

Mortalidade de *Heterotermes tenuis* (Hagen) Atraídos por Armadilhas com *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuill. e Imidacloprid

José E. M. Almeida¹ e Sérgio B. Alves¹

¹Departamento de Entomologia, ESALQ/USP, Caixa postal 9,
13418-900, Piracicaba-SP.

An. Soc. Entomol. Brasil 25(3): 507-512 (1996)

Mortality of *Heterotermes tenuis* (Hagen) Attracted to Traps Treated with *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuill. and Imidacloprid

ABSTRACT -The efficacy of *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuill. and imidacloprid against *Heterotermes tenuis* (Hagen) was tested. Concentrations of 0.01 and 0.001% imidacloprid were selected as they were not repellent and did not cause high termite mortalities, and were used associated with the fungus *B. bassiana* in attractive baits. The treatment using fungal conidia caused quicker mortality than the other ones ($LT_{50} = 2.34$ days). The treatments using fungus plus the insecticide and fungus only caused higher mortalities (imidacloprid 0.001 % + fungus = 69.8 %) than the insecticide alone (imidacloprid 0.001 % = 3.1 %). Synergistic effects in the treatment combining dry mycelium and imidacloprid were observed.

KEY WORDS: Insecta, bait, entomopathogenic fungus, insecticide.

RESUMO - A eficácia de *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuill. e imidacloprid sobre *Heterotermes tenuis* (Hagen) foi testada em laboratório. Foram selecionadas as concentrações de 0,01 e 0,001% de imidacloprid, as quais não apresentaram repelência e nem provocaram altas mortalidades. Estas concentrações do inseticida foram utilizadas nas iscas atrativas associadas ao fungo *B. bassiana*. O tratamento com conídios do fungo provocou mortalidade mais rápida ($TL_{50} = 2,34$ dias) que os demais tratamentos. Os tratamentos com o fungo mais inseticida e somente fungo causaram mortalidades maiores (imidacloprid a 0,001% + fungo em conídios puro = 69,8 %) que o tratamento com o inseticida isoladamente (imidacloprid a 0,001 % = 3,1 % de mortalidade), observando-se um pequeno efeito sinérgico quando se utilizou micélio seco mais o imidacloprid.

PALAVRAS-CHAVE: Insecta, armadilhas, fungo entomopatogênico, inseticida.

Os cupins têm-se tornado uma das principais pragas da cana-de-açúcar, principalmente a espécie *Heterotermes tenuis* (Hagen), devido à sua vasta distribuição e danos provocados nos canaviais do Estado de São Paulo. A cana-de-açúcar é atacada durante a

fase de plantio, ocorrendo falhas na brotação e após o corte, nas soqueiras, causando falhas na rebrota, e em algumas áreas os prejuízos chegam a atingir cerca de 10 ton/ha/ano (Novaretti 1985).

Por se tratar de um cupim com ninho sub-

terrâneo e difuso, o seu controle é difícil, sendo necessários inseticidas de alto poder residual, como os clorados. Porém, esses inseticidas causam problemas ao ambiente e ao homem, sendo seu uso proibido. Desta forma, torna-se necessário a adoção de alternativas de controle, como novas moléculas de inseticidas e o controle microbiano com fungos entomopatogênicos (Almeida & Alves 1995).

De acordo com Su *et al.* (1987), a estratégia para o controle de cupins subterrâneos é a utilização de inseticidas não repelentes e de ação lenta, em armadilhas ou em pó, com base na premissa de que uma parte da colônia será contaminada e a ação tóxica distribuída na colônia através de interações sociais (trofalaxia e limpeza). Fernandes & Alves (1991) verificaram que os fungos entomopatogênicos *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuill. e *Metarhizium anisopliae* (Metsch.) Sorok. causaram 100% de mortalidade, 30 dias após a aplicação, em colônias de *Cornitermes cumulans* (Kollar) com 3 g de conídios puros por cupinzeiro. Neste caso a estratégia de controle foi por introdução inundativa. No caso de *H. tenuis*, cujo o ninho é de localização difícil, a melhor estratégia de controle é a da introdução inoculativa, que consiste na contaminação de uma parte da população, visando a transmissão da doença (conídios) para o resto da colônia. A utilização dessa estratégia é favorecida pelo comportamento de *H. tenuis*, que não detecta os conídios de alguns isolados do fungo entomopatogênico (Almeida 1994).

O controle de cupins subterrâneos pode ser feito empregando duas estratégias: uso de barreiras e mortalidade retardada. A barreira, pode ser dividida ainda em química e física. A mortalidade retardada pode ser dividida em duas categorias: estratégia de atração e armadilha. A primeira implica na ingestão voluntária de tóxicos e transmissão de trofalático pela intoxicação de indivíduos com transmissão do tóxico. A estratégia de armadilha é mais flexível e utiliza os indivíduos atraídos para disseminar o princípio ativo. Assim, os indivíduos que entram em

contato com as iscas podem carregar pequenas quantidades de tóxicos ou patógenos, os quais são transmitidos por contato (R. T. Myles, não publicado).

Os fungos entomopatogênicos podem ser utilizados com inseticidas compatíveis em sub-dosagens, os quais possuem efeito sinérgico sobre a praga (Alves 1986a). W. M. Zeck & B. J. Monke (não publicado) demonstraram que os cupins *Coptotermes formosanus* Shikari e *Reticulitermes flavipes* (Kollar) foram atraídos por armadilhas de papelão corrugado pulverizados com conídios dos fungos entomopatogênicos *M. anisopliae*, *Paecilomyces farinosus* Bainier, *Conidiobolus coronatus* Brefeld, *B. bassiana* e *Actinomucor* sp. Verificaram um efeito sinérgico da mistura de *M. anisopliae* com o inseticida imidacloprid em sub-dosagens, sobre as duas espécies de cupins.

O objetivo deste trabalho foi estudar, em laboratório, o efeito da associação do inseticida imidacloprid com o fungo *B. bassiana*, aplicados em armadilhas (Termitrap) de papelão para o controle do cupim *H. tenuis*.

Material e Métodos

Os experimentos foram conduzidos no Laboratório de Patologia de Insetos do Departamento de Entomologia da ESALQ/USP, Piracicaba-SP, em sala climatizada (25±1°C, UR 70±10% e fotofase de 12 horas). O inseticida utilizado foi imidacloprid, formulado em grânulos dispersíveis em água, com 70% de ingrediente ativo.

Ensaio 1. Visou-se determinar a concentração de imidacloprid não repelente para *H. tenuis*. As concentrações do inseticida em água foram: 0,1%; 0,01%; 0,001%; 0,0001%; 0,00001% e testemunha. Os tratamentos foram repetidos cinco vezes, em delineamento inteiramente casualizado. O inseticida foi dissolvido em água e impregnado por imersão nas iscas de papelão corrugado de 2 cm de diâmetro por 5 cm de altura. Foram utilizados 20 cupins (operários e soldados na proporção 5:1) por repetição, num total de 100 cupins/

tratamento. Foram usados copos de plástico (9 cm diâmetro superior, 5 cm de diâmetro inferior e 7 cm de altura), com uma camada de gesso de 1,5 cm de espessura no fundo, para a manutenção da umidade, tendo como substrato o solo podzólico vermelho-amarelo. Estes recipientes permaneceram em contato com água durante 48 horas, para o umedecimento do gesso. Diariamente foram pulverizados 200 ml de água sobre todos os recipientes (66 ml/recipiente aproximadamente). A isca atrativa foi enterrada até 1 cm próximo à camada de gesso. No momento da avaliação, contou-se os cupins presentes nas iscas, para determinar a atratividade. A avaliação foi feita aos 2, 4 e 6 dias, após o tratamento, retirando-se os insetos mortos. Os dados foram submetidos a análise de variância, comparando-se as percentagens de mortalidade e as percentagens de atratividade de cada concentração de inseticida aplicado pelo teste de Tukey.

Ensaio 2. Avaliou-se o efeito sinérgico do imidacloprid com o fungo *B. bassiana*. Utilizou-se o isolado 634 de *B. bassiana* (proveniente de *Solenopsis invicta* Buren), selecionado para o programa de controle microbiano desta praga (Almeida 1994), do banco de patógenos do Laboratório de Patologia de Insetos. Os tratamentos foram: conídios do fungo; conídios puros + imidacloprid; pasta de arroz com fungo; pasta de arroz com fungo + imidacloprid; micélio do fungo seco; micélio seco + imidacloprid; imidacloprid e testemunha. Cada tratamento foi repetido cinco vezes e utilizou-se 20 cupins (operários e soldados na proporção 5:1), por repetição.

O inseticida foi aplicado na isca de papelão, como no ensaio anterior, nas concentrações de 0,001 e 0,01 % de imidacloprid. As formulações do fungo *B. bassiana* também foram aplicadas nas iscas. A formulação de conídios puros foi produzida em arroz pré-cozido e autoclavado, pelo método da bandeja (Alves 1986b). Para a de pasta de arroz, foi utilizado o arroz com o fungo produzido nas bandejas, moído em liquidificador, numa

proporção de 100 g de arroz + fungo, com 100 ml de água destilada. O micélio seco foi produzido pelo método de McCabe & Soper (1985).

A contagem do número de cupins mortos foi efetuada aos 2, 4, 6 e 8 dias após os tratamentos. Os cadáveres foram lavados em álcool 96° GL e água destilada e colocados em câmara úmida para a confirmação do agente causal. Os resultados foram submetidos a análise de Probit, utilizando o programa POLO PC, para a comparação do Tempo Letal Mediano (TL₅₀) entre os diferentes tratamentos.

Resultados e Discussão

Ensaio 1. Verificou-se que a mortalidade de operários e soldados aumentou com o aumento da concentração do inseticida imidacloprid, com as concentrações de 0,01 e 0,1 % provocando mortalidade total dos insetos aos 6 dias da aplicação (Tabela 1). O tratamento com concentração de imidacloprid a 0,001% não foi incluído na análise de variância, com teste de médias aos 2 dias de avaliação, pois ocorreu uma grande variação entre as repetições. Constatou-se, ainda que a percentagem de cupins atraídos foi também maior a 0,01 e 0,1 % de imidacloprid, diminuindo com a redução da concentração (Tabela 2). O efeito atrativo diminuiu com o passar dos dias para as concentrações 0,001; 0,0001 e 0,00001 %, ocorrendo o inverso a 0,01 e 0,1 %. Decorridos 6 dias, do total de sobreviventes do tratamento 0,01%, apenas 3,19 % dos indivíduos estavam na armadilha e no tratamento 0,1 % já não havia insetos vivos.

W. M. Zeck & B. J. Monke (não publicado) verificaram que as espécies *R. flavipes* e *C. formosanus*, submetidas ao imidacloprid, apresentaram menor sensibilidade a esse produto, com as concentrações 0,01 e 0,1 % causando maiores mortalidades. Para avaliação do possível efeito sinérgico com *B. bassiana*, decidiu-se utilizar as concentrações 0,01 e 0,001 % misturadas ao fungo, nas

Tabela 1. Média (\pm EP) da mortalidade (%) de cupins *Heterotermes tenuis* atraídos pelas iscas tratadas com diferentes concentrações de imidacloprid.

Concentrações (%)	Mortalidade ¹		
	2 dias	4 dias	6 dias
0,1	82,0 \pm 9,27 a	100,0 \pm 0,00 a	100,0 \pm 0,00 a
0,01	76,0 \pm 9,02 a	99,0 \pm 1,00 a	99,0 \pm 1,00 a
0,001	- ²	97,5 \pm 2,50 a	97,5 \pm 2,50 a
0,0001	1,0 \pm 1,00 b	2,0 \pm 1,22 b	5,0 \pm 2,74 b
0,00001	5,0 \pm 2,23 b	5,0 \pm 2,24 b	9,0 \pm 4,18 b
Testemunha	7,0 \pm 4,89 b	8,0 \pm 5,14 b	25,0 \pm 19,36 b
Coef. de Variação	41,09 %	11,38 %	33,83 %

¹Médias seguidas de mesma letra não diferem entre si pelo teste de Tukey ($P \leq 0,05$).

²Dado não incluído na análise devido à grande variação entre as repetições.

diferentes formulações.

Ensaio 2. Os tratamentos com conídios puros e com conídios puros + imidacloprid foram

Verificou-se, também, que as formulações em pasta e micélio seco apresentaram esporulação, causando, entretanto, mortalidade

Tabela 2. Média (\pm EP) da atratividade (%) de operários e soldados (5:1) de *Heterotermes tenuis* às iscas tratadas com diferentes concentrações de imidacloprid.

Concentrações (%)	Insetos atraídos ¹		
	2 dias ²	4 dias ²	6 dias ³
0,1	88,7 \pm 4,58 a	100,0 \pm 0,00 a	--
0,01	76,7 \pm 12,88 a	98,0 \pm 2,00 a	3,2 \pm 2,44 a
0,001	28,4 \pm 7,07 b	8,6 \pm 1,00 b	4,6 \pm 6,81 a
0,0001	28,2 \pm 16,61 b	6,6 \pm 3,39 b	3,5 \pm 3,87 a
0,00001	21,8 \pm 2,00 b	4,2 \pm 4,90 b	3,8 \pm 3,16 a
Testemunha	20,0 \pm 0,00 b	0,7 \pm 19,77 b	5,5 \pm 16,00a
Coef. de Variação	22,61 %	38,30%	23,68%

¹Médias seguidas de mesma letra não diferem entre si pelo teste de Tukey ($P \leq 0,05$)

²Dados transformados por $x + 1$.

³Dados transformados por $\log x + 10$.

os que causaram mortalidade mais rápida dentre todos os tratamentos, nas duas concentrações de imidacloprid (Tabela 3).

mais lenta que os tratamentos com conídios puros. Observou-se que houve um efeito sinérgico entre o inseticida e o fungo somente

Tabela 3. Tempo letal mediano (TL_{50}) de *Heterotermes tenuis* contaminados com o fungo *Beauveria bassiana* em diferentes formulações e duas concentrações de imidacloprid em iscas atrativas.

Tratamentos	Concentração 0,001 %			
	TL_{50}	Intervalo de confiança	TL_{50}	Intervalo de confiança
Conídio puro	2,34	(0,72 - 7,60)	3,89	(3,07 - 4,93)
Conídio+imidacloprid	5,54	(2,60 - 11,84)	4,41	(2,80 - 6,95)
Pasta c/ fungo	6,16	(4,59 - 8,27)	5,20	(3,52 - 7,66)
Pasta + imidacloprid	7,82	(6,73 - 9,09)	6,75	(5,86 - 7,78)
Micélio seco	5,17	(3,73 - 7,16)	8,11	(5,06 - 13,02)
Micélio+imidacloprid	7,15	(4,14 - 12,34)	5,22	(3,46 - 7,89)
Testemunha ¹	—	—	—	—
Imidacloprid ²	—	—	—	—

¹O TL_{50} não foi calculado devido as porcentagens de mortalidade para os dois experimentos terem sido baixas (1 e 0 % respectivamente).

²Não foi possível calcular o TL_{50} devido ao baixo número de mortos (6%).

na concentração 0,01 % de imidacloprid, para os tratamentos com micélio seco e com micélio seco + imidacloprid (Tabela 3).

Constatou-se, a compatibilidade entre o fungo *B. bassiana* e o inseticida imidacloprid, já que a presença do produto não afetou a

mortalidade dos cupins pelo entomopatógeno. Essa característica do inseticida é importante para a sua associação com o patógeno, visando sua utilização em campo. Os cupins foram atraídos pelas armadilhas com fungo nas diferentes formulações. Além disso, cons-

Tabela 4. Média (\pm EP) da mortalidade (%) média de *Heterotermes tenuis* contaminados com o fungo *Beauveria bassiana* em diferentes formulações e duas concentrações de imidacloprid em iscas atrativas após 8 dias.

Tratamentos	Imidacloprid ¹ 0,01 %	
Conídio puro	70,2 \pm 7,45 a	77,6 \pm 10,29 a
Conídio+imidacloprid	69,9 \pm 14,70 a	77,7 \pm 9,80 a
Pasta c/ fungo	56,9 \pm 18,15 a	65,0 \pm 14,17 a
Pasta+imidacloprid	48,0 \pm 10,25 ab	56,1 \pm 14,74 a
Micélio seco	71,0 \pm 11,80 a	47,0 \pm 4,77 a
Micélio+imidacloprid	48,4 \pm 5,10 ab	66,5 \pm 12,39 a
Testemunha	11,2 \pm 3,00 bc	2,9 \pm 1,87 b
Imidacloprid	3,1 \pm 4,85 c	51,0 \pm 14,35 a

¹Médias seguidas de mesma letra não diferem entre si pelo teste de Tukey ($P \leq 0,05$) dados transformados por $CV = 26,86\%$ e $CV = 25,20\%$.

tatou-se a esporulação do fungo sobre os cadáveres nas galerias construídas pelos operários.

De acordo com os resultados, foi possível verificar um pequeno efeito sinérgico no tratamento com micélio seco + imidacloprid a 0,01% quando comparado com o tratamento micélio seco, com mortalidades de 66,6 e 47,0% respectivamente (Tabela 4). Nos demais tratamentos, para as diferentes concentrações do inseticida, não foi possível observar um efeito sinérgico. Esses resultados diferem dos obtidos por W. M. Zeck & B. J. Monke (não publicado), que constataram que na associação do imidacloprid com *M. anisopliae* houve um efeito sinérgico na concentração de 0,001 % de imidacloprid e diferentes concentrações do fungo puro, incorporados em armadilhas de papelão corrugado.

Agradecimentos

À FINEP pelo financiamento desta pesquisa e a Técnica Solange Aparecida Viera, pelo apoio durante a pesquisa.

Literatura Citada

- Almeida, J. E. M. 1994.** Avaliação de fungos entomopatogênicos visando ao controle do cupim subterrâneo *Heterotermes tenuis* (Hagen, 1858) (Isoptera: Rhinotermitidae). Tese de mestrado, ESALQ/USP, 105 p.
- Almeida, J. E. M. & S. B. Alves. 1995.** Seleção de armadilhas para captura de *Heterotermes tenuis* (Hagen). An. Soc. Entomol. Brasil 24: 619-624.
- Alves, S. B. 1986 a.** Fungos entomopatogênicos, p. 73-124. In: S. B. Alves, (Coord.). Controle microbiano de insetos, São Paulo, Ed. Manole, 1986a, 407 p.
- Alves, S. B. 1986 b.** Produção de fungos entomopatogênicos, p. 311-323. In: S. B. Alves (Coord.). Controle microbiano de insetos, São Paulo, Ed. Manole, 1986b, 407 p.
- Fernandes, P. M. & S. B. Alves. 1991.** Controle de *Cornitermes cumulans* (Kollar, 1832) (Isoptera, Termitidae) com *Beauveria bassiana* Bals. Vuill. e *Metarhizium anisopliae* (Metsch.) Sorok. em condições de campo. An. Soc. Entomol. Brasil 20: 45-9.
- McCabe, A. & R. S. Soper. 1985.** Preparation of an entomopathogenic fungal insect control agent. U.S. Patent 4, 530, 834.
- Novaretti, W. R. T. 1985.** Controle de cupins em cana-de-açúcar através do emprego de inseticidas de solo. Bol. Téc. Coper-sucar. 33: 39-44.
- Su, N. Y., M. Tamashiro & M. I. Haverty. 1987.** Characterization of slowacting insecticides for the remedial control of the Formosan Subterranean Termite (Isoptera: Rhinotermitidae). J. Econ. Entomol. 80: 1-4.

Recebido em 30/04/96. Aceito em 25/11/96.