

**SELEÇÃO DE ISOLADOS DE NEMATÓIDES
ENTOMOPATOGÊNICOS VISANDO O
CONTROLE DE *Cornitermes cumulans*
(KOLLAR, 1832) (ISOPTERA: TERMITIDAE)**

GISELLE CHRISTIANE DE SOUZA

2006

GISELLE CHRISTIANE DE SOUZA

**SELEÇÃO DE ISOLADOS DE NEMATÓIDES
ENTOMOPATOGÊNICOS VISANDO O CONTROLE DE
Cornitermes cumulans (KOLLAR, 1832) (ISOPTERA: TERMITIDAE)**

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Lavras como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Agronomia/Entomologia, área de concentração em Entomologia Agrícola, para a obtenção do título de “Mestre”.

Orientador
Prof. Dr. Alcides Moino Junior

LAVRAS
MINAS GERAIS - BRASIL
2006

**Ficha Catalográfica Preparada pela Divisão de Processos Técnicos da
Biblioteca Central da UFLA**

Souza, Giselle Christiane de

Seleção de isolados de nematóides entomopatogênicos visando o controle de *Cornitermes cumulans* (Kollar, 1832) (Isoptera: Termitidae) / Giselle Christiane de Souza. -- Lavras : UFLA, 2006.

41 p. : il.

Orientador: Alcides Moino Junior.

Dissertação (Mestrado) – UFLA.

Bibliografia.

1. Cupim. 2. Controle biológico. 3. Nematóides entomopatogênicos. I. Universidade Federal de Lavras. II. Título.

CDD-595.736

GISELLE CHRISTIANE DE SOUZA

**SELEÇÃO DE ISOLADOS DE NEMATÓIDES
ENTOMOPATOGÊNICOS VISANDO O CONTROLE DE
Cornitermes cumulans (KOLLAR, 1832) (ISOPTERA: TERMITIDAE)**

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Lavras como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Agronomia/Entomologia, área de concentração em Entomologia Agrícola, para a obtenção do título de “Mestre”.

APROVADA em 12 de Abril de 2006

Dr. Alexander Machado Auad

EMBRAPA/ CNPGL

Prof. Dr. Luís Cláudio Paterno Silveira

UFLA

Prof. Dr. Alcides Moino Junior
UFLA
(Orientador)

LAVRAS
MINAS GERAIS – BRASIL

DEDICATÓRIA

Aos meus pais, João e Carmen; ao meu marido, Leonardo; aos meus irmãos, Leander, Lílian, Juliana e Sibelle; aos meus cunhados Alessandra, Ronaldo, Amarildo e Márcio; aos meus sobrinhos, Gustavo, Isabela e Caio.

Dedico.

AGRADECIMENTOS

À Universidade Federal de Lavras, pela oportunidade concedida.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), pela concessão da bolsa de estudos.

Ao professor Alcides Moino Junior, pela amizade, orientação e ensino, durante todos esses anos, inclusive na graduação.

Aos amigos do Laboratório de Patologia de Insetos: Cristhiane, Grazielle, Marco Aurélio, Ricardo, Vanessa, Viviane e também àqueles que, durante minha caminhada, passaram por lá, pelos ensinamentos, amizade e apoio na realização deste e de outros trabalhos.

Aos amigos Alexandre e Félix, pelo incentivo, ajuda nas coletas de cupim e amizade durante a realização deste trabalho.

Aos colegas do mestrado em Agronomia/Entomologia: Andréa, Eliana, Lucas, Melissa, Rosane e Stephan, pela amizade e companheirismo durante o curso.

Aos professores do Departamento de Entomologia (DEN/UFLA), pelos ensinamentos que me foram passados e pela sincera amizade.

A todos os funcionários do Departamento de Entomologia, em especial a Elaine, Fábio, Lisiane e Nazaré, pela amizade e auxílio durante o curso e neste trabalho.

Ao pesquisador da EMBRAPA Alexander Auad e ao professor Luís Cláudio do DEN/UFLA, pela valiosa contribuição nesse trabalho.

Aos meus familiares e amigos, pelo constante apoio e incentivo.

A todos que, de forma direta ou indireta, contribuíram para a realização deste trabalho.

Sinceramente agradeço.

SUMÁRIO

RESUMO.....	i
ABSTRACT.....	ii
1 INTRODUÇÃO	1
2 REFERENCIAL TEÓRICO.....	3
2.1 Caracterização, importância e controle dos cupins.....	3
2.1.1 Controle cultural.....	5
2.1.2 Controle químico.....	5
2.1.3 Controle biológico com entomopatógenos.....	10
2.1.3.1 Bactérias e fungos entomopatogênicos.....	10
2.1.3.2 Nematóides entomopatogênicos.....	13
2.1.4 Controle associado.....	18
3 MATERIAL E MÉTODOS.....	21
3.1 Coleta e manutenção dos cupins.....	21
3.2 Multiplicação e manutenção de nematóides entomopatogênicos.....	23
3.3 Bioensaio para seleção de isolados de nematóides entomopatogênicos.	25
3.4 Bioensaio com diferentes concentrações de nematóides entomopatogênicos para o controle do cupim.....	27
3.5 Bioensaio de deslocamento dos nematóides.....	27
4 RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	29
4.1 Bioensaio para seleção de isolados de nematóides entomopatogênicos.	29
4.2 Bioensaio com diferentes concentrações de nematóides entomopatogênicos para o controle do cupim.....	32
4.3 Bioensaio de deslocamento dos nematóides.....	34
5 CONCLUSÕES.....	35
6 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	36

RESUMO

SOUZA, Giselle Christiane de. **Seleção de isolados de nematóides entomopatogênicos visando o controle de *Cornitermes cumulans* (Kollar, 1832) (Isoptera: Termitidae)**. Lavras: UFLA, 2006. 41 p. (Dissertação – Mestrado em Entomologia).*

O controle de cupins é feito quase que exclusivamente com produtos fitossanitários químicos. Com a proibição do uso de inseticidas clorados, a partir de 1985, outros produtos passaram a ser utilizados, além do incremento na pesquisa de agentes de controle biológico, buscando um controle mais racional e menos prejudicial ao homem e ao ambiente. Nessa condição, encontram-se os nematóides entomopatogênicos (NEPs), com potencial para uso como agentes de controle de cupins. O objetivo deste trabalho foi selecionar um isolado de NEP, visando o controle do cupim *Cornitermes cumulans*. Foi realizado um pré-teste para a escolha da concentração utilizada na seleção, que foi de 490 juvenis infectivos (JI)/cupim. Para os bioensaios, os cupins foram coletados um dia antes e colocados em placas de Petri de 9 cm de diâmetro contendo papel filtro umedecido, dieta artificial e algodão também umedecido na tampa da placa, que foi furada. As placas com 50 cupins foram colocadas em câmara BOD a $21 \pm 1^\circ\text{C}$. No dia seguinte, apenas 30 cupins foram deixados nas placas e 1 mL da suspensão de nematóide foi aplicado. A avaliação foi feita três dias após a inoculação. Os cupins mortos foram transferidos para câmara seca por dois dias e, então, dissecados para a confirmação da mortalidade. No bioensaio com diferentes concentrações, o procedimento para montagem e avaliação foi o mesmo dos anteriores, porém, as concentrações utilizadas foram: 0, 50, 100, 150, 200, 250, 300, 350, 400, 450 e 500 JI/cupim. No bioensaio de deslocamento, os procedimentos foram os mesmos, porém, os 30 cupins foram colocados em placas contendo 20g de areia, dieta artificial e uma placa de acrílico de 1,6 x 8,7cm. O total de suspensão aplicada foi de 4 mL/placa e a concentração foi de 400 JI/cupim. A avaliação foi após cinco dias, seguindo os mesmos procedimentos anteriores. Os nematóides do gênero *Steinernema* foram mais eficientes no controle de *C. cumulans* que os nematóides do gênero *Heterorhabditis*, quando foi utilizada a concentração de 490 JI/cupim, exceto *H. bacteriophora* HP88, que promoveu mortalidade de 64% dos operários. O nematóide selecionado foi *Steinernema feltiae*, cuja concentração, que matou 88% dos cupins, foi de 413 JI/cupim. Houve diferença entre a testemunha e o nematóide *S. feltiae* no bioensaio de deslocamento, caracterizando o comportamento ativo de busca do nematóide.

* Orientador: Alcides Moino Junior - UFLA

ABSTRACT

SOUZA, Giselle Christiane de. **Selection of entomopathogenic nematodes for the control of *Cornitermes cumulans* (Kollar, 1832) (Isoptera: Termitidae).** Lavras: UFLA, 2006. 41 p. (Dissertation – Master in Entomology).*

Almost exclusively chemical pesticides are used to make the control of termites. Other products started to be used with the prohibition of the use of chlorinated pesticides in 1985, beyond the increment in the research of agents of biological control, searching a more rational and less harmful control to the man and the environment. In this condition, entomopathogenic nematodes (EPNs) have potential use as agents to control termites. The purpose of this study was selecting an EPN isolate aiming to control the termite *Cornitermes cumulans*. It was made a preliminary test to choose the concentration used in the selection, that was 490 infectives juveniles (IJ)/termite. To prepare the test, termites were collected one day before and placed in Petri dishes (diameter 9 cm) containing filter paper humidified, artificial diet and cotton, also humidified, in the plate cover, where were made small holes. The dishes with 50 termites were placed in a germination chamber B.O.D. at $21 \pm 1^\circ\text{C}$. In the next day, only 30 termites were left in the dishes and 1 mL of the nematode suspension was applied. The evaluation was made 3 days after the inoculation. Died termites were transferred to dry chamber per 2 days and then dissected to confirm mortality. The procedure to set up and evaluate the test with different concentrations were the same of the previous, however, the concentrations used were: 0, 50, 100, 150, 200, 250, 300, 350, 400, 450 and 500 IJ/termite. In the movement essay, the procedures were the same one, however, 30 termites were placed in dishes containing 20g of sand, artificial diet and an acrylic dish (1,6 x 8,7cm). The suspension applied was 4 mL/dish and a concentration of 400 IJ/termite. The evaluation was made after 5 days following the same previous procedures. The nematodes of *Steinernema* genus were more efficient to control *C. cumulans* than nematodes of *Heterorhabditis* genus when used the concentration of 490 IJ/termite, except for *H. bacteriophora* HP88 that caused 64% of mortality in termites. The selected nematode was *Steinernema feltiae*, which the concentration that killed 88% of termites was 413 IJ/termite. It was noticed difference between the treatment control and the nematode *S. feltiae* in test of movement, characterizing the behavior of search of this nematode.

-
- Adviser: Alcides Moino Junior – UFLA

1 INTRODUÇÃO

Os cupins são insetos sociais, pertencentes à ordem Isoptera. Apresentam castas reprodutoras e não reprodutoras, vivendo em colônias permanentes, chamadas de termiteiros ou cupinzeiros, que servem para proteção da colônia, armazenamento de alimento e manutenção de condições ótimas para o desenvolvimento dos indivíduos.

Existem, aproximadamente, 2.750 espécies descritas no mundo, mais conhecidas pela sua importância econômica como pragas de pastagens, madeira e de outros materiais celulósicos (Zanetti et al., 2002). No Brasil, as principais famílias encontradas são: Kalotermitidae, Termopsidae, Rhinotermitidae, Termitidae e Serritermitidae (Gallo et al., 2002), entre as quais apenas Kalotermitidae, Rhinotermitidae e Termitidae são economicamente importantes.

Os cupins podem ser considerados insetos benéficos, pois atuam na decomposição da matéria orgânica e colaboram na ciclagem dos nutrientes e na aeração do solo. Entretanto, também podem se destacar como pragas de espécies florestais e algumas culturas, como milho, cana-de-açúcar, arroz, mandioca e pastagens, entre outras. Esses cupins são, principalmente, dos gêneros *Syntermes* e *Cornitermes* (Família Termitidae).

No Brasil, ocorrem diferentes espécies de cupins em pastagens. Além de *Cornitermes cumulans* (Kollar, 1832), são citados *Cornitermes ovatus*, que ocorre principalmente na região norte e parte do nordeste, *Cornitermes synderi*, que tem sua maior distribuição nos estados de Minas Gerais, Goiás, Tocantins e Mato Grosso e *Cornitermes bequaerti*, que se caracteriza por construir ninhos com aberturas tipo chaminé, ocorrendo no estado do Mato Grosso (Valério, 1995). Outro gênero, *Syntermes*, também pode ser citado ocorrendo em pastagens, onde seus ninhos são totalmente subterrâneos, podendo atingir

profundidades de 3 a 4 m ou afloram à superfície sob a forma de montes de pouca altura (até 80 cm), mas largos (até 2 metros de diâmetro) (Fontes, 1998).

Entretanto, o cupim de montículo *C. cumulans* é um dos mais comuns, podendo também provocar diversos danos em culturas, embora seus danos sejam pouco estudados. Seus ninhos diminuem a área útil das pastagens e dificultam os tratamentos culturais mecanizados. Também, a ocorrência de cupins de montículo tem sido associada a uma maior degradação das pastagens (Valério, 1995).

De maneira geral, o controle dos cupins é feito por meio de inseticidas químicos, como imidaclopride e fipronil, que são registrados para tal controle. Porém, estudos sobre a utilização do controle cultural e biológico vêm sendo desenvolvidos para alguns gêneros de cupins.

Muitos trabalhos foram realizados com fungos entomopatogênicos, principalmente *Beauveria bassiana* e *Metarhizium anisopliae* obtendo-se resultados satisfatórios. Ainda dentro do contexto de controle biológico, podem-se citar os nematóides entomopatogênicos que, embora pouco estudados para o controle de cupins, também possuem bom potencial de controle. Os gêneros que apresentam maior perspectiva para esse controle são *Steinernema* e *Heterorhabditis*, pois possuem alta virulência, fácil reprodução e produção, grande número de hospedeiros e, além disso, uma relação simbiótica com bactérias que matam rapidamente os insetos, entre 24 e 48 horas.

Assim, este trabalho teve como objetivo selecionar isolados de nematóides entomopatogênicos dos gêneros *Steinernema* e *Heterorhabditis*, visando o controle de *C. cumulans*.

2 REFERENCIAL TEÓRICO

2.1 Caracterização, importância e controle dos cupins

Os cupins são insetos sociais, pois estão sempre reunidos em ninhos, que são chamados de cupinzeiros ou termiteiros. Os cupinzeiros podem ser subterrâneos ou epígeos (montículo) e as colônias dos cupins apresentam castas reprodutoras (sexuados alados ou ápteros) e não reprodutoras (operários e soldados).

De acordo com Almeida & Alves (1999), é possível encontrar cupins em praticamente todo o planeta, com exceção das áreas com temperaturas constantes abaixo de 5°C.

Os cupins têm grande importância ecológica, pois, na natureza possuem o papel de decompositores de matéria orgânica, colaborando, assim, na ciclagem dos nutrientes e na aeração do solo. Porém, Almeida & Alves (1999) citam os cupins como pragas, principalmente em áreas urbanas e em algumas culturas, tais como cana-de-açúcar, citros, eucalipto, milho, arroz, pupunha e pastagens.

Os cupins de montículo, pertencentes à espécie *Cornitermes cumulans*, são insetos que comumente infestam as pastagens. Vivem em ninhos que apresentam uma porção visível na superfície do solo, os chamados cupinzeiros. Esses insetos predominam em áreas menos sujeitas à mecanização, ocupando espaço na cultura e, assim, dificultando os tratamentos culturais e o manejo.

Sanchez et al. (1989), estudando a estrutura e o sistema de aeração dos ninhos, observaram que a parte epígea (montículo) é constituída por uma camada mais externa de terra, cimentada com saliva, originando uma estrutura bastante rígida, seguida por uma região com galerias finas e pelo núcleo ou região cartonada, de constituição celulósica formada de terra, matéria orgânica e saliva. Esta área central, facilmente quebrada, é formada por galerias irregulares

com paredes foliadas. Todo o interior do ninho é coberto por uma substância escura secretada pelos cupins. Além disso, ainda existem galerias que ficam na parte subterrânea do montículo e comunicam-se com o meio externo, provavelmente para que ocorra a aeração do ninho.

Cada colônia é dividida em castas, ou seja, grupos de indivíduos com características e funções diferentes. Toda casta possui o casal real, os soldados e o grupo dos operários. São insetos que têm hábitos crípticos, sendo, portanto, fototrópicos negativos. A maioria das formas é cega e os sentidos de gustação, olfato e tato são percebidos pelas antenas e por numerosos poros e pêlos sensoriais que existem em toda superfície do corpo. Eles também são sensíveis às vibrações e, principalmente, às condições de umidade que, no interior dos ninhos, é mantida próxima ao ponto de saturação (Berti Filho et al., 1993).

Quanto aos danos causados pelo cupim de montículo em relação às pastagens, ainda há muita controvérsia. Fernandes et al. (1998) e Zanetti et al. (2002) referem-se a esses cupins também como “pragas estéticas”.

Segundo a EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA (EMBRAPA – CNPGC, 1996), como qualquer outro inseto, os cupins de montículo também podem sofrer a ação de inimigos naturais, como pássaros, roedores, lagartos, aranhas e formigas, quando expostos à superfície. Tatus e tamanduás também atuam sobre os cupinzeiros, escavando-os, sendo os tatus mais eficientes.

A seguir serão apresentados alguns métodos de controle para cupins em áreas agroflorestais. Esse controle pode ser feito por medidas culturais, químicas, biológicas e também pelo controle associado.

2.1.1 Controle cultural

Para o controle de cupins em áreas agrofloretais (segundo a UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ, 2005), o cupim de montículo pode ser combatido com:

- aração e gradagem: a preparação anual das áreas para o cultivo agrícola impede o surgimento de montículos, que surgem apenas onde a máquina não consegue entrar;
- arrancamento do monte ou sua quebra: atividade árdua, que apresenta poucos resultados, pois o tombamento e a divisão dos ninhos não impedem a reorganização da colônia e, muitas vezes, podem aumentar a infestação, pois, dependendo da espécie, a fragmentação pode originar novos ninhos;
- uso de tratores: processo muito caro e só tem eficiência quando os montes são arrancados e fragmentados.

Outra maneira de se combater os cupins de montículo é utilizando-se a broca cupinzeira. Valério et al. (1998) utilizaram essa broca como forma de controle mecânico e obtiveram uma mortalidade, de aproximadamente, 100% dos cupins. Esse controle também pode estar associado ao controle químico. Em pastagens, a principal medida de controle cultural, segundo Fernandes et al. (1998), é a renovação criteriosa das pastagens, feita com análise e correção do solo, adubação correta, sementes de boa qualidade e preparo de solo profundo e uniforme. Zanetti (2002) também cita a adubação e a época de plantio como táticas de controle cultural, pois, plantas bem nutridas e com acelerado desenvolvimento apresentam maior resistência ao ataque de cupins.

2.1.2 Controle químico

O controle de cupins no Brasil vem sendo feito quase que exclusivamente com inseticidas químicos. Até 1985, a aplicação de inseticidas clorados era comum, porém, a Portaria 328 do Ministério da Agricultura, de 2 de

setembro de 1985, proibiu o uso desse tipo de inseticida, fazendo-se necessário o estudo de novas moléculas de inseticidas ou outras alternativas. A partir dessa data, iniciou-se uma busca mais acelerada de novos inseticidas que pudessem substituir os clorados com a mesma eficiência e custo (Almeida et al., 2003). Até 1994, somente fosfeto de alumínio possuía registro para o controle de cupins. A partir de 1995, surgiram dois novos inseticidas: fipronil e imidaclopride (Fernandes et al., 1998).

Muitas pesquisas foram desenvolvidas utilizando-se o controle químico para cupins de vários gêneros, entre eles *Syntermes* sp. e *Cornitermes* sp. Além de fipronil e imidaclopride, alguns produtos, como endosulfan, dissulfoton + triadimenol, carbosulfan, entre outros, também foram testados para o controle de cupins.

As espécies dos gêneros *Syntermes* e *Nasutitermes* têm causado grandes danos aos canaviais de Pernambuco e do Nordeste. Sena et al. (2000/2001) procuraram estudar uma nova perspectiva para o controle químico desses cupins e testaram os produtos fipronil e endosulfan. Os parâmetros avaliados foram: brotação, perfilhação, altura de plantas, infestação (% de cupins nas plantas) e nível de infestação (amostragem/nota: muito alto, alto, médio e baixo), além da produtividade. Para a brotação, endosulfan promoveu o melhor resultado e, para a perfilhação, infestação e nível de infestação, fipronil foi melhor. Em relação à altura de plantas, todos os tratamentos foram superiores à testemunha. Os resultados para produtividade não foram significativos, porém, esses autores relataram um aumento de 5t/hora quando se utilizou o produto fipronil.

Embora os produtos clorados tenham sido proibidos em 1985, alguns autores, no final da década de 1980 e na década de 1990, ainda utilizaram produtos como dodecacloro e aldrin em seus trabalhos, como forma padrão de comparação, já que não se conhecia a eficiência dos novos produtos.

Valério et al. (1998) estudaram o controle químico para cupins dos gêneros *Syntermes* e *Cornitermes* em pastagens. Os maiores percentuais de mortalidade foram conseguidos com dodecacloro, abamectina e fipronil. Deltametrina e iscas formicidas à base de sulfluramida e clorpirifós não foram eficientes, causando mortalidade de apenas 10%. Fipronil foi altamente eficiente no controle de cupins do gênero *Cornitermes*, porém, para *Syntermes*, a mortalidade foi de, apenas, 50%.

Mariconi et al. (1996) estudaram o controle de cupins do gênero *Cornitermes* em pastagens com formulações líquidas de clorpirifós e endossulfan. Estes autores constataram que a mortalidade para todos os tratamentos variou de 80% a 100%, portanto, tanto clorpirifós quanto endossulfan foram eficientes para o controle de cupins, independentemente das dosagens ou dos prazos para a destruição dos ninhos.

Buainain-Alves et al. (1993) estudaram a eficiência de inseticidas no controle do cupim de montículo, *C. cumulans* em pastagens. Foram 16 tratamentos, entre eles dodecacloro 20g e 40g, carbaril e o fosfeto de alumínio, que foram aplicados com o orifício aberto e fechado. O experimento foi conduzido no campo e avaliado aos 30 dias da aplicação dos inseticidas. Os melhores resultados foram obtidos com dodecacloro 20 e 40g/cupinzeiro, causando mortalidade de 100% dos indivíduos, carbaril PM 5g/litro de água/cupinzeiro, cuja mortalidade foi de 90% e fosfeto de alumínio (10 comprimidos de 0,6g/cupinzeiro), com o orifício fechado causando mortalidade de 80% dos insetos.

Fadini et al. (2001) estudaram o efeito da profundidade de aplicação e da distribuição de imidaclopride (Confidor[®]) na formulação líquida para o controle de cupins de montículo em pastagens. Na etapa I, foram selecionados 30 ninhos de cupins de montículo com tamanhos semelhantes, tratados com imidaclopride com aplicador de tubo curto. Na etapa II, os tratamentos e

observações foram realizadas como na etapa I, porém, utilizou-se o aplicador de cano longo. As observações realizadas para a etapa I até 54 dias após o tratamento mostram que, após esse período, 78,26% das colônias estavam mortas. Para a etapa II, as observações foram realizadas até 15 dias após a aplicação e a mortalidade observada após esse período foi de 96,16%. Os resultados mostraram que o aplicador de tubo longo e perfurado apresentou maior eficiência no controle de cupins de montículo em pastagens.

Vários trabalhos também foram realizados para eucalipto, já que os cupins podem causar danos à cultura. No caso de florestamento e reflorestamento, a utilização de alguns produtos clorados ainda foi permitida por mais algum tempo. Dessa forma, Papa & Haro (1991) estudaram o efeito de uma formulação especial de inseticida granulado sobre o controle de cupins *Cornitermes* sp. no plantio de eucalipto. Os tratamentos foram carbosulfan e aldrin. As avaliações foram realizadas até 185 dias após o tratamento, anotando-se o total de plantas mortas por parcela, devido ao ataque de cupins. Os resultados obtidos mostraram que o inseticida carbosulfan foi satisfatório para o controle de cupins no plantio de eucalipto e também proporcionou melhor desenvolvimento das plantas em todas as doses testadas.

Wilcken (1992) avaliou os danos de cupins subterrâneos *Cornitermes* sp. em plantios de eucalipto e o controle com formulações de inseticidas para aplicação no solo. Os tratamentos foram teflutrina, fonofós e testemunha. As avaliações foram realizadas até 169 dias após a aplicação. Aos 34 dias após a aplicação, houve diferença entre os tratamentos e a testemunha, tendo teflutrina e fonofós mostrado um controle semelhante ao aldrin. Nas demais avaliações, os resultados se mantiveram. As parcelas tratadas com teflutrina resultaram em uma eficiência de controle de 100%. O produto fonofós também foi eficiente no controle dos cupins subterrâneos *Cornitermes* sp., sendo comparável ao controle proporcionado pelo aldrin. O período de maior susceptibilidade de *Eucalyptus*

grandis ao ataque de cupins subterrâneos foi observado entre 34 e 76 dias após o plantio.

Resende et al. (1995) estudaram o efeito dos produtos carbosulfan e aldrin na proteção de mudas de *Eucalyptus camaldulensis* contra cupins subterrâneos. Os parâmetros avaliados foram: % de plantas mortas, altura (cm) e diâmetro a 40 cm do coleto. Os tratamentos foram com aldrin, carbosulfan e um tratamento controle sem inseticida. Não ocorreu mortalidade das plantas no tratamento com 7,5g/cova de carbosulfan, ao contrário dos demais tratamentos que não apresentaram diferença entre si, porém, ainda assim, a mortalidade nos tratamentos foi menor que na testemunha. O diâmetro das plantas não apresentou diferença entre os tratamentos, ao contrário da altura média das plantas, que nos tratamentos com 10g/cova e 7,5g/cova de carbosulfan, foi significativamente superior à da testemunha.

Wilcken & Raetano (1995) estudaram a eficiência do inseticida fipronil no controle de cupins subterrâneos em eucalipto. Os tratamentos foram fipronil (WDG), aldrin (P) e testemunha. A avaliação foi realizada até 145 dias do plantio. O produto fipronil foi eficiente no controle de cupins (90% a 100%), independente da dosagem, formulação e forma de aplicação, durante o período de avaliação. Esses resultados foram comparáveis aos do aldrin em polvilhamento (80% a 100%). Também Wilcken & Raetano (1997) estudaram a eficiência da bifentrina no controle de cupins subterrâneos em plantios de eucalipto. Os resultados mostraram que bifentrina foi eficiente no controle de cupins, quando aplicado em imersão de mudas a 0,1% e em pulverização em cobertura a 0,4% de i.a./planta (80% de controle), durante todo período de avaliação. Estes resultados foram comparáveis ao fipronil em imersão de mudas e superiores ao heptacloro (40%).

Raetano et al. (1997) estudaram o controle de cupins dos gêneros *Heterotermes* e *Cornitermes* em florestas de eucalipto utilizando o inseticida

fipronil (Regent 20G) aplicado em cobertura. Os tratamentos envolveram dois inseticidas: fipronil e aldrin. As avaliações foram realizadas após 48, 88, 126, 246, 312 e 365 dias após a aplicação e em todas elas, as maiores eficiências de controle foram obtidas com as dosagens de 5,0 e 7,5 g de Regent 20G/planta até um ano após a aplicação. Já aldrin e fipronil a 10 e 2,5g/planta, respectivamente, mostraram menor eficiência para o controle dos cupins.

Alves et al. (1995) estudaram o controle de cupins subterrâneos em plantios de eucalipto com imidaclopride, dissulfoton + triadimenol e aldrin. Os produtos que mostraram-se eficientes no controle de *Syntermes molestus* e *Cornitermes bequaerti* foram fipronil e dissulfoton + triadimenol (100% de controle para ambos), aldrin 87,5% e imidaclopride que, aplicado em pulverização no colo da planta, na dosagem de 0,105 g i.a./planta, causou mortalidade de 94%.

2.1.3 Controle biológico com entomopatógenos

Controle biológico é a utilização de organismos vivos para o combate de pragas. Entre os agentes de controle biológico existem os microrganismos entomopatogênicos, como os vírus, fungos, bactérias, protozoários e nematóides que infectam as pragas, causando-lhes doenças e morte, e também organismos mais complexos, como predadores e parasitoides, conhecidos como inimigos naturais.

Para o controle de cupins, alguns trabalhos realizados com bactérias, fungos e nematóides podem ser citados.

2.1.3.1 Bactérias e fungos entomopatogênicos

Um trabalho realizado por Castilhos-Fortes et al. (2002) mostra a susceptibilidade de *Nasutitermes ehrhardti* a subespécies de *Bacillus thuringiensis*. Foram testadas 55 cepas do patógeno em condições controladas,

em que sete foram consideradas patogênicas, tendo *B. thuringiensis huazhongiensis*, *B. thuringiensis brasiliensis*, *B. thuringiensis colmeri*, *B. thuringiensis kurstaki* e *B. thuringiensis vunnanensi*, provocado mortalidade inferior a 72% em isópteros. Os isolados *B. thuringiensis sooncheon* e *B. thuringiensis roskildiensis* causaram 100% de mortalidade ao sétimo dia após a aplicação das bactérias. As CL_{50} para *B. thuringiensis sooncheon* corresponderam a 47×10^8 ; $66,2 \times 10^6$ e $5,1 \times 10^5$ células/ml, aos 3, 5 e 7 dias, respectivamente. Para *B. thuringiensis roskildiensis*, a CL_{50} foi de $30,8 \times 10^5$, $48,4 \times 10^6$ e $16,8 \times 10^4$ células/ml, aos 3, 5 e 7 dias, respectivamente. Esses dados mostram que duas subespécies de bactérias foram bastante virulentas no controle de cupins e devem ser mais estudadas para o controle de pragas.

Em relação aos fungos entomopatogênicos, alguns trabalhos podem ser citados, como o de Fernandes (1991), que avaliou o controle microbiano de *C. cumulans* utilizando *Beauveria bassiana* e *Metarhizium anisopliae*. Foram testados cinco isolados de *B. bassiana* e quatro de *M. anisopliae*. Os isolados selecionados foram 868 de *B. bassiana* e o 865 de *M. anisopliae*. No campo, o autor constatou que a dose de 2g de conídios de *B. bassiana* por cupinzeiro foi mais eficiente, eliminando 98% dos cupins aos 30 dias e 100% aos 60 dias da aplicação. Para o isolado de *M. anisopliae*, a concentração utilizada foi de 8g de conídios por cupinzeiro e a mortalidade foi de 80%, aos 30 dias e 100%, aos 60 dias da aplicação.

Fernandes & Alves (1992) selecionaram isolados de *B. bassiana* e *M. anisopliae* para o controle de *C. cumulans*. Foram testados quatro isolados de *M. anisopliae* e cinco isolados de *B. bassiana*. Os cinco isolados mais virulentos foram novamente comparados, porém, os cupins mortos foram retirados diariamente e colocados em câmara úmida para observação dos níveis de conidiogênese sobre os cadáveres. Também foi realizado um teste de campo com os melhores isolados. Observou-se que os isolados de *M. anisopliae* 865 e

866 provocaram quase 100% de mortalidade em menos de 48 horas. Com relação à conidiogênese dos fungos sobre os cadáveres, os isolados de *M. anisopliae* foram superiores aos de *B. bassiana*. No campo, quando aplicaram-se 5g de conídios puros/colônia, a mortalidade foi de 100% em dez dias e a conidiogênese também foi alta dentro do cupinzeiro.

Neves & Alves (2004) observaram os eventos externos relacionados ao processo de infecção de operários e soldados de *C. cumulans* pelos fungos entomopatogênicos *B. bassiana* e *M. anisopliae* e compararam duas técnicas de fixação de insetos: secagem até o ponto crítico e desidratação com dissecador. A germinação ocorreu em várias regiões do corpo dos insetos principalmente entre 6 horas e 12 horas após inoculação, a penetração ocorreu após 12 horas e 24 horas. A colonização ocorreu entre 24 horas e 72 horas, tendo a maioria dos insetos (> 80%) morrido entre 48 horas e 72 horas após inoculação para *B. bassiana* e entre 72 horas e 96 horas para *M. anisopliae*. A secagem até ponto crítico foi a técnica de fixação que melhor preservou as estruturas do patógeno e dos insetos.

Outro trabalho que também mostra o desenvolvimento dos fungos entomopatogênicos *B. bassiana* e *M. anisopliae* em cupins, porém do gênero *Heterotermes*, é o de Moino Jr. et al. (2002), que descreveram o desenvolvimento destes fungos sobre *H. tenuis* por meio da microscopia eletrônica de varredura (MEV), determinando a duração das fases de infecção fúngica. Estes autores como Neves & Alves (2004), também avaliaram duas técnicas de fixação para o preparo de amostras. Os insetos foram coletados 0, 6, 12, 24, 48, 72, 96, 120 e 144 horas após a inoculação e preparados por duas técnicas de fixação (tetróxido de ósmio (OsO₄) e tampão de glutaraldeído e sódio-cacodilato). *B. bassiana* e *M. anisopliae* têm ciclos semelhantes, porém, as fases de penetração, colonização e conidiogênese são relativamente mais rápidas para *M. anisopliae* que para *B. bassiana*, o que resulta em uma taxa mais rápida

de mortalidade para os cupins *Heterotermes tenuis*. O trabalho de Neves & Alves (2004) mostra o contrário para *C. cumulans*. A técnica de fixação com vapor de OsO₄ foi satisfatória para a preparação de insetos para observação do desenvolvimento de fungos entomopatogênicos em MEV.

Milner et al. (1998) trabalharam com 93 isolados de *M. anisopliae*, para o controle de cupins na Austrália, dos gêneros *Nasutitermes* e *Coptotermes*, observando que 76 isolados foram efetivos no controle dos cupins. Todos os isolados foram patogênicos no bioensaio contra *Coptotermes acinaciformis*, sendo esse mais susceptível que *Nasutitermes exitiosus*. Nove isolados desse grupo foram selecionados, observando-se, além da alta patogenicidade, a resistência a temperaturas mais elevadas, a taxa de esporulação e a estabilidade da colônia, entre outros, para um experimento com *Coptotermes* sp. Os cupins foram divididos em duas colônias, sendo essas coletadas ao mesmo tempo. Nesse bioensaio, após quatro semanas, o controle foi de 75% para as duas colônias. Entretanto, todos os isolados testados foram mais efetivos para a colônia A comparada à colônia B. O isolado FI-610 foi um dos mais efetivos contra os cupins das duas colônias e se multiplicou relativamente bem em ágar a 36°C. Esse isolado foi testado no campo e foi efetivo para o controle de *C. acinaciformis*, quando 10g (3×10^{11} conídios) ou mais foram colocados no centro das colônias.

2.1.3.2 Nematóides entomopatogênicos

O uso de nematóides entomopatogênicos (NEPs) para o controle de pragas vem sendo preconizado como uma das alternativas mais promissoras, principalmente no caso de pragas subterrâneas.

Os nematóides são vermes não segmentados, pertencentes ao filo Nematoda. Atualmente, são encontradas mais de 30 famílias associadas a insetos, incluindo aqueles nematóides que utilizam plantas como hospedeiros e

animais como vetores, estabelecendo, assim, diferentes associações com os insetos, desde foréticas a parasíticas, como é o caso dos nematóides entomopatogênicos.

Os NEPs vêm adquirindo grande importância no controle biológico de pragas como agentes microbianos. Sua introdução, junto com outros inimigos naturais, constitui uma ferramenta efetiva em programas de manejo integrado de pragas (MIP).

Segundo Ferraz (1998), a grande importância atribuída aos gêneros *Steinernema* e *Heterorhabditis* deve-se à associação mutualística incomum que estabelecem com bactérias do gênero *Xenorhabdus*, resultando na morte rápida dos insetos parasitados. Nessa associação, os nematóides contribuem oferecendo proteção às bactérias e atuando como vetores das mesmas, de um inseto parasitado a outro sadio. A bactéria contribui com a provisão nutricional para os nematóides. Isso ocorre porque, após a infecção do inseto pela bactéria, o cadáver fica tomado por uma "sopa bacteriana", meio rico em nutrientes constituído pela bactéria e por tecidos já desorganizados, de fácil assimilação pelos nematóides.

Também Ferraz (1998) destaca algumas vantagens do uso de nematóides no controle de insetos, tais como:

- a) resistência a produtos fitossanitários, favorecendo o controle integrado;
- b) ação sinérgica com outros agentes de controle biológico (por exemplo, *Bacillus thuringiensis*);
- c) boa capacidade de adaptação a novos ambientes;
- d) capacidade de difusão pelo ambiente, com bom comportamento de busca do hospedeiro;
- e) alta especificidade a insetos.

Por outro lado, o mesmo autor ressalta algumas limitações para o pouco uso atual de NEPs no controle de pragas, como algumas dificuldades na criação

massal, condições ambientais desfavoráveis e existência de alguns mecanismos de defesa de insetos contra os nematóides, entre outras.

O comportamento de busca dos nematóides pode ser de duas maneiras: “cruiser” ou “ambusher”. Os nematóides “cruiser” são aqueles que se deslocam até o seu hospedeiro, como é o caso de *Steinernema carpocapsae*, que tem grande mobilidade e grande espectro de hospedeiros. Esses nematóides procuram pelos seus hospedeiros próximo à superfície do solo. Os nematóides “ambusher” são aqueles que esperam pelos seus hospedeiros, como é o caso de *Heterorhabditis bacteriophora* e *Steinernema glaseri*. Esses nematóides são adaptados a procurar em profundidades maiores.

Alguns trabalhos mostram a eficiência dos nematóides em relação ao seu deslocamento. Wennemann et al. (2004) estudaram a movimentação vertical dos nematóides *S. carpocapsae* e *S. glaseri* em solos com plantação de morangos. Nesse experimento, foi possível observar que o nematóide *S. glaseri* se deslocou mais que o nematóide *S. carpocapsae* até 12 cm de profundidade. Stuart et al. (1997) estudaram o deslocamento dos nematóides para cochonilhas, utilizando a areia como meio de deslocamento dos nematóides. Foram utilizadas duas concentrações (100 e 500 JI/cochonilha) e dois nematóides sendo *H. bacteriophora* e *Heterorhabditis indica*. Tanto na concentração de 100 JI como na de 500 JI, *H. indica* foi mais eficiente, porém, todos os tratamentos diferiram da testemunha.

Outro trabalho de deslocamento foi o de Molina & López (2002) em experimento para avaliar o deslocamento horizontal dos nematóides até a broca do café dentro dos frutos. Foi utilizada uma câmara plástica, na qual de um lado, ficaram os frutos com a broca e, do outro, foram aplicados os nematóides. Os nematóides utilizados foram *Steinernema feltiae* e *H. bacteriophora*. Mais uma vez ficou provada a eficiência dos nematóides, sendo que, para esse experimento, *S. feltiae* foi mais eficiente que *H. bacteriophora*.

Muitas pragas de solo têm difícil controle usando inseticidas, porém, em países como os Estados Unidos, essas pragas estão sendo combatidas com NEPs. No Brasil, importantes pragas, como *Cosmopolites sordidus* (Coleoptera), *Hypothenemus hampei* (Coleoptera), *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera), *Agrotis ipsilon* (Lepidoptera), *Diabrotica* spp. (Coleoptera) e mosca das frutas (Diptera: Tephritidae), são suscetíveis aos NEPs, tanto do gênero *Heterorhabditis* como do *Steinernema*, o que possibilita mais estudos com relação ao uso desses NEPs para o controle de pragas (Grewal et al., 2001).

Para controle de cupins, alguns trabalhos foram realizados, porém, nenhum deles com os cupins do gênero *Cornitermes*.

Martius (1998) relata algumas perspectivas de controle para cupins com a utilização de NEPs. Segundo este autor, alguns trabalhos realizados em laboratório mostram uma grande mortalidade de cupins após entrarem em contato com os nematóides. Laumond et al. (1979) estudaram 128 espécies de insetos, entre elas *Nasutitermes exitiosus* como hospedeiros de *S. carpocapsae*. Ocorreu uma mortalidade de 100% dos insetos aos 3 dias, quando esses entraram em contato com os nematóides a uma concentração de 6.000 Juvenis infectivos (JI)/cupim.

Dantharanavana & Vitarana (1987) estudaram a infecção de *Glyptotermes dilatatus*, importante praga do chá no Sri Lanka, por *Heterorhabditis* sp. aplicado no campo nas concentrações de 4.000 a 8.000 nematóides/mL, causando completa mortalidade dos insetos após dois ou três meses da aplicação.

Nguyen & Smart Jr. (1994) descreveram *Neosteinerema longicurvicauda*, uma nova espécie de nematóide entomopatogênico isolado de *Reticulitermes flavipes*, sendo essa a única espécie descrita do gênero *Neosteinerema*.

Wang et al. (2002) estudaram a infectividade de quatro nematóides entomopatogênicos para o controle de cupins. Os nematóides utilizados foram: *S. carpocapsae*, *Steinernema riobravis*, *H. bacteriophora* e *H. indica*. Em um primeiro teste de laboratório, todos os nematóides foram testados nas concentrações de 0, 400, 1.200 e 2.000 JI/cupim para o controle de *Reticulitermes flavipes* e 0, 400, 2.000 e 5.000 JI/cupim para *Coptotermes formosanus*. A sobrevivência dos cupins foi avaliada aos 2, 4, 8 e 15 dias. Nenhum nematóide matou *R. flavipes* antes de oito dias; após esse período, houve uma variação de acordo com a espécie de nematóide utilizada. *S. riobravis* não foi eficiente para esse controle; já *S. carpocapsae* foi efetivo nas concentrações maiores ou iguais que 1.200 JI/cupim. As espécies *H. bacteriophora* e *H. indica* foram eficientes em todas as concentrações para *R. flavipes*, porém, *H. indica* foi a que mais se destacou das demais, causando uma maior mortalidade em *R. flavipes*. Comparando-se *H. bacteriophora* e *H. indica* nas concentrações de 1.200 e 2.000 JI/cupim, ainda assim *H. indica* foi melhor. Para *C. formosanus*, os resultados foram semelhantes, porém, todos os nematóides mataram os cupins após oito dias, na concentração de 400 JI/cupim. *H. indica* também se destacou das demais, causando uma maior mortalidade para *C. formosanus*, seguido de *H. bacteriophora*, *S. carpocapsae* e *S. riobravis*.

Outro trabalho visando ao controle de cupins do gênero *Syntermes* utilizando nematóides foi realizado por Moino Jr & Alves (2004). Foi avaliado o efeito de *Steinernema anomali*, *S. riobravis*, *S. carpocapsae*, *Heterorhabditis* sp e *H. bacteriophora* sobre operários de *Syntermes* sp, nas concentrações de 25, 50, 100, 500 e 1.000 JI/placa. A espécie *S. riobravis* na concentração de 1.000 JI/placa foi o tratamento que causou maior mortalidade nos operários de *Syntermes* sp.

2.1.4 Controle associado

O controle associado de cupins é aquele em que se utilizam dois tipos de controle ao mesmo tempo, podendo ser o controle químico e o biológico.

Neves & Alves (1999) estudaram o controle associado de *C. cumulans* com *M. anisopliae*, *B. bassiana* e imidaclopride. Foram realizados experimentos de campo para a determinação das concentrações mínimas de conídios e de imidaclopride que, quando aplicados em associação, controlavam os ninhos de cupins, mas, quando aplicados separadamente, não eram eficientes. Foram realizados quatro experimentos sendo que no primeiro utilizaram-se conídios de *M. anisopliae* (isolado 1037), misturados ou não com os inseticidas. No segundo e terceiro experimentos, somente foram utilizados imidaclopride e os conídios de *M. anisopliae*. No quarto experimento, foi testada a mistura de imidaclopride com conídios de *M. anisopliae* e *B. bassiana*. Foi possível diminuir a concentração dos conídios em até oito vezes e a concentração do inseticida em até 157 vezes em relação às concentrações recomendadas. A mortalidade dos ninhos grandes foi maior que 80%.

Almeida & Alves (2000) estudaram o controle de *Heterotermes tenuis* e *C. cumulans* com o inseticida fipronil associado ao fungo entomopatogênico *B. bassiana* em isca atrativa na cultura de cana-de-açúcar. Foram instaladas 407 iscas de monitoramento para a localização dos focos dos cupins. As avaliações foram realizadas aos 30, 60 e 90 dias após a instalação das iscas. Para *C. cumulans*, os tratamentos, em geral, causaram uma diminuição da população, porém, foi mais significativa aos 90 dias com fipronil 0,01%. Para *H. tenuis*, as médias das notas da testemunha aos 30, 60 e 90 dias foram maiores que os tratamentos. Quando se utilizou a espécie *B. bassiana*, houve um decréscimo dos 30 para os 60 dias e um pequeno aumento aos 90 dias. Nos tratamentos fipronil 0,001% e 0,01% ocorreu apenas uma pequena população aos 60 dias. Após 90 dias, ocorreu a eliminação total da colônia quando utilizou-se fipronil

0,003%. A média das notas nas três avaliações foi zero quando se utilizou fipronil 0,003% + *B. bassiana*.

Neves & Alves (2000) estudaram a inibição da capacidade de limpeza em *C. cumulans* inoculados com *B. bassiana* e *M. anisopliae* e tratados com imidaclopride. As concentrações de imidaclopride usadas foram: 0; 0,1; 1; 10; 100 e 1000 ppm de ingrediente ativo. As avaliações foram feitas por meio de microscópio eletrônico de varredura as 6, 12, 24, 48 e 72 horas após o contato com o inseticida e foram atribuídas notas de acordo com a movimentação dos cupins. Nesse estudo, os autores puderam notar que os soldados e operários de cupins possuem uma alta capacidade de limpeza, impedindo que os conídios penetrem na cutícula dos insetos nas primeiras horas da aplicação. Porém, quando utilizaram-se doses subletais do inseticida, esse comportamento de limpeza era inibido, permitindo, assim, que os fungos pudessem penetrar e germinar, provocando a infecção do inseto.

Com relação ao uso do controle associado de nematóides entomopatogênicos com produtos químicos, nada foi feito para cupins do gênero *Cornitermes*. Porém, Carvalho (2003) avaliou a compatibilidade de fungos e NEPs com produtos fitossanitários utilizados na cultura do cafeeiro. Foram avaliadas a infectividade e a viabilidade do nematóide *S. carpocapsae*, tendo os herbicidas 2,4 D, acetoclor e oxifluorfen diminuído a viabilidade do nematóide e os herbicidas azafenidina, simazina + ametrina, 2,4 D, acetoclor e oxifluorfen reduziram a infectividade de *S. carpocapsae* a larvas de *Galleria mellonella*.

Negrison Junior (2005) também avaliou a compatibilidade de produtos fitossanitários com NEPs, utilizando a metodologia modificada de Vainio (1992). Foram testados 18 produtos, dentre eles inseticidas, nematicidas, acaricidas e herbicidas. Os nematóides utilizados foram *H. bacteriophora* e *S. carpocapsae*. Avaliaram-se a infectividade e a viabilidade dos nematóides em lagartas de *Galleria mellonella*. Os produtos thiophanate metil, tiametoxan e

imidaclopride diminuíram a viabilidade e a infectividade de *S. carpocapsae*. Tiametoxan, aldicarbe e carbofuran diminuíram a viabilidade de *H. bacteriophora*. Os demais produtos foram compatíveis com *S. carpocapsae* e *H. bacteriophora*.

Esses trabalhos evidenciam a possibilidade do uso conjunto de NEPs e produtos fitossanitários compatíveis, visando ao controle de pragas, inclusive cupins.

3 MATERIAL E MÉTODOS

O presente trabalho foi realizado no Laboratório de Patologia de Insetos do Departamento de Entomologia da Universidade Federal de Lavras (UFLA).

3.1 Coleta e manutenção dos cupins

As coletas dos cupins foram realizadas no campus da Universidade Federal de Lavras. Para a coleta, foram selecionados cupinzeiros pequenos (aproximadamente 40 cm de altura). Os cupinzeiros foram quebrados, na sua parte superior, até que a movimentação dos cupins fosse observada. Após essa verificação, os cupinzeiros foram, então, “soltos” do solo, com o auxílio de uma picareta e, logo após, tombados. Pequenos fragmentos dos cupinzeiros foram retirados e, com a ajuda de uma peneira, foram batidos dentro de um balde, evitando-se que a terra do cupinzeiro caísse junto com os cupins. Já no laboratório, foi utilizada uma bandeja branca, grande, com uma de suas partes pintadas de preto no fundo. Dentro dessa bandeja havia um suporte de madeira dos dois lados. Esse suporte foi utilizado para que se colocasse um pedaço de madeira separando as duas partes da bandeja. Entre a madeira e o fundo da bandeja foi colocada uma placa de Petri virada para permitir que os cupins passassem para o outro lado. Do lado onde a bandeja foi pintada e sobre a qual havia o suporte, também foi colocado um tecido tipo blecaute, para que um dos lados ficasse escuro. A terra com os cupins foi, então, despejada do lado mais claro da bandeja, evitando-se que ficasse muito perto das laterais. Ainda para ajudar na migração mais rápida dos cupins do lado claro para o escuro da bandeja, foi utilizada uma luminária em cima dos cupins, pois, como eles são fototrópicos negativos, fogem da luz e vão para a parte mais escura da bandeja. Quando os cupins já haviam migrado o suficiente, eles foram coletados, com o

auxílio de uma colher e colocados nas placas de plástico, furadas, com algodão umedecido e com um pedaço de dieta artificial. Foram colocados aproximadamente 50 operários/placa e mantidos em câmara BOD a uma temperatura de $21 \pm 1^\circ\text{C}$ (temperatura próxima à média encontrada no interior dos cupinzeiros) (Parra et al., 1974), totalmente no escuro (Figura 1). No dia seguinte, os cupins que estavam mortos foram retirados juntamente com os soldados e ninfas que caíram nas placas. Em cada placa, foram deixados apenas 30 operários de cupins para que se realizassem os experimentos. As dietas das placas foram trocadas a cada dois dias.



FIGURA 1. Metodologia para coleta e montagem dos experimentos.

A dieta utilizada para a manutenção dos cupins nas placas era à base de cana-de-açúcar, seguindo as orientações de Santos (2005)¹ (dados não publicados) em que para cada 100 mL de água destilada, foram utilizados 0,1g

¹ Alexandre dos Santos – Universidade Federal de Lavras (UFLA) – Lavras/MG

de caseína, 4g de glicose, 1,5g de agar, 10g de bagaço de cana moído, 0,05g de colesterol e 0,2g de sacarose. Todos os ingredientes foram misturados em um Erlenmeyer e autoclavados por 20 minutos. Logo após, a dieta foi vertida em placas de Petri de 9 cm de diâmetro em câmara de fluxo vertical. As placas foram, então, enroladas em filme PVC, identificadas e guardadas na geladeira para evitar a contaminação da dieta.

3.2 Multiplicação e manutenção de nematóides entomopatogênicos

Foram utilizadas espécies de NEPs (Tabela 1) armazenadas e mantidas no Laboratório de Patologia de Insetos do Departamento de Entomologia (DEN) da Universidade Federal de Lavras (UFLA).

TABELA 1. Isolados nativos e exóticos de nematóides entomopatogênicos (Rhabditida: Steinernematidae e Heterorhabditidae) utilizados nos experimentos.

Linhagem	Sigla	Local
<i>Steinernema carpocapsae</i> All	Sc	Carolina do Norte/USA
<i>Steinernema feltiae</i> Sn	Sf	Flórida/USA
<i>Steinernema glaseri</i> NA	Sg	Flórida/USA
<i>Steinernema riobravis</i> 355	Sr	Texas/USA
<i>Steinernema (=anomali) arenarium</i>	Sa	Voronezh/Rússia
<i>Heterorhabditis bacteriophora</i>	Hb	Desconhecido
<i>Heterorhabditis bacteriophora</i> HP88	HP88	New Jersey/USA
<i>Heterorhabditis</i> sp. (CCA)	CCA	Araras/SP/Brasil
<i>Heterorhabditis</i> sp. (PI)	PI	Teresina/Piauí/Brasil
<i>Heterorhabditis</i> sp. (JPM 3.0)	JPM 3.0	Lavras/MG/Brasil
<i>Heterorhabditis</i> sp. (JPM 4.0)	JPM 4.0	Lavras/MG/Brasil
<i>Heterorhabditis</i> sp. (RSC 01)	RSC 01	Benjamin Constant/AM/Brasil
<i>Heterorhabditis</i> sp. (RSC 02)	RSC 02	Benjamim Constant/AM/Brasil
<i>Heterorhabditis</i> sp. (RSC 03)	RSC 03	Benjamim Constant/AM/Brasil
<i>Heterorhabditis</i> sp. (RSC 04)	RSC 04	Benjamim Constant/AM/Brasil
<i>Heterorhabditis</i> sp. (RSC 05)	RSC 05	Benjamim Constant/AM/Brasil

Para a multiplicação dos nematóides foram utilizadas lagartas de *Galleria mellonella* (Lepidoptera: Pyralidae), criadas no Laboratório de Patologia de Insetos da UFLA, de acordo com metodologia descrita por Dolinski (2005)² (dados não publicados), em dieta para desenvolvimento larval com a seguinte composição: farinha de trigo 200g, farelo de trigo 200g, leite em pó desnatado 400g, levedura de cerveja 120g, gérmen de trigo 200g, mel 240g, glicerina 130g e água destilada 20mL (caso necessário).

O preparo da dieta foi feito misturando-se todos os ingredientes, primeiro os secos e depois os líquidos. A mistura resultante foi colocada sobre folha de papel dentro de potes plásticos e sobre esse substrato foram colocadas as posturas realizadas pelos adultos, permitindo que as larvas, ao eclodirem, encontrassem facilmente o alimento. Após a passagem das larvas para o estágio pupal, estas foram transferidas para frascos de vidro, contendo, no interior, papel sanfonado (do tipo catálogo de produtos "Sigma") para postura.

Completando o ciclo da criação, as posturas foram retiradas e transferidas para potes plásticos com dieta, iniciando nova geração de larvas.

A criação foi mantida em sala climatizada, a $25\pm 2^{\circ}\text{C}$, umidade relativa de $70\pm 10\%$ e fotofase de 12 horas. A manutenção foi feita em dias alternados, fazendo-se a limpeza dos recipientes, coleta de posturas e adição de dieta.

Dez lagartas, de quinto ínstar e tamanho aproximado foram selecionadas e posteriormente colocadas em uma placa de Petri de 9 cm de diâmetro com duas folhas de papel filtro no fundo, sendo neste inoculados 2 mL da suspensão com os nematóides. As placas foram mantidas em câmara BOD por dois a três dias, até a morte das lagartas. As lagartas mortas foram retiradas e colocadas em placas de Petri de 9 cm de diâmetro, com papel filtro seco por, aproximadamente, sete dias. Com esse tempo, foi possível notar a

² Cláudia Dolinski – Universidade Estadual do Norte Fluminense (UENF) Campo dos Goitacazes/RJ

sintomatologia característica da morte causada por nematóides, um ligeiro encurvamento e a coloração mais acentuada.

Após esta fase, foi montada a armadilha de White, que consiste em uma placa de Petri de 9 cm de diâmetro, colocando-se, no seu interior, um pedaço de vidro cortado e colado no fundo da placa de Petri. Sobre esta foi colocada uma folha de papel filtro cortada conforme o diâmetro da placa, na qual foram colocadas dez lagartas mortas por nematóides e cerca de 3 mL de água no fundo da placa. As armadilhas foram colocadas em câmara BOD a $24 \pm 1^\circ\text{C}$ e UR $70 \pm 10\%$ por um período de três a sete dias. A suspensão recolhida passou por um processo de decantação, a fim de retirar nematóides adultos e corpos gordurosos do inseto. O processo de decantação foi realizado em provetas onde foram adicionados 750 mL de água destilada e os nematóides recolhidos nas armadilhas de White. Os nematóides decantaram por um dia e, logo depois, foram recolhidos e guardados em frascos Erlenmeyer sob aeração (com auxílio de um compressor de aquário, mangueira e agulha) até a sua utilização.

3.3 Bioensaio para seleção de isolados de nematóides entomopatogênicos

Foi realizado um pré-teste para a escolha da melhor concentração de NEPs a ser utilizada para a seleção dos isolados. O nematóide utilizado no pré-teste foi escolhido aleatoriamente, sendo este *S. feltiae*. As concentrações testadas foram 0, 25, 50, 125, 250 e 500 JI/cupim, determinando-se a CL_{90} (concentração letal que mata 90% de uma população testada) cujo valor foi utilizado para o experimento de seleção. Neste experimento, foram utilizadas quatro repetições por tratamento. Os nematóides utilizados foram aqueles recém-emergidos (com, no máximo, quatro dias de coleta) e mantidos em aeração. Para a concentração zero (testemunha), foi aplicada apenas água destilada. Utilizaram-se 30 operários de cupins. Esses foram colocados em placas de Petri de 9 cm de diâmetro, cuja tampa foi furada e sobre ela foi colocado um algodão

umedecido com água destilada para que a umidade da placa fosse mantida. Cada placa continha 2 papéis filtro também umedecidos em água destilada e um pedaço da dieta feita à base de cana-de-açúcar. Os nematóides foram quantificados e o máximo de suspensão aplicada por placa foi de 1 mL. As placas foram mantidas em câmara BOD a uma temperatura de $21 \pm 1^\circ\text{C}$ totalmente no escuro. Após três dias da aplicação dos nematóides, os cupins mortos foram transferidos para uma placa de Petri contendo papel filtro seco (câmara seca). Após dois dias, esses cupins foram então dissecados para a verificação da presença ou não dos nematóides. A porcentagem dos dados obtidos foi transformada por $\arcsen \sqrt{(X/100)}$ e submetidos à análise de variância e à regressão polinomial.

Com base nesses dados, foi escolhido o valor da CL_{90} e essa concentração foi utilizada no bioensaio de seleção de isolados de nematóides.

Para a seleção de isolados, foram utilizados os 16 NEPs dos gêneros *Steinernema* e *Heterorhabditis* (Tabela 1).

Os experimentos foram montados em três etapas, ou seja, em dias diferentes e, para cada experimento, o número de repetições também foi diferente. Na primeira etapa, os nematóides utilizados foram *S. carpocapsae*, *S. glaseri* e a testemunha, sendo dez o número de repetições. Na segunda etapa, utilizaram-se os nematóides *S. anomali*, *S. feltiae* e *S. riobravis*, além da testemunha. Nesse experimento, o número de repetições foi oito. Por último, foi montado um experimento com os nematóides do gênero *Heterorhabditis*, sendo estes Hb, CCA, PI, JPM 3.0, JPM 4.0, HP88, RSC 01, RSC 02, RSC 03, RSC 04, RSC 05 e a testemunha. Nesse experimento, o número de repetições foi cinco.

O valor da CL_{90} foi o mesmo, tanto para os nematóides do gênero *Steinernema* como *Heterorhabditis*. O processo de montagem e avaliação utilizado para o bioensaio da seleção dos isolados, foi o mesmo utilizado para o

pré-teste. Na testemunha, foi aplicada água destilada. Foi feita a análise de variância ($P < 0,05$) com teste de Tukey para a comparação entre as médias.

3.4 Bioensaio com diferentes concentrações de nematóides entomopatogênicos para o controle do cupim

Outro experimento foi montado com o nematóide selecionado, testando 10 concentrações diferentes, sendo essas 50, 100, 150, 200, 250, 300, 350, 400, 450 e 500 JI/cupim, além da testemunha. O processo de montagem e avaliação desse bioensaio foi o mesmo utilizado nos bioensaios anteriores, sendo a avaliação realizada após três dias da inoculação dos nematóides. A confirmação da mortalidade foi realizada como nos bioensaios anteriores. Foram feitas cinco repetições para cada um dos 11 tratamentos. Os dados obtidos foram transformados por $\sqrt{(X + 0,5)}$ e submetidos à análise de variância ($P < 0,05$) e regressão polinomial.

3.5 Bioensaio de deslocamento dos nematóides

Esse teste visou a avaliação da movimentação dos nematóides em busca do seu hospedeiro.

Para esse bioensaio, foram utilizadas placas de Petri de 9 cm de diâmetro, furadas e com algodão umedecido, areia esterilizada (aproximadamente 20g/placa) e uma placa de acrílico (1,6 cm de altura e 8,7 cm de comprimento) que foi colocada no centro. Nessas placas foram colocadas areia, a placa de acrílico e 30 operários de cupins (Figura 2). A seguir, foram aplicados os nematóides do lado contrário ao dos cupins. Cada placa contendo areia foi umedecida com, no máximo, 4 mL de água ou suspensão, sendo 2 mL de água onde estavam os cupins e 2 mL de suspensão ou água do lado contrário. A avaliação foi feita após cinco dias da inoculação dos nematóides; os cupins foram desinfetados em água destilada, hipoclorito de sódio (1%) e álcool (70%)

e colocados na câmara seca por dois dias e, então, dissecados. A concentração utilizada nesse experimento foi de 400 JI/cupim (de acordo com resultados anteriores). Os dados obtidos foram transformados por $\sqrt{(X + 0,5)}$ e submetidos à análise de variância ($P < 0,05$) e teste de Tukey para a comparação entre as médias.



FIGURA 2. Metodologia usada para o bioensaio de deslocamento dos NEPs.

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 Bioensaio para seleção de isolados de nematóides entomopatogênicos

Neste bioensaio foi realizado um pré-teste para a determinação da CL₉₀, sendo o valor encontrado de 490 JI/cupim, de acordo com a equação $Y = -0,000154 x^2 + 0,123029 x + 3,688026$ (Figura 3). O valor da CL₉₀ encontrada foi utilizado tanto para nematóides do gênero *Steinernema* como *Heterorhabditis*.

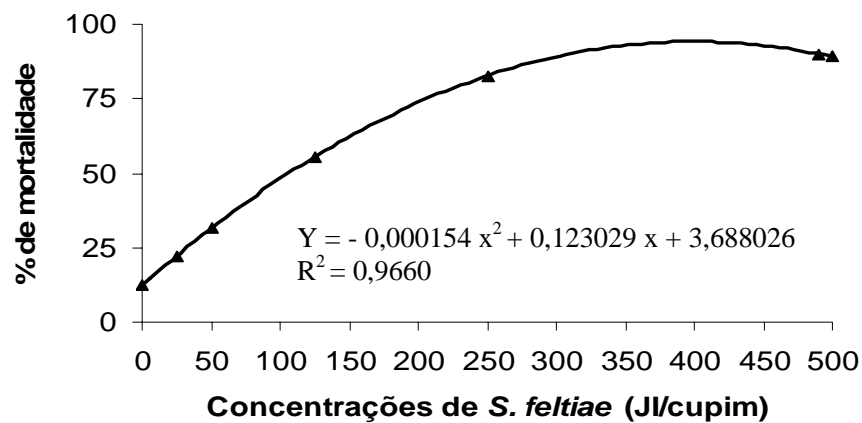


FIGURA 3. Porcentagem de mortalidade de operários de cupins *Cornitermes cumulans*, de acordo com a concentração de *S. feltiae* utilizada.

Para o bioensaio de seleção de isolados foram utilizados 16 NEPs sendo 5 do gênero *Steinernema* e 11 do gênero *Heterorhabditis*, cujas mortalidades por tratamento se encontram na Tabela 2.

TABELA 2: Porcentagem de mortalidade de operários de cupins *C. cumulans* com a aplicação de nematóides.

Espécies	% de mortalidade ¹
<i>Steinernema feltiae</i>	88,3 ± 1,20 a
<i>Steinernema carpocapsae</i>	86,0 ± 1,62 a
<i>Steinernema anomali</i>	70,0 ± 1,00 ab
<i>Heterorhabditis bacteriophora</i> HP88	64,0 ± 2,96 abc
<i>Steinernema riobravisi</i>	63,3 ± 1,36 abc
<i>Steinernema glaseri</i>	62,3 ± 1,84 abc
<i>Heterorhabditis</i> sp CCA	52,7 ± 2,52 bcd
<i>Heterorhabditis</i> sp RSC 04	50,0 ± 3,86 bcd
<i>Heterorhabditis</i> sp RSC 03	48,0 ± 2,25 bcd
<i>Heterorhabditis</i> sp RSC 02	38,7 ± 2,18 cde
<i>Heterorhabditis</i> sp JPM 3.0	37,3 ± 0,97 cde
<i>Heterorhabditis</i> sp RSC 01	36,7 ± 2,59 cde
<i>Heterorhabditis bacteriophora</i>	28,0 ± 0,93 de
<i>Heterorhabditis</i> sp JPM 4.0	26,7 ± 1,58 de
<i>Heterorhabditis</i> sp PI	24,0 ± 1,24 de
<i>Heterorhabditis</i> sp RSC 05	23,3 ± 1,38 de
Testemunha	12,0 ± 0,45 f
CV (%)	15,38

Médias seguidas por letras distintas diferem entre si pelo teste de Tukey (P < 0,05)

¹ M ± EP (M)

De acordo com os dados obtidos, todos os isolados do gênero *Steinernema* causaram mortalidade superior a 60%, sem diferença entre os tratamentos, incluindo-se também nesse grupo o nematóide *H. bacteriophora* HP88. Assim, para a sequência dos trabalhos, foi selecionado o nematóide *S. feltiae*, que se encontra nesse grupo dos isolados com melhor performance na etapa de seleção.

Pode-se observar também que, para os outros tratamentos com os nematóides do gênero *Heterorhabditis*, a mortalidade dos cupins foi menor, com a maioria dos isolados não alcançando 50% de mortalidade dos cupins.

A mortalidade também foi melhor quando utilizaram-se os nematóides chamados “exóticos”, por serem do gênero *Steinernema*. Já para os nematóides chamados “nativos”, ou seja, aqueles que foram isolados no Brasil, essa eficiência foi menor e apenas dois isolados conseguiram atingir, em média, 50% de mortalidade, já que eles são do gênero *Heterorhabditis* e, provavelmente, essa concentração seria muito maior, como nos trabalhos de Laumond et al. (1979) e Wang et al. (2002).

Com relação aos trabalhos realizados com seleção de nematóides para cupins do gênero *Cornitermes*, não há nenhum relato na literatura evidenciando a importância da presente pesquisa em realizar essa seleção. Porém, Carvalho (2003) selecionou quatro espécies de nematóides para a cochonilha-da-raiz-do-cafeeiro, *Dysmicoccus texensis*, tendo o nematóide escolhido sido *S. carpocapsae*.

A seleção de entomopatógenos no controle de *C. cumulans* já foi feita realizando a triagem daqueles fungos mais eficientes, como mostram os trabalhos de Fernandes & Alves (1992), nos quais de nove fungos testados, dois do gênero *Metarhizium* se destacaram, provocando 100% de mortalidade em menos de 48 horas. Já Neves (1998) testou 50 isolados de fungos dos gêneros *Metarhizium* e *Beauveria*, selecionando os cinco melhores dos quais apenas dois foram escolhidos, sendo um de cada gênero. A seleção dos patógenos nem sempre se faz com gêneros ou espécies diferentes. Muitas vezes, isolados de uma mesma espécie diferem entre si. Um trabalho que pode ser citado é o de Milner et al. (1998) que, trabalhando com 93 isolados de *M. anisopliae* para o controle de cupins dos gêneros *Nasutitermes* e *Coptotermes*, mostraram que apenas 76 dos isolados foram efetivos.

Essa diferença pode estar relacionada ao modo de ação e penetração dos patógenos, não só dos fungos, como também dos nematóides, vírus, bactérias e protozoários.

Uma hipótese que pode explicar o fato de *S. feltiae* ter sido mais eficiente para *C. cumulans* que os outros nematóides é a capacidade de adaptação e estabilidade a temperaturas relativamente mais baixas e também o seu tamanho em relação aos outros nematóides, principalmente os do gênero *Heterorhabditis*, que são maiores, dificultando a sua penetração nos cupins.

4.2 Bioensaio com diferentes concentrações de nematóides entomopatogênicos para o controle do cupim

Houve um aumento da mortalidade dos cupins à medida que se aumentou a concentração de nematóides até 413 JI/cupim, sendo essa mortalidade, em média, de 26,5 cupins. A partir desse ponto, à medida que se aumentou a concentração dos nematóides, a mortalidade começou a decair (Figura 4).

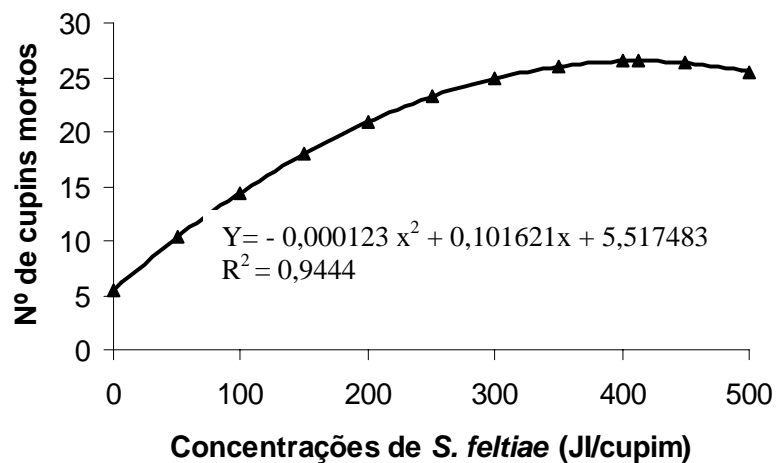


FIGURA 4. Número de cupins mortos em diferentes concentrações de *S. feltiae*.

Trabalhos como o de Stuart et al. (1997), realizado para o controle de cochonilhas *Dysmicoccus vaccinii*, mostram que o nematóide *S. feltiae* também foi eficiente em todas as concentrações testadas, tendo as concentrações acima de 100 JI/cochonilha causado maior mortalidade. No caso das cochonilhas, quando foram testados os nematóides do gênero *Heterorhabditis*, a mortalidade nos tratamentos foi maior em relação aos nematóides do gênero *Steinernema*, o que não ocorreu para os cupins.

Trabalhos relacionados a cupins e nematóides podem ser citados, embora as concentrações utilizadas sejam muito altas. Laumond et al. (1979), estudando 128 espécies de insetos das ordens Coleoptera, Diptera, Lepidoptera, Isoptera, entre outras, observaram que uma concentração de 6.000 JI de *S. carpocapsae* foi capaz de matar 100% dos cupins *Nasutitermes exitiosus* em apenas três dias.

Outro trabalho de Wang et al. (2002), para o controle de *Reticulitermes flavipes* e *Coptotermes formosanus* com nematóides entomopatogênicos se mostrou eficiente, embora as concentrações utilizadas também tenham sido altas. Foram utilizados quatro nematóides: *S. riobravis*, *S. carpocapsae*, *H. bacteriophora* e *H. indica*. As concentrações utilizadas variavam entre 0 e 2.000 JI/cupim para o controle de *C. formosanus* e entre 0 e 5.000 para *R. flavipes*. De maneira geral, todos os nematóides foram eficientes para as duas espécies, porém, para *C. formosanus*, os nematóides, na concentração de 400 JI/cupim, foram capazes de matar os cupins após oito dias da aplicação. Essa concentração se aproxima dos resultados encontrados neste trabalho.

É importante realizar estudos de concentrações de nematóides, seja em campo ou em laboratório. Para cada inseto, o nematóide age de forma diferente, seja na sua penetração bem como na liberação das bactérias, até a morte dos insetos. Esse estudo também está relacionado ao custo do tratamento, pois, quanto maior for a concentração utilizada por inseto, mais caro sairá esse controle, podendo ser, muitas vezes, inviável economicamente.

4.3 Bioensaio de deslocamento dos nematóides

Nesse bioensaio, a concentração utilizada foi de 400 JI/cupim, baseada no bioensaio de concentração de nematóides, ou seja, aquela capaz de matar um maior número de insetos. Houve diferença entre os tratamentos, sendo a mortalidade da testemunha menor quando comparada ao tratamento em que se utilizou a espécie *S. feltiae* (Tabela 3).

TABELA 3. Número de cupins mortos após cinco dias da inoculação de *S. feltiae*.

Tratamento	Nº de cupins mortos ¹
Testemunha	6,00 ± 0,66 a
<i>S. feltiae</i>	10,00 ± 0,72 b
CV(%)	16,35

Médias seguidas por letras distintas diferem entre si pelo teste de Tukey (P < 0,05).

¹ M ± EP (M)

Assim como Stuart et al. (1997) e Wennemann et al. (2004), que estudaram a movimentação vertical dos nematóides e Molina & López (2002), que estudaram a movimentação horizontal, o presente trabalho também mostrou diferença entre os tratamentos, provando, mais uma vez, a eficiência dos nematóides na busca por seus hospedeiros.

Uma característica de *S. feltiae* que o difere dos demais nematóides testados é que ele pode atuar tanto como “cruiser” como “ambusher” e, dessa forma, tornar o controle mais eficiente.

5 CONCLUSÕES

1. Os nematóides do gênero *Steinernema* são mais eficientes no controle de *C. cumulans*.
2. Dos isolados de *Heterorhabditis* avaliados, apenas *H. bacteriophora* HP88 é eficiente para o controle de *C. cumulans*.
3. O nematóide *S. feltiae*, selecionado para o controle do cupim, é capaz de se deslocar até encontrar o seu hospedeiro.

6 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALMEIDA, J. E. M.; ALVES, S. B. Controle de *Heterotermes tenuis* (Hagen) (Isoptera: Rhinotermitidae) e *Cornitermes cumulans* (Kollar) (Isoptera: Termitidae) com inseticida fipronil associado ao fungo entomopatogênico *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuill. em isca atrativa na cultura da cana-de-açúcar (*Saccharum officinarum* L.) **Arquivos do Instituto Biológico**, São Paulo, v. 67, n. 2, p. 235-241, jul./dez. 2000.

ALMEIDA, J. E. M.; ALVES, S. B. Perspectivas de controle de cupins para o século XXI. **O Biológico**, São Paulo, v. 61, n. 2, p. 67-71, jul./dez. 1999.

ALMEIDA, J. E. M.; BATISTA FILHO, A.; ALVES, S. B.; SHITARA, T. Avaliação de inseticidas e fungos entomopatogênicos para o controle de cupins subterrâneos da cana-de-açúcar. **Arquivos do Instituto Biológico**, São Paulo, v. 70, n. 3, p. 347-353, 2003.

ALVES, A. N.; WILCKEN, C.F.; RAETANO, C. G. Controle de cupins subterrâneos (Isoptera) em plantios de eucalipto com imidaclopride e dissulfoton mais triadimenol. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE ENTOMOLOGIA, 15., 1995, Caxambu-MG. **Resumos...** Caxambu-MG, 1995. p. 253-254.

BERTI-FILHO, E.; MARICONI, F. A. M.; WILKEN, C. F. et al. Cupins e Térmitas. In: BERTI-FILHO, E. (Coord.). **Manual de pragas em florestas**. Piracicaba: IPEF/SIF, 1993. v. 3, 56 p.

BUAINAIN-ALVES, C. M.; VALÉRIO, J. R.; OLIVEIRA, M. C. M. Eficiência de inseticidas no controle do cupim de montículo, *Cornitermes cumulans* (Kollar) (Isoptera: Termitidae) em pastagens. **Anais da Sociedade Entomológica do Brasil**, Londrina, v. 22, n. 3, p. 521-525, dez. 1993.

CARVALHO, V. A. M. **Avaliação de fungos e nematóides entomopatogênicos e sua compatibilidade com produtos fitossanitários visando o controle de cochonilha-da-raiz-do-cafeeiro, *Dysmicoccus texensis* Tinsley (Hemiptera: Pseudococcidae)**. 2003. 82 p. Tese (Mestrado em Entomologia Agrícola) - Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG.

CASTILHOS-FORTES, R.; MATSUMURA, A. T. S.; DIEHL, E.; FIUZA, L. M. Susceptibility of *Nasutitermes ehrhardti* (Isoptera: Termitidae) to *Bacillus thuringiensis* subspecies. **Brazilian Journal of Microbiology**, São Paulo, v. 33, n. 3, p. 219-222, July/Sept. 2002.

DANTHARANAVANA, W.; VITARANA, S. I. Control of the live-wood tea termite *Glyptotermes dilatatus* using *Heterorhabditis* sp. (Nemat.). **Agriculture, Ecosystems and Environment**, Amsterdam, v.19, n. 4, p. 333-342, Aug. 1987.

EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA. Centro Nacional de Pesquisa de Gado de Corte, 2005. Disponível em: <http://www.cnpqc.embrapa.br/publicacoes/divulga/GCD18.html>. Acesso em 15/10/05.

FADINI, M. A. M.; DESOUZA, O.; FANTON, C. J. Efeito da profundidade de aplicação e da distribuição de inseticidas líquidos no controle de cupins de montículo em pastagens (Isoptera: Termitidae). **Neotropical Entomology**, Londrina, v. 30, n. 1, p. 157-159, Jan./Mar. 2001.

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

FERNANDES, P. M.; ALVES, S. B. Seleção de isolados de *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuill. e *Metarhizium anisopliae* (Metsch.) Sorok. para controle de *Cornitermes cumulans* (Kollar, 1832) (Isoptera – Termitidae). **Anais da Sociedade Entomológica do Brasil**, Viçosa, v. 21, n. 3, p. 319- 327, 1992.

FERNANDES, P. M.; CZEPAK, C.; VELOSO, V. R. S. Cupins de montículos em pastagens: prejuízo real ou praga estética? In: FONTES, L. R.; BERTI FILHO, E. (Ed.). **Cupins: o desafio do conhecimento**. Piracicaba: FEALQ, 1998. 512 p.

FERRAZ, L.C.C.B. Nematóides entomopatogênicos. In: ALVES, S.B. (Ed.), **Controle microbiano de insetos**. 2. ed. Piracicaba: FEALQ, 1998. p. 541-569.

FONTES, L. R. Cupins nas pastagens do Brasil: algumas indicações de controle. In: FONTES, L. R.; BERTI FILHO, E. (Ed.). **Cupins: o desafio do conhecimento**. Piracicaba: FEALQ, 1998.

GALLO, D.; NAKANO, O.; SILVEIRA – NETO, S.; CARVALHO, R. P. L.; et al. **Entomologia agrícola**. Piracicaba: FEALQ, 2002. 920 p.

GREWAL, P. S.; DE NARDO, E. A. B.; AGUILLERA, M. M. Entomopathogenic nematodes: Potential for exploration and use in south América. **Neotropical Entomology**, Londrina, v. 30, n. 2, p. 191-205, Apr. Apr./June 2001.

LAUMOND, C.; MAULÉON, H.; KERMARREC, A. New data on the host spectrum and the parasitism of the entomophagus nematode, *Neoplectana carpocapsae*. **Entomophaga**, Paris, v. 24, n. 1, p. 13-27, 1979.

MARICONI, F. A. M.; PACHECO, P.; CINIGLIO NETO, F.; PASSOS, H.R.; CAMPOS NETO, H. M. Controle do cupim-de-monte *Cornitermes cumulans* (Kollar, 1832) com formulações líquidas de clorpirifós e endossulfan. **Scientia Agrícola**, Piracicaba, v. 53, n. 2/3, p. 293-295, maio/dez. 1996.

MARTIUS, C. Perspectivas do controle biológico de cupins (Insecta, Isoptera). **Revista Brasileira de Entomologia**, São Paulo, v. 41, n. 2/4, p. 179-194, set. 1998.

MILNER, R. J.; STAPLES, J. A.; LUTTON, G. G. The selection of an isolate of the Hyphomycete Fungus, *Metarhizium anisopliae*, for control of termites in Australia. **Biological Control**, San Diego, v. 11, n. 3, p. 240-247, Mar. 1998.

MOINO JR, A.; ALVES, S. B.; LOPES, R. B.; NEVES, P. M. O. J.; PEREIRA, R. M.; VIEIRA, S. A. External development of the entomopathogenic fungi *Beauveria bassiana* and *Metarhizium anisopliae* in the subterranean termite *Heterotermes tenuis*. **Scientia Agrícola**, Piracicaba, v. 59, n. 2, p. 267-273, abr./jun. 2002.

MOINO JR, A.; ALVES, V. S. Seleção de nematóides entomopatogênicos para o cupim subterrâneo *Syntermes* sp. em condições de laboratório. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE ENTOMOLOGIA, 20., 2004, Gramado, RS. **Resumos...** Gramado, RS. 2004. p.275.

MOLINA, A. J. P.; LÓPEZ, J. C. Desplazamiento y parasitismo de los entomonematodos *Steinernema feltiae* (Rhabdiida: Steinernematidae) y *Heterorhabditis bacteriophora* (Rhabditida: Heterorhabditidae) hacia frutos infestados con la broca del café *Hypothenemus hampei* (Ferrari) (Coleoptera: Scolytidae). **Revista Colombiana de Entomologia**, Santa Fé de Bogotá, v. 28, n. 2, p. 145-151, 2002.

NEGRISOLI JR, A. S. **Avaliação de técnicas para estudos de compatibilidade de produtos fitossanitários com nematóides entomopatogênicos (Rhabditida: Heterorhabditidae, Steinernematidae).** 2005. 79 p. Tese (Mestrado em Entomologia Agrícola)-Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG.

NEVES, P.M. **Controle associado de *Cornitermes cumulans* (Kollar, 1832) (Isoptera: Termitidae) com fungos entomopatogênicos e o inseticida imidacloprid.** 1998. 111 p. Tese (Doutorado) - Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", Universidade de São Paulo, Piracicaba.

NEVES, P. M. O. J.; ALVES, S. B. Controle associado de *Cornitermes cumulans* (Kollar, 1832) (Isoptera: Termitidae) com *Metarhizium anisopliae*, *Beauveria bassiana* e imidacloprid. **Scientia Agrícola**, Piracicaba, v. 56, n. 2, p. 305-311, abr./jun. 1999.

NEVES, P. M. O. J.; ALVES, S. B. External events related to the infection process of *Cornitermes cumulans* (Kollar) (Isoptera: Termitidae) by the entomopathogenic fungi *Beauveria bassiana* and *Metarhizium anisopliae*. **Neotropical Entomology**, Londrina, v. 33, n. 1, p. 51-56, Jan./Mar. 2004.

NEVES, P. M. O. J.; ALVES, S. B. Grooming capacity inhibition in *Cornitermes cumulans* (Kollar) (Isoptera: Termitidae) inoculated with entomopathogenic fungi and treated with imidacloprid. **Anais da Sociedade Entomológica do Brasil**, Londrina, v. 29, n. 3, p. 537-545, set. 2000.

NGUYEN, K. B.; SMART JR, G. C. *Neosteinerinema longicurvicauda* n.gen., n.sp. (Rhabditida: Steinernematidae), a parasite of the termite *Reticulitermes flavipes* (Kollar). **Journal of Nematology**, Londrina, v. 26, n. 2, p. 162-174, June 1994.

PAPA, G.; HARO, N. H. Efeito de uma formulação especial de inseticida granulado sobre o controle de cupins, *Cornitermes* sp (Isoptera: Termitidae) no plantio de eucalipto. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE ENTOMOLOGIA, 13., 1991, Recife. **Resumos...** Recife, PE, 1991. p. 505.

PARRA, J. R. P.; BOTELHO, P. M. S.; VILLA NOVA, N. A.; SILVEIRA NETO, S.; AMARAL, E. Determinação de temperatura e umidade relativa no interior de colônias de insetos sociais para estudos bioecológicos. **Anais da Sociedade Entomológica do Brasil**, Itabuna, v. 3, n. 1, p. 20-33, 1974.

RAETANO, C. G.; WILCKEN, C. F.; CROCOMO, W. B. Controle de cupins em florestas de eucalipto com o inseticida fipronil (Regent 20G) aplicado em cobertura. **Revista Árvore**, Viçosa, v. 21, n. 2, p. 289-293, abr./jun. 1997.

RESENDE, V. F.; ZANUNCIO, J. C.; GUEDES, R. N. C.; NOGUEIRA, P. B. Efeitos comparativos do carbosulfan e do aldrin na proteção de mudas de eucaliptos contra cupins subterrâneos. **Anais da Sociedade Entomológica do Brasil**, Piracicaba, v. 24, n. 3, p. 645-648, dez. 1995.

SANCHEZ, G.; PERES FILHO, O.; SALVADORI, J. R.; NAKANO, O. Estrutura e sistema de aeração do cupinzeiro de *Cornitermes cumulans*(Kollar, 1832) (Isoptera: Termitidae). **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 24, n. 8, p. 941-943, ago. 1989.

SENA, R. C.; CAVALCANTI, V. A L. B.; GOMES JR, A; FILHO, T. S. Nova perspectiva para o controle químico de cupim dos gêneros (*Syntermes* e *Nasutitermes*), pragas dos rebolos da cana-de-açúcar em Pernambuco. **Pesquisa Agropecuária Pernambucana**, Recife, v.12, p. 25-29, 2000-2001. Especial.

STUART, R. J.; POLAVARAPU, S.; LEWIS, E. E.; GAUGLER, R. Differential susceptibility of *Dysmicoccus vaccinii* (Homoptera: Pseudococcidae) to entomopathogenic nematodes (Rhabditida: Heterorhabditidae and Steinernematidae). **Journal of Economic Entomology**, Lakeland, v. 90, n. 4, p. 925-932, Aug. 1997.

Universidade Federal do Paraná. Curitiba, 2005. Disponível em:
<<http://www.floresta.ufpr.br/~ipf/pragas06.html>>. Acesso em: 15 jan. 2005.

VAINIO, A. Guideline for laboratory testing of the side-effects of pesticides on entomophagous nematodes *Steinernema* spp. **IOBC/WPRS Bulletin**, Dordrecht, v. 15, p. 145-147, 1992.

VALÉRIO, J. R. Ocorrência, danos e controle de cupins de montículo em pastagens. In: REUNIÃO SUL-BRASILEIRA DE INSETOS DE SOLO, 5., 1995, Dourados. **Ata e Resumos...** Dourados: EMBRAPA, CPAO, 1995. p. 33-36.

VALÉRIO, J. R.; SANTOS, A V.; SOUZA, A P.; MACIEL, C. A M. Controle químico e mecânico de cupins de montículo (Isoptera: Termitidae) em pastagens. **Anais da Sociedade Entomológica do Brasil**, Piracicaba, v. 27, n. 1, p. 125-131, mar. 1998.

WANG, C.; POWELL, J. E.; NGUYEN, K. Laboratory evaluations of four entomopathogenic nematodes for control of subterranean termites (Isoptera: Rhinotermitidae). **Environmental Entomology**, Lanham, v. 31, n. 2, p. 381-387, Apr. 2002.

WENNEMANN, L.; SHANKS, C. H.; SMITH, K. A. Movement of entomopathogenic nematodes in soils of *Fragaria* spp. **Communications in Agricultural and Applied Biological Science**, Wetenschappen, v. 69, n. 3, p. 347-357, 2004.

WILCKEN, C. F. Danos de cupins subterrâneos *Cornitermes* sp. (Isoptera: Termitidae) em plantios de *Eucalyptus grandis* e controle com inseticidas no solo. **Anais da Sociedade Entomológica do Brasil**, Viçosa, v. 21, n. 3, p. 329-338, 1992.

WILCKEN, C. F.; RAETANO, C. G. Eficiência da bifentrina no controle de cupins subterrâneos (Isoptera: Termitidae) em plantios de eucalipto. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE ENTOMOLOGIA, 16., 1997, Salvador, BA. **Resumos...** Salvador, BA. 1997. p. 255.

WILCKEN, C. F.; RAETANO, C. G. Eficiência do inseticida fipronil no controle de cupins subterrâneos (Isoptera) em eucalipto. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE ENTOMOLOGIA, 15., Caxambu, MG. **Resumos...** Caxambu, MG, 1995. p. 547.

ZANETTI, R.; CARVALHO, G. A.; SOUZA-SILVA, A.; SANTOS, A.; GODOY, M. S. **Manejo Integrado de Cupins**. Lavras: UFLA, 2002. 29 p.