letra não diferem entre si pelo teste Nao-paramétrico de comparações múltiplas (5%). Valor calculado de Chi-Quadrado $Q=10,69$.

Apesar de não se constatar diferença estatística entre os tratamentos, decidiu-se utilizar os tratamentos papelão e milho como padrões no experimento 2, comparando-os junto com jornal e papel higênico.

Tabela 8. Atratividade de diferentes materiais para *Heterotermes tenuis* sob condições de laboratório. (Temperatura 26°C, Umidade Relativa 70±10% e fotofase de 12 horas).

Materiais	Média de cupins
1- Papelão	14,75 a
2- Papel higiênico	13,75 a
3- Milho	0,75 a
4- Jornal	0,75 a

Médias seguidas de mesma letra não diferem entre si pelo teste Não-paramétrico de comparações múltiplas (5%). Valor calculado de CHi-Quadrado Q= 5,41.

Também, nesse experimento, não houve diferença entre os tratamentos. Observou-se que o tratamento papelão manteve uma média de atratividade boa nos dois experimentos; já o milho não apresentou a mesma taxa de atratividade observada no experimento 1.

Estes materiais foram estudados devido ao alto teor de celulose, baixo custo e facilidade de aquisição. Outros pesquisadores utilizaram-se destes materiais em condições de campo, demonstrando a eficiência na atração de outras espécies de cupins; FRENCH et al. (1981); SU et al. (1984); JONES et al. (1987).

4.3.1.1 - Teste de atratividade do cupim *H. tenuis* às iscas de papelão com fungo *B. bassiana* em laboratório.

Observou-se que tanto no experimento 1 como no experimento 2, os cupins não evitaram a presença do fungo *B. bassiana*, sendo portanto atraídos pelo papelão com e sem conídios puros do patógeno da mesma forma.

Os operários e soldados mortos não eram separados da população, demonstrando que não houve um "instinto de assepsia" relatado para outras espécies de cupins, como o que foi observado por FERNANDES (1991) na espécie *Cornitermes cumulans*.

Outros insetos sociais conseguem detectar a presença de agentes entomopatogênicos em suas colônias, tal como a formiga *Solenopsis invicta* (PEREIRA, 1991), ou cupins da espécie *Reticulitermes* sp., observados fazendo assepsia na colônia, eliminando os indivíduos doentes e contaminados bem como enterrando os mortos (KRAMM et al. 1982).

4.3.2 - Experimentos de campo

Experimento 1: Iscas dispostas em fileiras.

A partir deste experimento foi possível verificar que o papelão possui um grande poder atrativo sobre o cupim *H. tenuis*. O tratamento papelão, atraiu um número médio de cupins superior aos demais (Figura 1).

Experimento 2: Iscas dispostas em grupos.

Com as iscas dispostas em grupos, verificou-se que o papelão foi também o material mais atrativo (Figura 2). Os tratamentos jornal, papel higiênico e papel sulfite não coletaram nenhum inseto, e o tratamento tolete de cana e colmo de milho coletaram uma baixa quantidade de cupins. O papelão apresenta ainda a vantagem de liberar os cupins coletados, além do baixo custo e a facilidade de ser adquirido.

O papelão foi usado por GRACE et al. (1989), somente para servir de abrigo aos cupins *R. flavipes*, já que serviu para revestir um pedaço de 1,5 x 4 x 15 cm de *Pinus strobus*.

No caso do cupim *H. tenuis* o papelão proporcionou abrigo aos operários e soldados, além de servir como alimento, já que foi possível observar a construção de galerias nas armadilhas de papelão. O papelão, por ser corrugado, forma galerias quando enrolado, facilitando ainda mais a entrada dos cupins. Com apenas uma

semana da instalação das iscas no verão foi possível coletar em algumas iscas até 7.000 cupins, sendo que em média foram coletados 4.000 cupins por isca.

A estratégia de atração para o controle de cupins subterrâneos por patógenos através de ingestão voluntária ou transmissão por trofolaxia é perfeitamente viável com o uso de armadilhas de papelão (MYLES, 1992).

Figura 2. Número médio de cupins *Heterotermes tenuis* coletados em diferentes tipos de iscas dispostas em fileiras em condições de campo após 8 dias. Piracicaba-SP, maio 1991.

Figura 3. Número médio de cupins *Heterotermes tenuis* coletados em diferentes tipos de iscas dispostas em grupos em condições de campo após 8 dias. Piracicaba-SP, maio de 1991.

4.4 - Transmissão dos fungos *B. bassiana* em colônias artificiais de *H. tenuis* em laboratório

Os resultados foram submetidos a uma análise de Probit a qual permitiu determinar o número de cupins contaminados, necessários para matar 90% da população de 150 insetos, que foi de 10,47 cupins (Figura 3). Verificou-se que a mortalidade foi diretamente proporcional ao número de insetos contaminados nos diferentes tratamentos (Tabela 9).

Observou-se nas iscas e no solo dos diferentes tratamentos a formação de galerias. Decorridos 15 dias, por ocasião da avaliação, foi possível observar que sobre os cadáveres de cupins, o fungo estava esporulando e em algumas galerias havia a formação de rizomorfa caracterizada por um crescimento micelial dentro da galeria, proveniente do cupim morto.

Tabela 9. Mortalidade de *Heterotermes tenuis* em populações artificiais contaminados por insetos previamente infectados com conídios de *Beauveria bassiana*.
Temperatura 26°C, Umidade Relativa 70±10% e fotofase de 12 horas.

Tratamentos	% mortalidade
1- 1 inseto cont. + 29 sadios	2,75 c
2- 5 insetos cont. + 25 sadios	40,80 b
3- 10 insetos cont. + 20 sadios	89,00 a
4- 15 insetos cont. + 15 sadios	92,00 a
5- 20 insetos cont. + 10 sadios	100,00 a
6- 30 insetos sadios	1,30 c

Médias seguidas de mesma letra não diferem entre si pelo teste de Tukey (5%). CV= 32,56%

Observou-se novamente a ausência do "instinto de assepsia" do cupim *H. tenuis*. Em todos os tratamentos, os indivíduos contaminados conviviam normalmente com os sadios, demonstrando a inabilidade que esta espécie de cupim possui para detectar a presença de indivíduos doentes ou contaminados com patógenos.

PEREIRA (1991) verificou que a transmissão de *Beauveria bassiana* em colônias artificiais de *Solenopsis invicta* foi muito baixa, pois as formigas possuem um hábito

de limpeza corporal que elimina o patógeno antes que este possa causar algum efeito, sendo que as formigas contaminadas ou doentes eram eliminadas, o que barrou a transmissão do patógeno por toda a colônia.

FERNANDES (1991) observou este "instinto de assepsia" em cupins da espécie *Cornitermes cumulans*, mas como a estratégia de controle dessa espécie é por Introdução Inundativa, o potencial de inóculo é muito grande, não permitindo que a colônia tenha qualquer reação de defesa.

Figura 4. Mortalidade de cupins *Heterotermes tenuis* contaminados por *Beauveria bassiana* em colônias artificiais por Introdução Inoculativa. (Temperatura 26°C, U.R. 70±10%, fotofase 12 horas).

4.5 - Efeito sinérgico do inseticida imidacloprid com diferentes formulações do fungo de *B. bassiana* em isca de papelão.

4.5.1 - Teste de concentrações de imidacloprid.

A mortalidade aumentou com o aumento da concentração do inseticida imidacloprid, verificando-se que após 6 dias a mortalidade foi total nas concentrações 0,01 e 0,1 %. Constatou-se também, que a porcentagem de cupins atraídos foi maior nessas concentrações. À medida em que se diminuía a concentração, a porcentagem de indivíduos atraídos era menor. O efeito atrativo diminuía com o passar dos dias nas concentrações 0,001; 0,0001 e 0,00001 %, ocorrendo o inverso nas dosagens 0,01 e 0,1% (Tabelas 10 e 11).

ZECK & MONKE (1992) verificaram que as espécies *Reticulitermes flavipes* e *Coptotermes formosanus* submetidas ao imidacloprid apresentaram a menor sensibilidade a esse produto, sendo que as dosagens 0,01 e 0,1% foram as que causaram as maiores mortalidades.

Para efeito de estudo, decidiu-se utilizar as

concentrações 0,01 e 0,001% em associação ao fungo *Beauveria bassiana* isolado 634 em diferentes formulações.

Tabela 10. Porcentagem de mortalidade média de cupins

Heterotermes tenuis sujeitos à iscas tratadas com diferentes concentrações de imidacloprid em iscas atrativas, em laboratório (Temperatura $25\pm1^{\circ}\text{C}$, fotofase de 12 horas e Umidade Relativa $70\pm10\%$).

Dosagem	% mortalidade média		
	2 dias	4 dias	6 dias
0,1	76,0 a	100,0 a	100,0 a
0,01	81,0 a	99,0 a	100,0 a
0,001	39,0 ab	78,0 a	78,0 a
0,0001	1,0 b	2,0 b	5,0 b
0,00001	5,0 b	5,0 b	9,0 b
Testemunha	7,0 b	8,0 b	25,0 b

* Médias seguidas de mesma letra, na mesma coluna, não diferem entre si pelo teste de Tukey (5%). CV=63,54%, CV=38,35%, CV=47,94%.

Tabela 11. Porcentagem de atração de *Heterotermes tenuis* à iscas tratadas com diferentes concentrações de imidacloprid (Temperatura $25\pm 1^{\circ}\text{C}$, fotofase 12 horas e umidade relativa $70\pm 10\%$).

Dosagem	% mortalidade média		
	2 dias	4 dias	6 dias
0,1	89,0 a	97,0 a	100,0 a
0,01	79,0 a	90,0 a	4,0 b
0,001	24,0 b	1,0 b	8,0 b
0,0001	34,0 b	8,0 b	5,0 b
0,00001	22,0 b	7,0 b	5,0 b
Testemunha	20,0 b	21,0 b	16,0 b

* Médias seguidas de mesma letra, na mesma coluna, não diferem entre si pelo teste de Tukey (5%). CV=45,37%, CV=56,63%, CV=72,48%.

4.5.2 - Teste de sinergismo.

Observando-se os resultados apresentados nas Tabelas 12 e 13, pode-se verificar que os Tratamentos 1 (conídio puro) e 2 (conídio puro+Imidacloprid) foram os que causaram mortalidade mais rápida dentre todos os tratamentos nas diferentes concentrações de imidacloprid.

Tabela 12. Tempo letal 50 (TL₅₀) de *Heterotermes tenuis* contaminados com o fungo *Beauveria bassiana* em diferentes formulações na concentração 0,001% de imidacloprid em iscas atrativas, em laboratório. (Temperatura 25±1°C, fotofase de 12 horas, Umidade relativa 70±10%)

Tratamento	TL ₅₀	I.C.
Conídio puro	2,34	(0,72; 7,60)
Con. puro+imi.	5,54	(2,60; 11,84)
Pasta	6,16	(4,59; 8,27)
Pasta+imid.	7,82	(6,73; 9,09)
Micélio seco	5,17	(3,73; 7,16)
Micélio+imid.	7,15	(4,14; 12,34)
Testemunha	**	**
imidacloprid	*	*

* Não foi possível calcular o TL₅₀ devido ao baixo número de mortos (6% de mortalidade).

** O TL₅₀ não foi calculado, já que a porcentagem de mortalidade para a concentração 0,001% foi de 1%.

Tabela 13. Tempo Letal 50 (TL₅₀) de *Heterotermes tenuis* contaminados com diferentes formulações do fungo *Beauveria bassiana* com a concentração 0,01% de imidacloprid em iscas atrativas, em laboratório. (Temperatura 25±1°C, fotofase de 12 horas e Umidade Relativa de 70±10%).

Tratamentos	TL ₅₀	I. C.
Conídio puro	3,89	(3,07; 4,93)
Conídio puro+imid.	4,41	(2,80; 6,85)
Pasta	5,20	(3,52; 7,66)
Pasta+imid.	6,75	(5,86; 7,78)
Micélio seco	8,18	(5,06; 13,02)
Micélio seco+imid.	5,22	(3,46; 7,89)
Testemunha	**	**
imidacloprid	*	*

* Não foi possível calcular o TL₅₀ devido ao baixo número de mortos (6% de mortalidade).

** O TL₅₀ não foi calculado, já que não houve mortalidade.

Tabela 14. Porcentagem de mortalidade de *Heterotermes tenuis* contaminados com o fungo *Beauveria bassiana* em diferentes formulações e duas concentrações de imidacloprid em iscas atrativas após 8 dias, em laboratório. (Temperatura $25 \pm 1^\circ\text{C}$, fotofase de 12 horas e Umidade relativa $70 \pm 10\%$).

Tratamentos	% de mortalidade	
	sem inseticida - 0,001%	sem inseticida - 0,01%
Conídio puro	71,0 a	80,0 a
Con. puro+imid.	74,0 a	79,0 a
Pasta	63,0 a	67,0 a
Pasta+imid.	50,0 ab	59,0 ab
Micélio seco	75,0 a	43,0 ab
Micélio+imid.	49,0 ab	69,0 a
Testemunha	1,0 b	0,0 b
imidacloprid	6,0 b	56,0 b

Médias seguidas de mesma letra na mesma coluna não diferem entre si pelo teste de Tukey (5%). CV=47,76%, CV=47,95%.

Verificou-se também, que as formulações em pasta e micélio seco apresentaram boa esporulação. Esses tratamentos causaram mortalidade mais lenta que os tratamentos com conídios puros.

Observou-se também que houve um pequeno efeito sinérgico somente na dosagem 0,01% para os tratamentos 5 (micélio seco) e 6 (micélio seco+imidacloprid) sendo que esse efeito não foi observado nos demais tratamentos (Tabelas 12 e 13).

ZECK & MONKE (1992) constataram que na associação do imidacloprid com *Metarhizium anisopliae*, houve um efeito sinérgico, utilizando a concentração de 0,001% de Imidacloprid e diferentes concentrações de fungo puro incorporados no solo e em armadilhas de papelão corrugado.

Constatou-se também que houve compatibilidade entre o fungo *B. bassiana* e o inseticida imidacloprid, já que a presença do produto não afetou a mortalidade dos cupins pelo entomopatógeno. Esta característica do inseticida é importante para a sua associação com o patógeno visando a aplicação em campo. Ficou evidente que os cupins são atraídos pelas armadilhas com fungo nas diferentes formulações. Também constatou-se a esporulação do fungo sobre os cadáveres nas galerias construídas pelos operários.

5 - CONCLUSÕES

- Os fungos *Beauveria bassiana* e *Metarhizium anisopliae* são patogênicos ao cupim subterrâneo *Heterotermes tenuis*.

- Entre os 142 isolados, de *B. bassiana* mais promissor para ser usado em um programa de controle microbiano de *Heterotermes tenuis* é o 634, originalmente isolado de *Solenopsis invicta*.

- O método de inoculação por pulverização direta é mais adequado para estudos de seleção de isolados.

- O cupim *H. tenuis* é mais atraído pela armadilha de papelão do que outras armadilhas avaliadas.

- O fungo *B. bassiana* não foi repelente para o cupim *H. tenuis*.

- O fungo *B. bassiana* pode ser usado em associação com o inseticida imidacloprid em iscas de papelão.

6 - REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ADAMSON, A. M.. Laboratory technique for the study of living termites. Ecology, Durhan, 22(4): 411-414, 1941.
- AHMAD, M.; AFZAL, M. & SALIHAH, Z.. The effects of different relative humities on survival and moisture loss of workers of *Heterotermes indicola* (Wasmann) (Isoptera, Rhinotermitidae) under starvation conditions. Pakistan Journal Zoology, Lahore, 14(1): 65-70, 1982.
- ALMEIDA, J. E. M.; MOINO JR., A.; ALVES, S. B. & PEREIRA, R. M.. Controle de *Cornitermes cumulans* (Isoptera-Termitidae) com uma formulação pó seco de *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuill. In: SIMPÓSIO DE CONTROLE BIOLÓGICO, 3., Águas de Lindóia-SP, 1992, Resumos, Águas de Lindóia, 1992, p. 270.

ALMEIDA, L. C.; PETRI, J. L. & IGLESIAS, A. C.. Flutuação populacional e avaliação de danos por cupins em parcelas tratadas com diferentes inseticidas. Boletim Técnico Copersucar, São Paulo, 46, 1989.

ALVES, S. B.. Fungos Entomopatogênicos. In: _____, Coord., Controle Microbiano de Insetos, São Paulo, Ed. Manole, 1986a, p. 73-124.

ALVES, S. B.. Produção de Fungos Entomopatogênicos. In: _____, Coord., Controle Microbiano de Insetos, São Paulo, Ed. Manole, São Paulo, 1986b, p. 311-323.

ALVES, S. B.; ALMEIDA, J. E. M.; MOINO JR., A.; STIMAC, J. L. & PEREIRA, R. M.. Use of *Metarhizium anisopliae* and *Beauveria bassiana* for control of *Cornitermes cumulans* in pastures. In: ANNUAL MEETING SOCIETY FOR INVERTEBRATE PATHOLOGY, 25., Heidelberg, 1992, Resumos, Heidelberg, 1992. p. 227.

ARRIGONI, E. De B.; ALMEIDA, L. C.; KASTEN JR., P. & PRECETTI, A. A. C. M.. Distribuição de espécies de cupins, em cana-de-açúcar, em unidades cooperadas das regiões de Jaú e Sertãozinho-SP. Boletim Técnico Copeersucar, São Paulo, 48, 1989.

BAO, L. L. & YENDOL, W. G.. Infection of the eastern termite *Reticulitermes flavipes* (Kollar) with the fungus *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuill. Entomophaga, Paris, 16(3): 343-352, 1971.

BARNNETT, E. A. & COWIE, R. H.. Toxicity of a Dihaloalkyl Arysulfone biocide A-9248 to the fungus cultivated by the fungus growing termite *Microtermes* sp. nr. *lepidus* (Isoptera: Macrotermitidae). Sociobiology, Chico, 16(3): 241-246, 1990.

BECKER, G. Rearing of termites and testing methods used in the laboratory. In: KRISHNA, K. & WEESNER, F.. Biology of Termites. New York and London, Academic Press, 1969, Vol. 1. Cap. 11, p. 351-85.

- COWIE, R. H.; LOGAN, J. W. M. & WOOD, T. G.. Termite (Isoptera) damage and control in tropical forestry with special reference to Africa and Indo-Malaysia: a review. Bulletin of Entomological Research, London, 79: 173-184, 1989.
- DUNCAN, F. D. & HEWITT, P. D.. Observation on the foraging behaviour of the harwest termite, *Hodontotermes mossambicus* (Hagen) (Isoptera, Rhinotermitidae). Bulletin of Entomological Research, London, 79: 631-642, 1989.
- EPSKY, N. D. & CAPINEIRA, J. L.. Efficacy of the entomogenous nematode *Steinernema feltiae* against a subterranean termite, *Reticulitermes tibialis* (Isoptera: Rhinotermitidae). Journal of Economic Entomology, College Park, 81(5): 1313-1317, 1988.
- FARGUES, J. & ROBERT, P. H.. Persistence de conidiospores des hyphomycetes entomogenes *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuill., *Metarhizium anisopliae* (Metsch.) Sorok. *Nomureae rileyi* (F.) Sanson et *Paecilomyces fumoso-roseus* Wize dans le sol, in conditions contrôlées. Agronomie, Paris, 5(1): 73-80, 1985.

FARGUES, J.; REISINGES, O.; ROBERT, P. H. & AUBART, C..

Biodegration of entomopathogenic hyphomycetes: influence of clay coating on *Beauveria bassiana* blastopore survival in soil. Journal of Invertebrate Pathology, New York, 41: 131-142, 1982.

FERNANDES, P. M.. Controle microbiano de *Cornitermes cumulans* (Kollar, 1832) (Isoptera: Termitidae) utilizando *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuill. e *Metarhizium anisopliae* (Metsch.) Sorok. Piracicaba-SP, 1991, 114p. (Doutorado - Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz" USP).

FERNANDES, P. M. & ALVES, S. B.. Controle de *Cornitermes cumulans* (Kollar, 1832) (Isoptera-Termitidae) com *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuill. e *Metarhizium anisopliae* (Metsch.) Sorok. em condições de campo. Anais da Sociedade Entomológica do Brasil, Porto Alegre-RS, 20(1): 45-9, 1992.

- FRENCH, J. R. J.; ROBINSON, P. J.; BARTLETT, N. R.. A rapid and relative field assessment of termite wood feeding preferences of the subterranean termite *Heterotermes ferox* (Frogg.) using toilet roll small wood-block baits. Sociobiology, Chico, 6(2): 135-151, 1981.
- GALLO, D.; NAKANO, O.; SILVEIRA NETO, S.; CARVALHO LIMA, R. P.; BATISTA, G. C.; BERTI FILHO, E.; PARRA, J. R. P.; ZUCCHI, R. A.; ALVES, S. R. & VENDRAMIM, J. D.. Pragas Gerais. In: Manual de Entomologia Agricola, São Paulo, Ed. Ceres, 1988, pp. 560-565.
- GAO, D.. Use of attractants in bait toxicants for the control of *Coptotermes formosanus* Shikari in China. Research Extension Series Hawaii Institute of Tropical Agriculture and Human Resources, Honolulu, 83: 53-57, 1987.
- GOTTWARD, T. R. & TEDDERS, W. L.. Colonization, transmission, and longevity of *Beauveria bassiana* and *Metarhizium anisopliae* (Deutemycotina: Hyphomycetes) on Pecan weevil larvae (Coleoptera: Curculionidae) in the soil. Environmental Entomology, College Park, 13: 557-560, 1984.

GRACE, J. K.. Response of eastern and Formosan Subterranean Termites (Isoptera: Rhinotermitidae) to borate dust and soil treatments. Journal of Economic Entomology, College Park, 84(6): 1753-1757, 1991.

GRACE, J. K. & ABDALLAY, A.. A short-term for making eastern subterranean termites (*Reticulitermes flavipes* Koll.) (Isoptera: Rhinotermitidae). Journal of Applied Entomology, Hamburg, 109: 71-75, 1990.

GRACE, J. K.; ABDALLAY, A. & FARR, K. R.. Eastern Subterranean Termite (Isoptera: Rhinotermitidae) foraging territories and populations in Toronto. The Canadian Entomologist, Ottawa, 121: 551-556, 1989.

GRACE, J. K.; YAMAMOTO, R. T. & EBESU, R. H.. Laboratory evaluation of the novel soil insecticide silafluorfen against *Coptotermes formosanus* Shikari (Isoptera: Rhinotermitidae). Journal of Applied Entomology, Hamburg, 113: 466-471, 1992.

HANEL, H.. A bioassay for measuring the virulence of the insect pathogenic fungus *Metarhizium anisopliae* (Metsch.) Sork. (fungi imperfect) against the termite *Nasutitermes exitiosus* (Hill) (Isoptera, Termitidae). Zeitschrift fur Angewandte Entomologie, Berlin, 92: 9-18, 1981.

HANEL, H.. Selection of a fungus species, suitable for the biological control of the termite *Nasutitermes exitiosus* (Hill.). Zeitschrift fur Angewandte Entomologie, Berlin, 94: 237-245, 1982a.

HANEL, H.. The life cycle of the insect pathogenic fungus *Metarhizium anisopliae* in the termite *Nasutitermes exitiosus*. Mycopathologia, Den Haag, 80: 137-145, 1982b.

HANEL, H. & WATSON, J. A. L.. Preliminary field tests on the use of *Metarhizium anisopliae* for the control of *Nasutitermes exitiosus* (Hill) (Isoptera: Termite). Bulletin of Entomological Research, London, 79: 305-313, 1983.

- HARRIS, W. V.. Termites as pests of sugar cane. In: WILLIAMS, J. R.; METCLFE, J. R.; MUNGOMERY, R. W. & MATHES, R.. Pests of Sugar Cane, Amsterdam, London, New York, Ed. Elsevier p. 225-35, 1984.
- HOWARD, R. W.. Effects of Methoprene on laboratory colonies of *Reticulitermes flavipes* (Kollar) (Isoptera: Rhinotermitidae). Journal of the Georgia Entomological Society, Tifton, 19(3): 292-298, 1984.
- JONES, S.. Delineation of *Heterotermes aureus* (Isoptera: Rhinotermitidae) foraging territories in a Sonoran desert glassland. Environmental Entomology, College Park, 19(4): 1047-1054, 1990.
- JONES, S. C.. Field evaluation of boran as a bait toxicant for control of *Heterotermes aureus* (Isoptera: Rhinotermitidae). Sociobiology, Chico, 19(1): 187-209, 1991.
- JONES, S. C.; TROSSET, M. W. & NUTTING, W. L.. Biotic and abiotic influences on foraging of *Heterotermes aureus* (Snyder) (Isoptera: Rhinotermitidae). Environmental Entomology, College Park, 16(3): 791-795, 1987.

KO, W. H.; FUJII, J. K. & KANEGAWA, K. M.. The nature of soil perniciosus to *Coptotermes formosanus*. Journal of Invertebrate Pathology, New York, 39: 38-40, 1982.

KRAMM, K. R. & WEST, D. F.. Termite pathogens: effects of ingested *Metarhizium*, *Beauveria* and *Gliocladium* conidia on termites (*Reticulitermes* sp.). Journal of Invertebrate Pathology, New York, 40: 7-11, 1982a.

KRAMM, K. R.; WEST, D. F. & ROCKENBACH, P. G.. Termite pathogens: transfer of the entomopathogen *Metarhizium anisopliae* between *Reticulitermes* sp. termite. Journal of Invertebrate Pathology, New York, 40: 1-6, 1982.

LAI, P. Y.; TAMASHIRO, M.; FUJII, J. K.. Pathogenicity of six strains of entomogenous fungi to *Coptotermes formosanus*. Journal of invertebrate Pathology, New york, 39: 1-5, 1982.

LINGG, A. J. & DONALDSON, M. D.. Biotic and abiotic factors affecting stability of *Beauveria bassiana* conidia in soil. Journal of Invertebrate Pathology, New York, 38: 191-200, 1981.

LOECK, A. E. & NAKANO, O.. Persistência de dois inseticidas piretróides num solo barro-areno-argiloso em condições de campo. Pesquisa Agrpecuária Brasileira, Brasília, 23(2): 709-715, 1988.

LOGAN, J. W. M.; COWIE, R. H. & WOOD, T. G.. Termite (Isoptera) control in agriculture and forest by non-chemical methods: a review. Bulletin of Entomological Research, London, 80: 309-330, 1990.

LOGAN, J. W. M.; RAJAGOPAL, D.; WIGHTMAN, J. A. & PEARCE, M. J.. Control of termites and other soil pests of groundnuts with special reference to controlled release formulations of non-persistent insecticides in India and Sudan. Bulletin of Entomological Research, London, 82: 57-66, 1992.

MAULDIN, J. K. & BEAL, R. H.. Entomogenous nematodes for control of subterranean termites, *Reticulitermes* spp. (Isoptera: Rhinotermitidae). Journal of Economic Entomology, College Park, 82(6): 1638-1642, 1989.

McCABE, A. & SOPER, R. S.. Preparation of an entomopathogenic fungal insect control agent. U. S. Patent 4, 530, 834 jul. 1985.

- McCOY, C. W.; SAMSON, R. A. & BOUCIAS, D. G.. Entomogenous Fungi. In: IGNOFFO, C. M., ed. CRC handbook of natural pesticides, vol. V: Microbial insecticides, Part A: entomogenous protozoa and fungi. Florida, CRC Press Inc., 1988. p. 151-236.
- MILL, A. E.. Termites as agricultural pests in Amazonia, Brazil. Outlook on Agriculture, London, 21(1): 41-46, 1992.
- MYLES, J. G.. The trap-treat-release technique for control of subterranean termites. In: INTERNATIONAL CONGRESS OF ENTOMOLOGY, 19., Beijing, 1992. Resumos, Beijing, 1992. p. VIIIW-1.
- NOVARETTI, W. R. T.. Controle de cupins em cana-de-açúcar através do emprego de inseticidas de solo. Boletim Técnico Copersucar, São Paulo, 38, 1985.
- NOVARETTI, W. R. T.; CARDERAN, J. O.; TOTINO, L. C.; NELLI, E. J.; STRABELLI, J. & BORTOLIN, J. R.. Experimentos de controle de cupins em cana-de-açúcar. Boletim Técnico Copersucar, São Paulo, 42, 1988.

- OSBRINK, W. L. A.; SCHEFFRAHAN, R. H.; SU, N. Y. & RUST, M. K.. Laboratory comparasions of Sulfuryl Fluorid toxicity and mean time of mortality among ten time species (Isoptera: Hodontotermittidae, Kalotermittidae, Rhinotermittidae). Journal Economic of Entomology, College Park, 80(5): 1044-1047, 1987.
- PEARCE, M. J.. A new trap for colleting termites and assessing their foraging activity. Tropical Pest Management, London, 36(3): 310-311, 1990.
- PEREIRA, R. M.. Evaluation of the entomopathogenic fungus *Beauveria bassiana* on the Red Imported Fire Ant, *Solenopsis invicta*. Gainsville, USA, 1991, 134p. (Doutorado - University of Florida).
- PEREIRA, R. M.; STIMAC, J. L.; ALVES, S. B.. Soil antagonism affecting the dose-response of workers of the red imported fire ant, *Solenopsis invicta*, to *Beauveria bassiana* conidia. Journal of Invertebrate Pathology, New York, 61: 156-161, 1993.

PIZANO, M. A. & FONTES, L. R. O.. Ocorrência de *Heterotermes tenuis* (Hagen, 1858) e *H. longiceps* (Snyder, 1924) (Isoptera: Rhinotermitidae) atacando cana-de-açúcar no Brasil. Brasil Acucareiro, Rio de Janeiro, 104(3e4), 1986.

ROBERTS, D. W. & CAMPBELL, A. S.. Stability of Entomopathogenic Fungi. In: Miscellaneous Publication of the Entomological Society of America, College Park, 10(5): 19-76, 1977.

ROBERTS, D. W. & HUMBER, R. A.. Entomogenous fungi. In: Cole & Kendrick (eds.). The biology of conidial fungi. New York, Academic Press, 1981. Vol. 2, cap. 21, p. 201-236.

SANDS, W. A.. The role of termites in tropical agriculture. Outlook on Agriculture, London, v.9, n.3, 1977.

SANNASI, A.. Studies of an insect mycosis I. Histopathology of the integument of the infected queen of the mound-building termite *Odontotermes obesus*. Journal Invertebrate Pathology, New York, 13: 4-10, 1969a.

SANNASI, A.. Studies of an insect mycosis II. Biochemical changes in the blood of the queen of the mound-building termite *Odontotermes obesus* accompanying fungal infection. Journal Invertebrate Pathology, New York, 13: 11-14, 1969b.

SMYTHE, R. V. & COPPEL, H. C.. The susceptibility of *Reticulitermes flavipes* (Kollar) and other termite species to an experimental preparation of *Bacillus thuringiensis* Berliner. Journal of Invertebrate Pathology, New York, 7: 423-426, 1965.

SMYTHE, R. V. & COPPEL, H. C.. Pathogenicity of externally occurring fungi to *Reticulitermes flavipes*. Journal of Invertebrate Pathology, New York, 8(2): 266-267, 1968.

SMITH, J. L. & RUST, M. K.. Vapor activity of insecticides used for subterranean termite (Isoptera: Rhinotermitidae) control. Journal of Economic Entomology, College Park, 84(1): 181-184, 1991.

SMITH, J. L. & RUST, M. K.. Activity and water-induced movement of termiticides in soil. Journal of Economic Entomology, College Park, 85(2): 430-434, 1992.

- SU, N. Y. & LA LAGE, J. P.. Effects of starvation on survival and maintenance of soldier proportion in laboratory groups of the Formosan Subterranean Termite, *Coptotermes formosanus* (Isoptera: Rhinotermitidae). Annals Entomological Society of America, Baltimore, 79: 312-316, 1986.
- SU, N. Y.; TAMASHIRO, M.; YATES, J. R. & HAVERTY, M.. Foraging behaviour of the Formosan Subterranean Termite (Isoptera: Rhinotermitidae). Environmental Entomology, College Park, 13: 1466-1470, 1984.
- SU, N. Y.; TAMASHIRO, M. & HAVERTY, M. I.. Characterization of slowacting insecticides for the remedial control of the Formosan Subterranean Termite (Isoptera: Rhinotermitidae). Journal of Economic Entomology, College Park, 80(1): 1-4, 1987.
- SU, N. Y. & SHEFFRAHN, R. H.. Toxicity and feeding deterrency of a Dihaloalkyl Arylsulfone Biocide, A-9248, against the Formosan Subterranean Termite (Isoptera: Rhinotermitidae). Journal of Economic Entomology, College Park, 81(3): 850-854, 1988.

SU, N. Y. & SHEFFRAHN, R. H.. Toxicity and lethal time of N-ethyl perfluorooctine sulfonamide against two subterranean termite species (Isoptera: Rhinotermitidae). Florida Entomologist, Gainesville, 71(1): 73-78, 1988.

SU, N. Y. & SHEFFRAHN, R. H.. Comparasion of eleven soil termiticides against the Formosan Subterranean Termite and Eastern Subterranean Termite (Isoptera: Rhinotermitidae). Journal of Economic Entomology, College Park, 83(5): 1918-1924, 1990.

TAMASHIRO, M.; FUJII, J. K. & LAI, P. Y.. A simple method to observe, trap and prepare larg numbers of subterranean termite for laboratory and field experiments. Environmental Entomology, College Park, 2(4): 721-722, 1973.

TERAN, F. O.. Integrated management of soil pests in sugarcane. Sugar y Azucar, New York, 84(11): 27-31, 1989.

THAKAR, A. V.; HUSSAIN, T. & SHARMA, A. K.. Effect of insecticidal seed treatment, soil application and their combinations to control termite damage in wheat. Bulletin Entomological Research, London, 15(4): 307-309, 1991.

THOMPSON, C. R.. Bait stake detection of the Formosan Termite in South Florida. Florida Entomologist, Gainesville, 68(4): 641-645, 1985.

VAN DER LINE, T. C. de K.; HEWITT, P. H.; VAN der WESTHVIZEN, M. C. & MITCHELL, J.. The use of ^{131}I ^{125}I and aggressive behaviour to determine the foraging area of *Hodontotermes mossambicus* (Hagen) (Isoptera: Hodontotermitidae). Bulletin of Entomology Research, London, 79: 537-544, 1989.

WALLER, D. A. & LaFAGE, J. P.. Food quality and foraging response by the subterranean termite *Coptotermes formosanus* Shikari (Isoptera: Rhinotermitidae). Bulletin Entomological Research, London, 77: 417-424, 1987.

YENDOL, W. G. & PASCHKE, J. D.. Pathology of an *Entomophthora* infection in the eastern subterranean termite *Reticulitermes flavipes* (Kollar). Journal of Invertebrate Pathology, New York, 7: 414-422, 1965.

ZECK, W. M. & MONKE, B. J.. Synergy in soil and bait application of Imidacloprid with entomopathogenous fungi in termite control. In: ANNUAL MEETING OF THE ENTOMOLOGICAL SOCIETY OF AMERICA, 25., Baltimore, 1992. Anais, Baltimore, 1992. p. 1-17.