

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA “JÚLIO DE MESQUITA FILHO”
FACULDADE DE CIÊNCIAS AGRONÔMICAS
CÂMPUS DE BOTUCATU

**POTENCIAL DE UTILIZAÇÃO DE NEMATÓIDES
ENTOMOPATOGÊNICOS (NEMATODA: RHABDITIDA) NO
CONTROLE DO CUPIM DE MONTÍCULO (*Cornitermes cumulans*
KOLLAR)**

JULIANA MAGRINELLI OSÓRIO ROSA

Dissertação apresentada à Faculdade de
Ciências Agronômicas da Unesp - Câmpus de
Botucatu, para obtenção do título de Mestre em
Agronomia (Proteção de Plantas)

BOTUCATU - SP

Janeiro - 2007

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA “JÚLIO DE MESQUITA FILHO”
FACULDADE DE CIÊNCIAS AGRONÔMICAS
CÂMPUS DE BOTUCATU

**POTENCIAL DE UTILIZAÇÃO DE NEMATÓIDES
ENTOMOPATOGÊNICOS (NEMATODA: RHABDITIDA) NO
CONTROLE DO CUPIM DE MONTÍCULO (*Cornitermes cumulans*
KOLLAR)**

JULIANA MAGRINELLI OSÓRIO ROSA

Engenheiro Agrônomo

Orientador: Profa. Dra Silvia Renata Siciliano Wilcken

Dissertação apresentada à Faculdade de
Ciências Agronômicas da Unesp - Câmpus de
Botucatu, para obtenção do título de Mestre em
Agronomia (Proteção de Plantas)

BOTUCATU - SP

Janeiro – 2007

FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA SEÇÃO TÉCNICA DE AQUISIÇÃO E TRATAMENTO DA INFORMAÇÃO - SERVIÇO TÉCNICO DE BIBLIOTECA E DOCUMENTAÇÃO
UNESP - FCA - LAGEADO - BOTUCATU (SP)

Rosa, Juliana Magrinelli Osório, 1978-
R788p Potencial de utilização de nematóides entomopatogênicos
(Nematoda: Rhabditida) no controle do cupim de montículo
(*Cornitermes cumulans Kollar*) / Juliana Magrinelli Osório
Rosa. - Botucatu : [s.n.], 2007.
vii, 69 f. : il. color., gráfs, tabs.

Dissertação (Mestrado)-Universidade Estadual Paulista,
Faculdade de Ciências Agrônômicas, Botucatu, 2007
Orientador: Silvia Renata Siciliano Wilcken
Inclui bibliografia.

1. Cupins. 2. Pragas agrícolas - Controle biológico. 3.
Patogenicidade. 4. Nematoda. I. Wilcken, Silvia Renata Si-
ciliano. II. Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mes-
quita Filho" (Campus de Botucatu). Faculdade de Ciências
Agrônômicas. III. Título.

BIOGRAFIA DO AUTOR

JULIANA MAGRINELLI OSÓRIO ROSA

Nascida no dia 23 de Outubro de 1978, na cidade de Campo Grande do estado de Mato Grosso do Sul, se formou em Agronomia no ano de 2003, na Faculdade de Ciências Agronômicas, Campus de Botucatu, SP, pertencente à Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, obtendo o título de Engenheiro Agrônomo.

Durante a graduação em Agronomia iniciou seus estudos em pesquisa no setor de Agricultura e Melhoramento Vegetal por 3 anos. Iniciou-se também nos estudos relacionados à Proteção de Plantas, na área de Nematologia Agrícola, se dedicando então com exclusividade a esta área.

Na área de Nematologia Agrícola, desenvolveu estudos sobre a utilização de nematóides entomopatogênicos visando o controle de pragas, como percevejo castanho da raiz (*Scaptocoris castanea*) e cupim de montículo (*Cornitermes cumulans*). Tais estudos contribuíram na obtenção da premiação e título de melhor trabalho da IX Reunião Científica em Ciências Agrárias do Lageado realizada no período de 07 a 11 de outubro de 2002 em Botucatu, SP.

No ano de 2004, iniciou-se no curso de mestrado do Programa de Proteção de Plantas, na mesma Universidade, estudos com nematóides fitoparasitos e na continuação do desenvolvimento dos estudos com nematóides entomopatogênicos, resultado desta dissertação. As principais publicações em revista no período de mestrado foram: Reprodução de *Meloidogyne incognita* raça 2 e *M. javanica* em genótipos de milho em condições de casa-de-vegetação (publicada); e Patogenicidade de *Steinernema carpocapsae* (Rhabditida: Steinernematidae) a *Scaptocoris castanea* (Hemiptera: Cydnide) em condições de laboratório (submetida a publicação). Dentre os resumos expandidos e simples, estão: Suscetibilidade de *Cornitermes cumulans* (Isoptera: Termitidae) a isolados de nematóides entomopatogênicos (extraído da dissertação); Reação de *Eucalyptus* sp. a *Meloidogyne javanica* (Tylenchida); Patogenicidade de *Meloidogyne incognita* raça 2 em bananeira ‘Prata Anã’ e Suscetibilidade de espécies e clones de *Eucalyptus* spp. a *Meloidogyne javanica* e *M. incognita* raça 2 (Nematoda: Tylenchida).

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA "JÚLIO DE MESQUITA FILHO"
FACULDADE DE CIÊNCIAS AGRONÔMICAS
CAMPUS DE BOTUCATU

CERTIFICADO DE APROVAÇÃO

TÍTULO: "POTENCIAL DE UTILIZAÇÃO DE NEMATÓIDES ENTOMOPATOGÊNICOS
(NEMATODA: RHABDITIDA) NO CONTROLE DO CUPIM DE MONTÍCULO
(Cornitermes cumulans KOLLAR)"

ALUNA: JULIANA MAGRINELLI OSORIO ROSA

ORIENTADORA: PROFA. DRA. SILVIA RENATA SICILIANO WILCKEN


Aprovado pela Comissão Examinadora



PROFA. DRA. SILVIA RENATA SICILIANO WILCKEN



PROF. DR. WILSON BADIALI CROCOMO



PROF. DR. LUIS GARRIGOS LEITE

Data da Realização: 26 de janeiro de 2007.

DEDICATÓRIA

À meus pais, Walter Osório Rosa e Mercedes Magrinelli de Oliveira Rosa, pelo amor e carinho; e a meu irmão, Walter Magrinelli Osório Rosa, pelo apoio e companheirismo. A eles devo essa oportunidade.

DEDICO.

À meus familiares, em especial a meus avós maternos, Alexandrino Magrinelli e Benedita de Oliveira Magrinelli; aos meus avós paternos, Antônio Ozório Rosa “in memoriam” e Maria Batista Rosa; a meus tios (as) e a meus primos (as), muito obrigado pelo incentivo e manifestações de apoio e carinho.

OFEREÇO.

À Deus pela vida, saúde e proteção em todos os momentos.

AGRADEÇO.

AGRADECIMENTOS

Primeiramente agradeço a Profa. Dra. Silvia Renata Siciliano Wilcken pela orientação e amizade a mim dedicada.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) pela bolsa de estudos concedida para a concretização desta dissertação.

Ao Dr. Luís Garrigós Leite, pesquisador do Instituto Biológico de Campinas, pela contribuição e atenção.

À Dra Marineide Mendonça Aguilera, professora e pesquisadora da UfsCar, Araras, SP, também pela contribuição no desenvolvimento de parte da dissertação.

Ao programa de Pós-graduação em Proteção de Plantas, da Faculdade de Ciências Agronômicas/UNESP – Campus de Botucatu/SP, pela realização desta dissertação.

Aos amigos que, mesmo à distância, me apoiaram e a todos amigos e colegas que encontrei durante o curso de mestrado, obrigado pelo companheirismo e carinho.

Em especial agradeço a amiga e aluna de mestrado Juliana Elisa Sartori, pela amizade, ajuda e dedicação desde a época de graduação realizada nesta mesma entidade.

Aos funcionários da FCA, em especial a Paulo Roberto Rodrigues, Edna Cristina Bessa, Vera Lúcia Silva Mendes, Sr. Domingos Paulossi, Sr. José Martins Dias, Norberto Vaz de Carvalho, Nivaldo Lúcio da Costa, Maria de Fátima Almeida Silva, Marlene Rezende de Freitas e Marilena do Carmo Santos, que estiveram sempre dispostos a ajudar.

Aos professores, principalmente ao Prof. Dr. Wilson Badiali Crocomo, Prof. Dr. Carlos Frederico Wilcken e Prof. Dr. Antônio Carlos Maringoni pela atenção e auxílio neste período.

À meus pais e meu irmão, que acreditaram, incentivaram e fizeram o máximo para isso se tornar realidade.

À todos que direta ou indiretamente tornaram possível este trabalho, meu muito obrigado.

SUMÁRIO

	Página
RESUMO	01
SUMMARY	02
1. INTRODUÇÃO	03
2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	06
2.1 Características gerais do cupim de montículo (<i>Cornitermes cumulans</i> Kollar).....	06
2.1.2 Ocorrência dos cupins de montículo	08
2.1.3 Danos atribuídos aos cupins.....	09
2.1.4 Métodos de controle de <i>C. cumulans</i>	10
2.2 Características gerais e potenciais de uso dos nematóides entomopatogênicos das famílias Steinernematidae e Heterorhabditidae	11
CAPÍTULO I “Suscetibilidade de <i>Cornitermes cumulans</i> (Kollar, 1832) a isolados de nematóides entomopatogênicos”	16
Resumo	17
Summary.....	18
Introdução.....	18
Material e métodos	19
Primeiro experimento	21
Segundo ao quinto experimento.....	21
Análise estatística	22
Resultados e discussão.....	22
Primeiro experimento	22
Segundo experimento	25
Terceiro experimento.....	28
Quarto experimento.....	31
Quinto experimento	34
Literatura citada.....	37

SUMÁRIO

Página

CAPÍTULO II “Patogenicidade de <i>Steinernema carpocapsae</i> (Rhabditidae: Steinernematidae) ao cupim de montículo (<i>Cornitermes cumulans</i>) (Isoptera: Termitidae) em colônias artificiais”	40
.....	40
Resumo	41
Summary.....	42
Introdução	42
Material e métodos	44
Primeiro experimento	44
Segundo experimento	45
Terceiro experimento	46
Análise estatística	46
Resultados e discussão	47
Primeiro experimento	47
Segundo experimento	50
Terceiro experimento.....	53
Literatura citada	57
3. CONCLUSÕES	60
4. REFERÊNCIA BIBLIOGRÁFICA.....	61

RESUMO

No Brasil, *Cornitermes cumulans* é uma das espécies de cupim mais freqüentes, principalmente nas regiões sul, sudeste e centro-oeste do país. Causam danos diretos e indiretos em várias culturas agrícolas. Os nematóides das famílias Steinernematidae e Heterorhabditidae têm sido considerados agentes promissores no controle biológico de pragas, inclusive para cupins. Com a finalidade de avaliar a possibilidade de utilização desses nematóides no controle de *Cornitermes cumulans*, a presente pesquisa teve como objetivo verificar a suscetibilidade de *C. cumulans* a diferentes isolados de *Steinernema* e *Heterorhabditis*. De acordo com os resultados obtidos na primeira fase, *S. carpocapsae* foi o isolado mais patogênico às castas de *C. cumulans*. Na segunda fase da pesquisa, a patogenicidade desse isolado à *C. cumulans* foi estudada em colônias artificiais, nas concentrações de 133, 166, 267, 332 e 533 juvenis infectivos (JI)/inseto, e duas formas de exposição (substrato e alimento). Nesta fase também foi conduzido um experimento em placas de Petri utilizando as concentrações de 2.000 e 4.000 JI/inseto. O isolado *S. carpocapsae* foi patogênico a *C. cumulans*, em todos os experimentos, proporcionando 100% de mortalidade dos insetos.

SUSCEPTIBILITY OF TERMITE MOUND (*Cornitermes cumulans* KOLLAR) TO ISOLATES OF ENTOMOPATHOGENIC NEMATODES OF STEINERNEMATIDAE AND HETERORHABDITIDAE FAMILIES. Botucatu, 2007. 69p. Dissertação (Mestrado em Agronomia/Proteção de Plantas) – Faculdade de Ciências Agronômicas, Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”.

Author: JULIANA MAGRINELLI OSÓRIO ROSA

Adviser: Dra. SILVIA RENATA SICILIANO WILCKEN

SUMMARY

In Brazil, *Cornitermes cumulans* is one of the most frequent termite species, mainly in the south, southeast and center-west of country. They cause direct and indirect loss many crops. The nematodes of Steinernematidae and Heterorhabditidae families have been considered promising agents for the biological control of pests, including for termites. With the purpose of evaluating the possibility of use those nematodes for the *Cornitermes cumulans* control, this research had the objective to verify the susceptibility of *C. cumulans* to different isolates of *Steinernema* and *Heterorhabditis*. According to the results obtained in the first phase, *S. carpocapsae* was the most pathogenic one to *C. cumulans* castes. In the second phase of the research, the effect action of this nematode to *C. cumulans* was investigated in artificial colonies, in different concentrations (133, 166, 267, 332 and 533 juveniles infectives (JI)/insect), and two exhibition forms (substratum and food). An experiment in Petri dishes was also conducted with two concentrations (2.000 and 4.000 JI/insect). The *S. carpocapsae* isolate was pathogenic to *C. cumulans*, for all experiments, providing 100% mortality of insects.

1. INTRODUÇÃO

Os cupins são insetos sociais polimórficos, pertencentes à ordem Isoptera. Constroem ninhos também chamados de cupinzeiros ou termiteiros, cujas funções são de armazenamento de alimento, proteção e manutenção da colônia visando o desenvolvimento de seus indivíduos (Buzzi, 2002; Zanetti, 2003).

Os cupins são considerados agentes importantes na degradação da madeira e compostos celulósicos. No solo, propiciam manutenção e recuperação da porosidade, aeração, umidade e ciclagem de partículas minerais e orgânicas. Entretanto, algumas espécies de térmitas podem, sob determinadas condições, causar danos em diversas árvores frutíferas, de reflorestamento, em ornamentais e culturas anuais, e em outros materiais como postes, dormentes, cabos telefônicos, móveis, pontes, etc (Buzzi, 2002).

No Brasil, ocorrem aproximadamente 290 espécies de cupins, entretanto, somente entre 10 a 20% tem importância econômica (Valério et al., 2004). *Cornitermes cumulans* (Kollar, 1832) é uma espécie de cupim formadora de montículos, encontrada com frequência no estado de São Paulo e estados vizinhos. Além de danos diretos em algumas culturas, como por exemplo, em eucalipto e pastagens, seus montículos podem impossibilitar a atividade mecânica em áreas agrícolas infestadas, despertando a preocupação

no setor agropecuário. Em culturas já estabelecidas o cupim de montículo causa, de maneira geral, poucos danos, sendo considerado uma “praga estética”. Entretanto, em culturas na fase inicial, essa espécie de cupim pode se alimentar das plantas causando danos, a ponto de reduzir o estande (Zanetti, 2003).

Embora alguns estudos na área de controle microbiano de cupins com fungos entomopatogênicos tenham sido desenvolvidos, o controle em áreas comerciais tem sido feito exclusivamente com a utilização de inseticidas químicos.

Em diversos países, nematóides entomopatogênicos estão sendo utilizados como método alternativo ao controle químico de pragas em várias culturas, pois não causam impactos ao ambiente e aos agricultores que utilizam esse agente biológico.

Em testes realizados por Poinar (1975), foi comprovada a patogenicidade dos nematóides entomopatogênicos à um grande número de insetos, mais de 250 espécies de 75 famílias e 11 ordens, demonstrando um grande círculo de hospedeiros. Outro atributo que qualifica esses agentes biológicos para o controle de pragas é sua capacidade de matar rapidamente o inseto alvo, em virtude do complexo nematóide/bactéria simbiótica, favorecendo sua ação em relação a outros organismos entomopatogênicos (Ferraz, 1998). As espécies de *Steinernema* e *Heterorhabditis* são associadas às bactérias dos gêneros *Xenorhabdus* e *Photorhabdus*, respectivamente (Boemare et al., 1993; Smart, 1995).

Levantamentos para a detecção de populações de nematóides entomopatogênicos em solos brasileiros vêm sendo efetuados. Essas populações têm sido utilizadas em estudos para a determinação da suscetibilidade de alguns insetos pragas a esses nematóides, como por exemplo, *Migdolus fryanus*, na cana-de-açúcar, o bicho-furão (*Ecyitolopha aurantiana*) em citros, o gorgulho da cana-de-açúcar (*Sphenophorus levis*) e o moleque da bananeira (*Cosmopolites sordidus*).

Em teste realizado em cochonilha-da-raiz-do-cafeeiro (*Dysmicoccus texensis*) utilizando os nematóides *Heterorhabditis* sp., *S. arenarium*, *S. carpocapsae* e *S. glaseri*, em três concentrações diferentes, Andaló et al. (2004) verificaram que o nematóide *S. carpocapsae* causou mortalidade de 78% na menor concentração testada, sendo a maior mortalidade obtida em relação aos demais nematóides e concentrações testados. Assim, esta espécie foi selecionada pelos autores, por causar maior mortalidade, em menor tempo, em fêmeas adultas da cochonilha-da-raiz-do-cafeeiro.

Vivan (2005), em experimento em condições de casa-de-vegetação, pôde constatar a boa eficiência do uso de nematóides entomopatogênicos no controle de *Scaptocoris castanea*, obtendo entre 70 e 90% de mortalidade desses insetos, utilizando produto comercial a base de *S. feltiae*, e mortalidade entre 60 e 83,3%, com produto comercial a base de *S. scapterisci*.

Em condições de campo, Machado et al. (2006) verificaram a supressão de 45,2% da população de *Migdolus fryanus* em cana-de-açúcar, utilizando o nematóide *H. indica* CB – n05, não diferindo do tratamento químico realizado.

Devido aos relatos de sucesso no controle de pragas utilizando nematóides das famílias Steinernematidae e Heterorhabditidae, principalmente no que se refere ao controle de insetos que habitam o solo, o presente trabalho teve por objetivo determinar o potencial de utilização dos nematóides entomopatogênicos (Nematoda: Rhabditida) no controle do cupim de montículo (*Cornitermes cumulans*).

Para isso, esta dissertação foi dividida em 02 capítulos, sendo o primeiro capítulo intitulado de “Suscetibilidade de *Cornitermes cumulans* (Kollar, 1832) a isolados de nematóides entomopatogênicos” e o segundo capítulo intitulado “Patogenicidade de *Steinernema carpocapsae* (Rhabditidae: Steinernematidae) ao cupim de montículo (*Cornitermes cumulans*) (Isoptera: Termitidae) em colônias artificiais”, ambos redigidos conforme as normas da revista Nematologia Brasileira.

2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 Características gerais do cupim de montículo (*Cornitermes cumulans* Kollar)

Cornitermes cumulans são insetos mastigadores e se desenvolvem por paurometabolia, ou seja, insetos com metamorfose incompleta (ovo-ninfa-adulto), entre os quais as ninfas vivem no mesmo hábitat dos adultos. As espécies dos cupins, sem exceção, são sociais, vivendo em sociedades ou colônias mais ou menos populosas, nas quais há uma divisão de tarefas (reprodução, segurança, limpeza e cuidados com a rainha) realizadas por determinados grupos de indivíduos, denominados castas, representadas por cupins ápteros ou alados, que vivem alojados em ninhos chamados de cupinzeiros ou termiteiros (Zanetti et al., 2006).

O casal real é o par fundador da colônia, sendo indivíduos sexuados, cuja função é apenas reprodutiva. Copulam proporcionando o crescimento da população da colônia. Os soldados são indivíduos estéreis e apresentam cabeças e mandíbulas bastante desenvolvidas, possuindo como função principal à defesa física e química, por toxinas ou substâncias pegajosas, da colônia. As castas de operários são também estéreis e constituem o

grupo mais numeroso desenvolvendo todas as funções de manutenção da colônia (Embrapa, 1996; Cooplantio, 2003).

Devido ao sistema de ventilação que mantém a temperatura dos cupinzeiros por volta de 20°C e umidade em torno de 96%, outros organismos são atraídos para estas condições e acabam co-habitando esse espaço em busca de abrigo e alimentação (Alves & Almeida, 1995). Em áreas de pastagens produtivas, isto é, com a presença de gado, foram encontrados os maiores registros de indivíduos inquilinos nos cupinzeiros (Herzog et al., 2006). Segundo Fontes e Araújo (1999), já foram constatadas as presenças de formigas, abelhas, vespas, miriápodes, aranhas, opiliões, escorpiões, hemípteros, coleópteros, larvas de lepidópteros e coleópteros alimentando-se dos cupinzeiros. Assim, os cupinzeiros tornam-se locais de abrigo para animais nocivos, sendo prejudiciais a outros animais e ao próprio agricultor.

Espécies de cupins consideradas úteis reciclam os nutrientes minerais do solo e, ao confeccionarem galerias, acabam aumentando a porosidade do mesmo, participando ativamente da regeneração de ambientes devastados (Fontes, 1998; Miklós, 1998). Entretanto, Gallo et al. (2002) ressaltam que algumas espécies sob determinadas condições são consideradas pragas em culturas como arroz, amendoim, cana-de-açúcar, essências florestais, milho, trigo e pastagens.

Santos et al. (1996) ressaltam a importância do estudo dos cupins, devido aos danos causados por eles tanto em tecidos vegetais secos, móveis, papéis, etc, como também em tecidos vegetais vivos.

Em pastagem, esses insetos podem causar perdas atribuídas pelo consumo de partes vivas das plantas, assim como, a presença de ninhos epígeos, em densidade elevada, dificulta os tratamentos culturais e agravam o processo de degradação das pastagens (Santos, 1982; Fernandes et al., 1998; Fontes, 1998; Gallo et al., 2002).

Cornitermes cumulans (Kollar, 1832) é a espécie de cupim mais conhecida em lavouras, principalmente sob sistema de plantio direto (PD), e em pastagens no Brasil. Constroem montes típicos, com estrutura externa em formato cônico irregular, variando de tamanho e coloração, dependendo da idade e região (Cooplantio, 2003). Ninhos epígeos predominam em áreas menos sujeitas à mecanização, como as pastagens (Embrapa, 1996; Valério et al., 2006).

Na etapa inicial de crescimento, o ninho de *C. cumulans* é frágil e totalmente subterrâneo, quando aflora à superfície do solo apresenta-se resistente e duro. O montículo possui uma espessa camada de terra dura permeado por canais e, no seu interior, o endoécio ou núcleo, que é frágil, é de coloração escura e de origem orgânica (principalmente de celulose e material fecal), onde se concentra e vive a colônia. Envolvendo a porção epígea do ninho, há o que se denomina “oco basal” mantido pelos cupins. Na base do cupinzeiro ocorre ligação com o solo por meio de túneis propiciando a exploração em busca de alimento (Valério et al., 2004).

2.1.2 Ocorrência dos cupins de montículo

Existem aproximadamente 2.800 espécies de cupins distribuídas principalmente em regiões tropicais e subtropicais do planeta, sendo encontradas poucas espécies em regiões desérticas ou de clima temperado (Canello e Schlemmermeyer, 2006).

O gênero *Cornitermes* ocorre principalmente nas regiões de florestas tropicais e cerrados da América do Sul e a espécie *Cornitermes cumulans* predomina nas regiões de invernos amenos e verões muito quentes. No Brasil, esta espécie é mais frequente nas Regiões sul e sudeste e no estado do Mato Grosso do Sul (Canello, 1989).

Cornitermes cumulans possui ninho em forma de monte que aflora à superfície do solo, dificultando ou impossibilitando o manejo de máquinas e qualquer tipo de preparo de solo (Mariconi et al., 1994).

Segundo Buzzi (2002), foram estimados entre 375.000 a 1.028.000 indivíduos de cupim em colônias de *C. cumulans* na região de Botucatu/SP. Segundo Valério et al. (2006), ocorre predominância de *C. cumulans* em relação ao gênero *Syntermes* em pastagens de *Brachiaria decumbens*.

Czepak et al. (2003) realizaram levantamento das espécies de cupins em 133 municípios do estado de Goiás que apresentavam, em média, 73 cupinzeiros/ha, com um diâmetro médio de 83 cm. Foram identificados dezenove gêneros do inseto, constatando-se que 58% das amostras eram de *Cornitermes snyderi*, 13,85% de *C. cumulans*, 6,35% de

Procornitermes araujoi, 3,77% de espécies do gênero *Syntermes* e o restante (15,74%) por outras espécies de menor importância.

2.1.3 Danos atribuídos aos cupins

Forti e Andrade (1995) relataram que os danos provocados pelos cupins subterrâneos ocorrem em focos isolados, mas pouco se conhece sobre a distribuição espacial das colônias no campo, principalmente para espécies do gênero *Heterotermes*, *Cornitermes*, *Procornitermes*, *Syntermes* e *Neocapritermes*.

Altas infestações de cupinzeiros em pastagens limitam a movimentação de máquinas e, por vezes, dos próprios animais. Além de abrigar animais como cobras, aranhas, escorpiões, ninhos de vespas, abelhas, ratos etc. Outro aspecto relatado é o da imagem de abandono que, inevitavelmente, tem sido associada a estas áreas (Embrapa, 1996).

Os danos da espécie *C. cumulans* aparecem quando o local apresenta altas infestações deste cupim (Pizano, 1992). Resultados semelhantes foram observados por Santos et al. (1996), quando em laboratório, ocorreram danos em pedaços de colmos de cana-de-açúcar em experimentos sobre preferência alimentar de *C. cumulans* e *C. snyderi*. Porém em experimentos de campo, em áreas infestadas, não foram constatados danos nessa cultura.

Na cultura da cana-de-açúcar, as espécies *H. tenuis* e *C. cumulans* são tidas como pragas importantes, pois são as mais frequentes e de maior distribuição (Arrigoni et al., 1989). Durante a colheita manual da cana-de-açúcar, os montículos de *C. cumulans* são destruídos nos tratamentos culturais após a colheita. Contudo, na colheita mecanizada acabam sendo obstáculos reais quando atingidos pelas lâminas basais das máquinas. Assim, a recomendação é que se realize a destruição mecânica dos montículos, seguida por controles químicos, dirigidos aos montículos, antes do preparo do solo (Valério et al., 2004).

Wilcken (1992) constatou que em condições brasileiras ocorrem 18% de mortalidade de mudas de *Eucalyptus grandis* causada por *C. cumulans*, sendo o período de maior suscetibilidade das mudas do 34º ao 76º dias após o plantio.

2.1.4 Métodos de controle de *C. cumulans*

O controle químico dos cupins vem sendo realizado há muitos anos, sendo que, para algumas espécies, este tipo de controle ainda se constitui em um método insubstituível, como no caso dos cupins de madeiras em geral (Almeida e Alves, 1995).

Os produtos utilizados anteriormente, em grande maioria já foram retirados do mercado após a proibição do uso de produtos clorados em 1985 (Almeida et al., 2003). Atualmente, para o controle do cupim de montículo é recomendada a aplicação de produtos químicos utilizando-se uma haste metálica para perfurar o montículo até que se atinja o interior dos ninhos, sendo assim aplicados os produtos cupinicida como, por exemplo, fipronil, imidaclopride, fention ou fosfina (Mariconi et al., 1995; Wilcken e Raetano, 1995; Valério et al., 2004).

O controle químico tem proporcionado resultados satisfatórios no controle de cupins, como nos estudos obtidos por Mariconi et al. (1996), que observaram a eficiência do controle de cupins do gênero *Cornitermes* em pastagens, com aplicações de formulações líquidas dos produtos clorpirifós e endossulfan. A mortalidade destes insetos variou de 80 a 100% nos tratamentos utilizados. Resultados satisfatórios também foram observados por Valério et al. (1998), que obtiveram um eficiente controle de *C. cumulans* e *C. bequaerti* com apenas um quarto da dose recomendada (5 g de p.c./cupinzeiro) de fipronil (Regent 20G), quando aplicados em perfuração no cupinzeiro.

Outro método de controle de cupins é por meio de implementos acopláveis à tomada de força do trator, conhecidos como “broca cupinzeira” sendo a versão mais recente denominada de “demolidora de cupins”. Esses implementos ocasionam a destruição total do cupinzeiro resultando no controle eficiente dos mesmos, sem a necessidade da utilização de produtos inseticidas (Ávila e Rumiato, 1995; Valério et al., 1998). Entretanto, existe a necessidade de mais estudos para comprovar a real eficiência desses implementos (Valério et al., 2004), visto que os cupins podem se recompor formando novos ninhos.

O controle biológico de cupins, em geral, pode ser feito com a utilização de fungos entomopatogênicos. O uso dos fungos entomopatogênicos *Metarhizium anisopliae* e *Beauveria bassiana* no controle de cupins, no Brasil, tem sido recomendado

principalmente no controle de *C. cumulans* em pastagens e *H. tenuis* em cana-de-açúcar (Fernandes e Alves, 1992; Alves e Almeida, 1995; Alves et al., 1995).

Jones et al. (1996) constataram que os fungos entomopatogênicos *M. anisopliae* e *B. bassiana* são agentes importantes para o controle de cupins em iscas atrativas, seguindo a premissa da ação lenta “slow-acting”, em associação ou não com inseticidas em concentrações baixas.

Neves e Alves (1999) testaram o uso do fungo *M. anisopliae* associado com sub-doses do produto químico imidaclopride, no controle de *C. cumulans* em pastagens. No ano seguinte, os mesmos autores verificaram a inibição do comportamento de limpeza de *C. cumulans* quando tratado com conídios de *B. bassiana*, *M. anisopliae*, e sub-doses do inseticida imidaclopride. Foi observado que os operários mostraram um eficiente mecanismo de limpeza, o que possibilitou a remoção, nas primeiras horas após a aplicação, de praticamente todos os conídios da cutícula dos soldados e dos outros operários. Porém, quando utilizado o inseticida imidaclopride, em doses sub-letais, inibiu o comportamento de limpeza, permitindo que os conídios germinassem e penetrassem à cutícula do inseto provocando a infecção (Neves e Alves, 2000).

Entretanto, ainda há controvérsias sobre a eficácia do controle biológico nestas pragas.

2.2 Características gerais e potenciais de uso dos nematóides entomopatogênicos das famílias Steinernematidae e Heterorhabditidae

A utilização dos nematóides das famílias Steinernematidae e Heterorhabditidae tem sido considerada bastante promissora em programas de controle biológico de insetos pragas (Kaya, 1985).

Segundo Grewal (2000), esses nematóides são organismos exclusivos do solo, sendo encontrados em todos os continentes habitados e em um extenso habitat incluindo campos cultivados, florestas, gramados, desertos e praias planas. São utilizados na América do Norte, Europa, Ásia e Austrália para o controle de pragas de solo e de ambientes crípticos. Esses organismos são considerados promissores no controle biológico de pragas, pois podem ser facilmente produzidos em larga escala, aplicados com equipamentos

convencionais, apresentam ampla gama de hospedeiros e são inócuos ao ambiente (Grewal et al., 2001). Além disso, causam a morte do hospedeiro rapidamente, entre 24 a 48 horas, devido à associação com bactérias simbiotes, também patogênicas a insetos. Os nematóides das famílias Steinernematidae e Heterorhabditidae possuem associação com bactérias do gênero *Xenorhabdus* e *Photorhabdus*, respectivamente (Boemare et al., 1993; Smart Jr, 1995).

Os juvenis infectantes não se alimentam no solo, mas podem sobreviver durante semanas com as reservas armazenadas em seu interior. O período de tempo que os juvenis sobrevivem no solo na ausência de hospedeiros depende de fatores como temperatura, umidade, inimigos naturais e tipos de solo. Sobrevivem melhor em solos arenosos (Smart Jr, 1995).

Segundo Ferraz (1986), entre as vantagens do uso de nematóides entomopatogênicos está a resistência a inúmeros defensivos agrícolas; boa adaptação a ambientes novos, contanto que não ocorram situações extremas, pois são altamente sensíveis ao ressecamento; a capacidade de difundir-se no ambiente buscando insetos hospedeiros quando necessário; não danifica as plantas cultivadas podendo ser aplicados em pastagens por não serem nocivos aos animais e podem ter a eficiência aumentada por possuírem efeito sinérgico com outros agentes entomopatogênicos.

Em geral, as aplicações em campo desses agentes devem ser realizadas em períodos chuvosos ou em terrenos que recebam irrigação antes, no período da tarde, para que os nematóides não sintam os efeitos de uma possível “dessecação”, uma vez que os nematóides entomopatogênicos sofrem efeitos deletérios dos raios ultravioletas, de alta temperatura e de baixa umidade (Aguillera, 2001; Ferraz, 1998).

Segundo Ferraz (1986), espécies do gênero *Steinernema* são consideradas promissoras no controle biológico de certas pragas, citando espécies como *Heliothis virescens*, *Heliothis zea*, *Anthonomus vestitus*, *Poppilia japonica*, *Galleria mellonella*, *Leptinotarsa decemlineata*, *Diatraea* sp., *Melolontha* sp., *Diabrotica* sp. e *Dendroctonus* sp.

Como exemplo de controle que vem sendo utilizado em campo, tem-se a aplicação rotineira de *Steinernema riobrave* em pomares de citros da Florida, EUA visando o controle de *Diaprepes abbreviatus* L., curculionídeo praga de citros. Também nesse país, a

utilização de nematóides entomopatogênicos da família Steinernematidae, tem se tornado rotineira em plantações de morangos e outras frutas silvestres (cranberry) (Schroeder, 1990).

Figuroa (1990), em testes de laboratório e em casa-de-vegetação, utilizou três espécies de nematóides do gênero *Steinernema* (*S. carpocapsae*, *S. glaseri* e *S. bibionis*) no controle da broca da bananeira, *Cosmopolites sordidus*, em Porto Rico. Em laboratório, as três espécies causaram alta taxa de mortalidade em larvas quando a densidade populacional de nematóides foi de 400 e 40.000. Nos testes feitos em casa-de-vegetação, os nematóides reduziram o número de galerias feitas por larvas nos rizomas das bananeiras, quando a densidade populacional de nematóides foi de 400, 4.000 e 40.000 por planta. Nas duas taxas mais altas, os nematóides causaram 100 % de mortalidade do inseto praga.

Schmitt et al. (1992), em testes de campo no Brasil, obtiveram bons níveis de controle de *Cosmopolites sordidus*, o moleque da bananeira, mediante aplicação de *S. carpocapsae* (raças All e UK) sobre pseudocaulis partidos, utilizado como “iscas”. A aplicação nas iscas proporcionou melhores resultados que a liberação dos nematóides no solo ao redor das bananeiras. Resultados semelhantes foram obtidos por Treverrow e Bedding (1993), que aplicaram o nematóide *S. carpocapsae* no pseudocaulis de bananeira, resultando num bom nível de controle de *C. sordidus*, a baixo custo.

Rosales e Suarez (1998), após coleta nos estados de Aragua e Miranda, na Venezuela, estudaram o potencial de nematóides entomopatogênicos exóticos (*H. bacteriophora* (FRG-1 e HT1); *H. indicus* (FRG-09 e FRG-15); *S. bibionis* e *S. carpocapsae*) e os isolados nativos (HV1, HV2, HV3, HV4, HV5 e HV6) no controle de *Cosmopolites sordidus*. Constataram que sete isolados apresentaram níveis de patogenicidade mais elevados em relação aos demais isolados testados, sendo estes *S. carpocapsae* com 80%, FRG-15 com 76%; HV1 com 64%; HV6 com 52%; HV2 com 40% e HT1 com 36% de mortalidade.

No Hawaii, Lindegren (1990) testou a supressão em campo de três espécies de mosca-das-frutas (Diptera: Tephritidae) utilizando o nematóide *S. carpocapsae* (Mexican). Obteve-se 87% de mortalidade no tratamento com 500 juvenis/cm² de solo.

Segundo Schroeder (1990), a aplicação de *Steinernema carpocapsae* e *Heterorhabditis bacteriophora* em citros na Flórida (EUA) resultou em 70% de supressão da população de *Diaprepes abbreviatus* (Coleoptera: Curculionidae).

Steinernema carpocapsae é uma das espécies mais estudada e versátil de todos os nematóides entomopatogênicos. Sua produção em larga escala é de fácil obtenção e sua capacidade de sobreviver em formulados parcialmente secos é ampla. São eficientes no controle de uma ampla gama de hospedeiros (Grewal, 2000).

No Brasil, Pereira (1937) relatou a ocorrência de novas espécies descritas como *Heterorhabditis (Rhabditis) hambletoni* parasitando *Eutinobothrus brasiliensis*. Pizano et al. (1985) observaram a presença de *S. glaseri* em ovos e larvas de *Migdolus fryanus*, em área de cana-de-açúcar, no estado de São Paulo. Atualmente a descoberta de populações de nematóides entomopatogênicos vem sendo constatada em áreas do Brasil (Grewal et al., 2001).

Segundo Aguilera et al. (2003), os nematóides dos gêneros *Steinernema* e *Heterorhabditis* continuam a despertar interesses de empresas para a produção e comercialização de produtos à base de NEPs para uso em culturas de alto valor comercial ou naquelas em que o uso de inseticidas químicos não é adequado. Além disso, as descobertas de novas espécies propiciam ainda mais investimentos para condução de pesquisa e implementação do uso destes inimigos naturais de forma competitiva com produtos químicos.

No Brasil, após levantamento em áreas de citros em 14 municípios do estado de São Paulo (Américo Brasiliense, Araraquara, Barretos, Botucatu, Casa Branca, Guarantã, Itajú, Jaboticabal, Matão, Monte Alto, Olímpia, Pederneiras, Pongai e Taquaritinga), foi encontrado o nematóide entomopatogênico do gênero *Heterorhabditis* em 7 regiões que foram realizados os levantamentos, sendo elas: Casa Branca, Pongaraí, Pederneiras, Itajú, Olímpia, Jaboticabal e Guarantã, sugerindo que sejam realizados mais estudos para incrementar a descoberta de populações com o intuito de utilizá-los no controle de pragas dessa cultura (Paiva et al., 2003).

Segundo Goulart et al. (2003), mais de 20 isolados de nematóides dos gêneros *Steinernema* e *Heterorhabditis* já foram encontrados em diferentes regiões do estado de São Paulo, sendo estes armazenados no banco de entomopatogenos “Oldemar Cardim Abreu” pertencente ao Instituto Biológico em Campinas, SP, visando o estudo destes agentes no controle de pragas agrícolas.

Paron et al. (2003) avaliaram a patogenicidade de *Steinernema carpocapsae*, *S. glaseri* e *Heterorhabditis* sp. a larvas de *Phyllophaga triticophaga*, sendo

verificado após 10 dias de avaliação, que *S. glaseri* causou mortalidade acumulada de 93,33% de *P. triticophaga*. Os nematóides *S. carpocapsae* e *Heterorhabditis* sp. causaram mortalidade acumulada deste inseto praga de 46,67% e 43,33%, respectivamente.

Acevedo et al. (2005) obtiveram através de coleta de solo na região de Lavras/MG, os isolados JPM3, JPM3.1 e JPM4. Estes isolados demonstraram uma virulência superior a 89% quando aplicados em lagartas de *Galleria mellonella* para teste de patogenicidade.

Leite et al. (2006) avaliaram a suscetibilidade de larvas de “Fungus gnats” a *Heterorhabditis indica* e a *Bacillus thuringiensis israelensis* (Bti) em laboratório. Constataram que *H. indica* foi mais eficiente causando 80% de mortalidade em larvas de “Fungus gnats” em relação ao Bti que obteve 24% de mortalidade sendo semelhante à testemunha com 26%.

CAPÍTULO I

“Suscetibilidade de *Cornitermes cumulans* (Kollar, 1832) a Isolados de Nematóides Entomopatogênicos”.

Suscetibilidade de *Cornitermes cumulans* (Kollar, 1832) a Isolados de Nematóides Entomopatogênicos*

JULIANA MAGRINELLI OSÓRIO ROSA^{1*}; SILVIA RENATA SICILIANO WILCKEN¹;
MARINEIDE MENDONÇA AGUILLERA² & LUÍS GARRIGÓS LEITE³

* Parte da Dissertação de Mestrado do primeiro autor.

¹ Depto. de Produção Vegetal, Setor de Defesa Fitossanitária, Faculdade de Ciências Agronômicas - UNESP, 18610-307, Botucatu (SP), Brazil, e-mail: jmorosa@fca.unesp.br

² Depto. de Biotecnologia Vegetal, CCA/UFSCar, 13600-970, Araras (SP).

³ Instituto Biológico, Centro Experimental do Instituto Biológico, 13001-970, Campinas (SP).

Resumo - Rosa, J.M.O.; S.R.S. Wilcken; M.M. Aguillera & L.G. Leite. 2006. Suscetibilidade de *Cornitermes cumulans* (Kollar, 1832) a isolados de nematóides entomopatogênicos.

Cinco experimentos foram conduzidos em condições de laboratório para verificar a suscetibilidade das castas (operários e soldados) de *Cornitermes cumulans* a 12 isolados de nematóides entomopatogênicos: *Steinernema carpocapsae*, *Steinernema glaseri* Santa Rosa, *Heterorhabditis* sp. CCA/UFSCar, *Heterorhabditis indica* CB – n05, *Steinernema* sp. CB – n06, *Steinernema* sp. CB – n08, *Steinernema* sp. CB – n09, *Heterorhabditis* sp. CB – n10, *Heterorhabditis* sp. CB – n13, *Steinernema* sp. CB – n15, *Heterorhabditis* sp. CB – n23 e *Steinernema* sp. CB – n25. Dez repetições com cinco insetos cada, para ambas castas, foram utilizadas nos tratamentos com e sem nematóides. As avaliações foram realizadas diariamente e a mortalidade acumulada foi determinada. Cada inseto morto foi dissecado e a presença do nematóide foi confirmada. Em todos experimentos, uma maior mortalidade de ambas castas de *C. cumulans* foi verificada com o isolado de *S. carpocapsae* comparado aos outros isolados.

Palavras-chave: Nematóides entomopatogênicos, *Cornitermes cumulans*, controle biológico.

Summary - Rosa, J.M.O.; S.R.S. Wilcken; M.M. Aguilera & L.G. Leite. 2006. Suscetibility of *Cornitermes cumulans* (Kollar, 1832) to entomopathogenic nematodes isolates.

Five experiments were conducted in laboratory conditions to verify the susceptibility of *C. cumulans* castes (workers and soldiers) to 12 entomopathogenic nematodes isolates: *Steinernema carpocapsae*, *Steinernema glaseri* Santa Rosa, *Heterorhabditis* sp. CCA/UFSCar, *Heterorhabditis indica* CB – n05, *Steinernema* sp. CB – n06, *Steinernema* sp. CB – n08, *Steinernema* sp. CB – n09, *Heterorhabditis* sp. CB – n10, *Heterorhabditis* sp. CB – n13, *Steinernema* sp. CB – n15, *Heterorhabditis* sp. CB – n23 and *Steinernema* sp. CB – n25. Ten replication with five insects each, for both castes, were used for the treatments. The evaluations were done daily and accumulated mortality was determined. Each dead insect was dissected and the presence of nematodes was confirmed. For all experiments, higher mortality of both castes of *C. cumulans* was verified for *S. carpocapsae* nematode compared to the others isolates.

Keywords: Entomopathogenic nematodes, *Cornitermes cumulans*, biological control.

Introdução

Atualmente são relatadas cerca de 2.800 espécies de cupins distribuídas principalmente em regiões tropicais e subtropicais do planeta, sendo encontradas poucas espécies em regiões desérticas ou de clima temperado (Canello & Schlemmermeyer, 2006). A predominância do gênero *Cornitermes* ocorre em regiões de florestas tropicais e cerrados da América do Sul, sendo que a espécie *Cornitermes cumulans* (Isoptera: Termitidae) predomina em regiões de invernos amenos e verões muito quentes (Canello, 1989).

No Brasil, esta espécie é freqüentemente encontrada no estado de São Paulo e estados vizinhos, além de prejuízos diretos em algumas culturas, como por exemplo em eucalipto e pastagens, seus montículos podem impossibilitar a atividade mecânica em áreas agrícolas infestadas, o que vem despertando a preocupação no setor agropecuário.

O controle dos cupins em áreas comerciais ainda é realizado com aplicações de produtos químicos, como por exemplos fipronil, imidaclopride, fention e fosfina (Mariconi *et al.*, 1995; Wilcken & Raetano, 1995; Valério *et al.*, 2004).

Nematóides entomopatogênicos vêm sendo comercializados em alguns países visando o controle de pragas agrícolas. São organismos que não apresentam impactos agressivos ao ambiente e aos agricultores que utilizam desse agente biológico, tornando uma opção para substituição ou associação com produtos químicos, quando possível de serem empregados.

Outro atributo que qualifica esse agente biológico para o controle de pragas é sua capacidade de matar rapidamente o inseto, uma vez que possui o complexo nematóide/bactéria simbiótica (Ferraz, 1998).

Levantamentos para a detecção de populações de nematóides entomopatogênicos em solos brasileiros vêm sendo efetuado. Alguns dos isolados encontrados tem sido objeto de estudos, demonstrando-se infectivos, em condições de laboratório, à pragas como *Migdolus fryanus*, na cana-de-açúcar, o bicho-furão (*Ecyitolopha aurantiana*) em citros, o gorgulho da cana-de-açúcar (*Sphenophorus levis*) e o moleque da bananeira (*Cosmopolites sordidus*).

A fim de verificar o potencial de utilização desses nematóides como agente de controle biológico de cupim, o presente trabalho teve como objetivo avaliar a suscetibilidade de operários e soldados de *Cornitermes cumulans* a diferentes isolados de nematóides das famílias Steinernematidae e Heterorhabditidae, em condições de laboratório.

Material e métodos

O presente trabalho foi realizado no laboratório de Nematologia Agrícola do Departamento de Produção Vegetal da FCA/UNESP – Campus de Botucatu. Foram conduzidos cinco experimentos utilizando 12 isolados diferentes de nematóides entomopatogênicos (Tabela 01). Os isolados de *Steinernema carpocapsae*, *Steinernema glaseri* Santa Rosa e *Heterorhabditis* sp. CCA/UFSCar foram obtidos a partir de população inicial fornecida pelo Departamento de Biotecnologia Vegetal da UFSCar – Campus de

Araras, SP. Os demais isolados foram cedidos pelo Laboratório de Controle Biológico, mantidos pelo Banco de entomopatógenos “Oldemar Cardim Abreu”, pertencente ao Instituto Biológico em Campinas, SP.

Tabela 01 – Identificação e procedência dos isolados de nematóides entomopatogênicos.

Código	Gênero e espécies	Ambiente	Origem/região	Coleta
Santa Rosa	<i>S. glaseri</i>	Lavoura de cana-de-açúcar	Santa Rosa do Viterdo, SP	*
	<i>S. carpocapsae</i>	University of Flórida/FL - USA	University of Flórida, FL - USA	*
CCA/UFSCar	<i>Heterorhabditis</i> sp.	Lavoura de milho	Araras, SP	*
CB – n05	<i>Heterorhabditis indica</i>	Pomar de citros	Itapetininga, SP	Fev/2002
CB – n06	<i>Steinernema</i> sp.	Beira de rio - Apa	Porto Murtinho, MT	Out/2001
CB – n08	<i>Steinernema</i> sp.	Pomar de citros	Itapetininga, SP	Fev/2002
CB – n09	<i>Steinernema</i> sp.	Floresta nativa	Porto Murtinho, MT	Fev/2003
CB – n10	<i>Heterorhabditis</i> sp.	Pomar de manga	Santa Fé do Sul, SP	Fev/2003
CB – n13	<i>Heterorhabditis</i> sp.	Seringal	Pindorama, SP	Fev/2003
CB – n15	<i>Steinernema</i> sp.	Reserva florestal	Teodoro Sampaio, SP	Fev/2003
CB – n23	<i>Heterorhabditis</i> sp.	Lavoura de cana-de-açúcar	Lins, SP	Fev/2003
CB – n25	<i>Steinernema</i> sp.	Reserva florestal	Mogi Guaçu(4), SP	Mar/2004

* dados desconhecidos

A multiplicação dos isolados foi feita utilizando-se lagartas de *Galleria mellonella*, e a extração dos juvenis infectantes feita com o auxílio de armadilha de White (White, 1927), seguido pelo método de Baermann (Southey, 1970). O armazenamento dos juvenis infectantes foi no máximo de cinco dias, antes da instalação dos experimentos.

O trabalho foi dividido em cinco experimentos, que seguiram a mesma metodologia, exceto para o primeiro experimento que diferiu dos experimentos seguintes, no volume da suspensão, na temperatura; no número de tratamentos e conseqüentemente no número total de parcelas.

Os operários e soldados de *Cornitermes cumulans* foram coletados em pastagens próximas a Fazenda Experimental Lageado, pertencente à Faculdade de Ciências Agronômicas/UNESP, na região de Botucatu/SP.

Nos experimentos foi mantida uma placa de Petri contendo cinco lagartas de *Galleria mellonella* para cada isolado testado, sendo estas inoculadas com seu respectivo isolado para a verificação da infectividade dos mesmos.

O isolado *S. carpocapsae* foi utilizado como padrão em todos os experimentos conduzidos.

Primeiro experimento

O experimento foi constituído de quatro tratamentos para os operários e soldados: 1,5 ml de suspensão com 5.000 juvenis infectivos (JI) de *Steinernema carpocapsae*; 1,5 ml de suspensão com 5.000 JI de *S. glaseri* Santa Rosa; 1,5 ml de suspensão com 5.000 JI de *Heterorhabditis* sp. CCA/UFSCar e a testemunha (1,5 ml de água destilada). Os tratamentos foram compostos por 10 repetições. Cada parcela foi constituída por uma placa de Petri com papel de filtro umedecida com água ou suspensão de nematóide contendo cinco insetos cada, totalizando 80 parcelas (60 parcelas com nematóides e 20 parcelas sem nematóides). As placas foram mantidas em BOD na temperatura de 25°C. As avaliações foram realizadas a cada 24 horas, sendo que em cada avaliação os insetos mortos foram contados, separados e acondicionados individualmente em placa de Petri de 2 cm de diâmetro, com papel filtro umedecido e mantidas a 25°C no escuro. Após 4 dias da morte, cada cupim acondicionado foi dissecado e examinado para avaliação da presença do nematóide no inseto.

Segundo ao quinto experimento

Os demais experimentos foram conduzidos de maneira semelhante ao primeiro, diferindo no volume da suspensão, sendo de 2ml; na temperatura de condução (24°C); número de tratamentos e conseqüentemente o número total de parcelas. Os tratamentos utilizados foram: *S. carpocapsae*, *S. glaseri* Santa Rosa, *Heterorhabditis indica* CB – n05, *Steinernema* sp. CB – n06 e testemunha, para o segundo experimento; *S.*

carpocapsae, *Steinernema* sp. CB – n09, *Heterorhabditis* sp. CB – n10, *Heterorhabditis* sp. CB – n23 e testemunha, para o terceiro experimento; *S. carpocapsae*, *Steinernema* sp. CB – n08, *Steinernema* sp. CB – n15, *Steinernema* sp. CB – n25 e testemunha, para o quarto experimento; e no quinto experimento, os tratamentos utilizados foram *S. carpocapsae*, *Heterorhabditis indica* CB – n05, *Heterorhabditis* sp. CB – n13 e testemunha.

Análise estatística

Os dados de mortalidade diária foram utilizados para cálculo da porcentagem de mortalidade acumulada dos insetos testados, os quais foram transformados em $\sqrt{x} + 0,5$, submetidos a análise de variância, sendo as médias comparadas pelo teste de Tukey a 5%, utilizando o programa computacional Sanest.

Resultados e discussão

Primeiro experimento

O isolado *S. carpocapsae*, para operários, proporcionou mortalidade acumulada de 86% no 5º dia de avaliação, diferindo dos demais isolados (Figura 01). No 9º dia, *S. carpocapsae* causou 100% de mortalidade acumulada dos operários. Os isolados *Heterorhabditis* sp. CCA/UFSCar e *S. glaseri* Santa Rosa apresentaram mortalidade acumulada de 48 e 26%, respectivamente, não diferindo da mortalidade acumulada de 36% da testemunha de operários. Entretanto, para soldados (Figura 02), *S. carpocapsae* e *Heterorhabditis* sp. CCA/UFSCar mostraram-se eficientes no controle de *C. cumulans* apresentando, assim, 100% de mortalidade acumulada, no 1º dia, para *S. carpocapsae* e 84% de mortalidade acumulada, no 2º dia, para *Heterorhabditis* sp. CCA/UFSCar. No 7º dia, *S. glaseri* Santa Rosa proporcionou, para os soldados, uma mortalidade acumulada de 78% não diferindo dos resultados obtidos pelos demais isolados. Na testemunha dos soldados, a mortalidade acumulada foi de 26% no 7º dia de avaliação até o encerramento do experimento, no 10º dia. Com base nos resultados, os operários de *C. cumulans* mostraram-se mais suscetíveis a *S. carpocapsae* do que a *S. glaseri* Santa Rosa e *Heterorhabditis* sp.

CCA/UFSCar. Para os soldados não ocorreu diferença significativa entre os isolados testados no 7º dia, entretanto, os isolados *S. carpocapsae* e *Heterorhabditis* sp. CCA/UFSCar proporcionaram alta mortalidade dos soldados em um menor tempo comparando ao isolado *S. glaseri* Santa Rosa.

Após a dissecação dos insetos (Tabela 02), foram encontrados nematóides em todos os insetos dos tratamentos com nematóides, confirmando a infecção dos nematóides testados em *C. cumulans*.

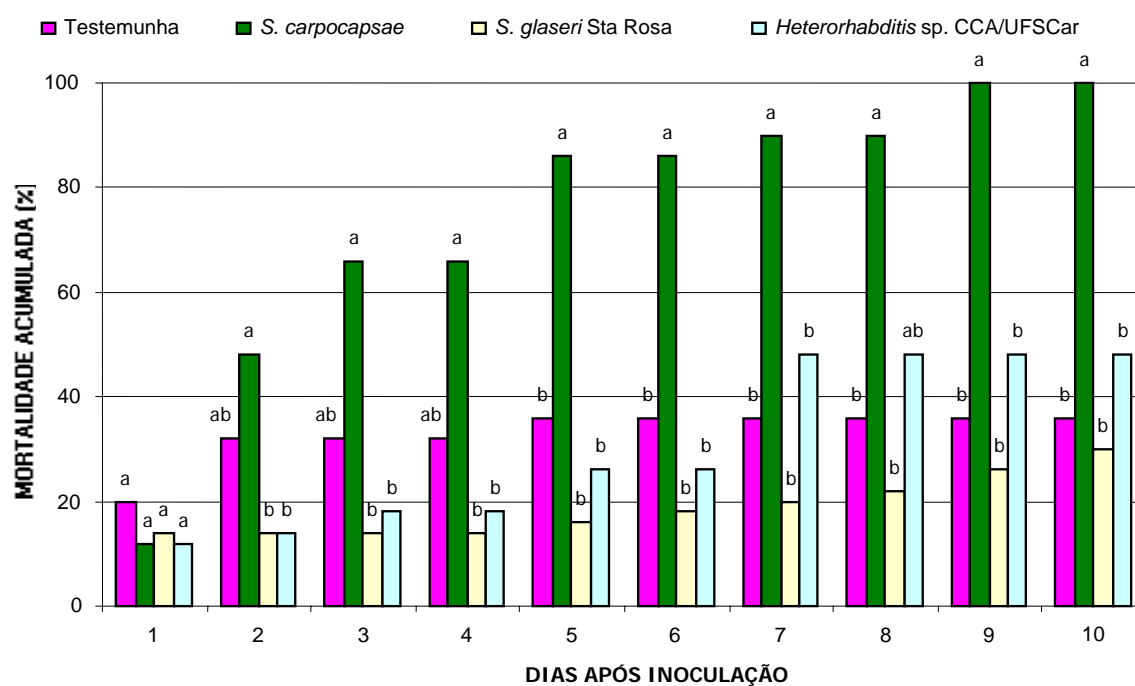


Figura 01 – Mortalidade acumulada (%) dos operários de *C. cumulans* expostos aos isolados *S. carpocapsae*, *S. glaseri* Santa Rosa e *Heterorhabditis* sp. CCA/UFSCar, e testemunha, durante 10 dias de avaliação. Médias seguidas de mesma letra, não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5%, comparadas no mesmo dia de avaliação.

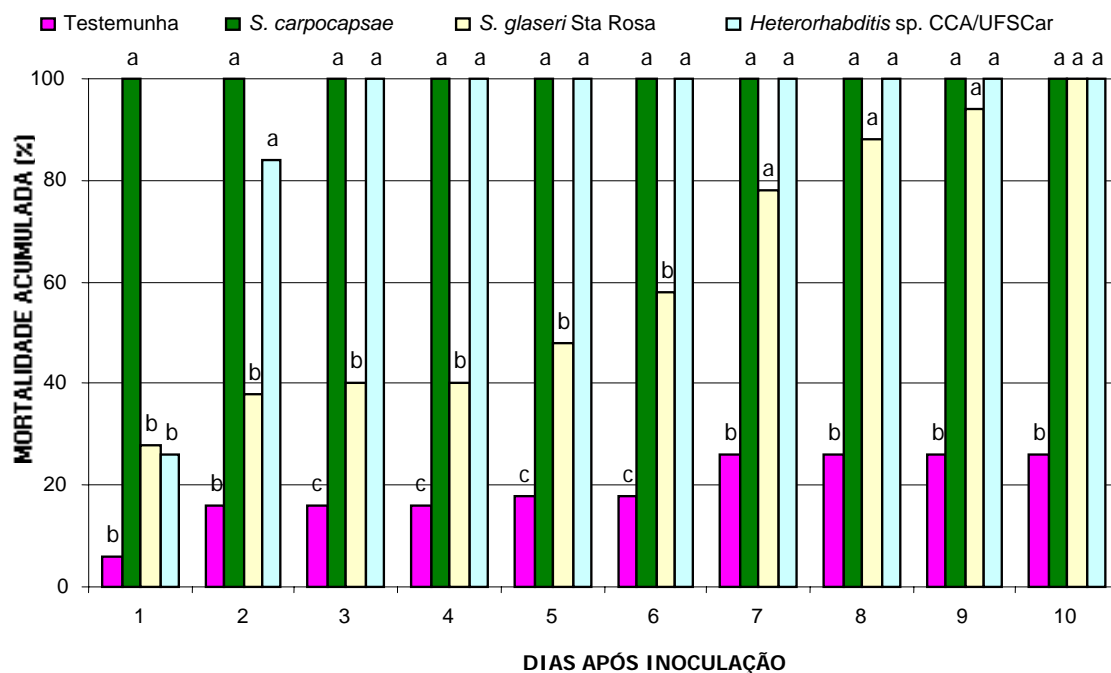


Figura 02 – Mortalidade acumulada (%) dos soldados de *C. cumulans* aos isolados *S. carpocapsae*, *S. glaseri* Santa Rosa e *Heterorhabditis* sp. CCA/UFSCar, e testemunha, durante 10 dias de avaliação. Médias seguidas de mesma letra, não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5%, comparadas no mesmo dia de avaliação.

Tabela 02 – Número médio de nematóides encontrados por inseto morto, após exposição desses agentes às castas de operários e soldados do cupim de montículo (*Cornitermes cumulans*).

nematóide	Operários		Soldados	
	Jl	A	Jl	A
<i>S. carpocapsae</i>	530,1	17,1	9,9	2,0
<i>S. glaseri</i> Santa Rosa	987,0	19,6	502,3	10,6
<i>Heterorhabditis</i> sp. CCA/UFSCar	28,3	13,7	184,8	18,3

Jl - juvenis infectantes; A - adultos

Segundo experimento

Para os operários (Figura 03), *S. carpocapsae* proporcionou maior mortalidade acumulada, 32% no 1º dia, diferindo da mortalidade dos demais isolados. No 9º dia de avaliação, *S. carpocapsae* apresentou 100% de mortalidade acumulada, não diferindo da mortalidade de 60%, pertencente ao isolado *H. indica* CB – n05. A mortalidade acumulada de *S. glaseri* Santa Rosa foi de 46%, no 10º dia, não diferindo dos resultados obtidos para *Heterorhabditis indica* CB – n05 com 64% e *Steinernema* sp. CB – n06 com 54%. A testemunha dos operários apresentou 14% de mortalidade acumulada no 10º dia de avaliação, diferindo da mortalidade verificada para os demais isolados.

Para os soldados, o isolado *S. carpocapsae* apresentou mortalidade acumulada de 100% no 1º dia de avaliação (Figura 04). No 3º dia a mortalidade acumulada de 68% do isolado *H. indica* CB – n05, não diferiu daquela apresentada por *S. carpocapsae*. Enquanto para *S. glaseri* Santa Rosa, isso ocorreu no 5º dia, com 90% e no 7º dia para *Steinernema* sp. CB – n06 com 80%. No 7º dia, a testemunha dos soldados apresentou mortalidade acumulada de 76%, assim sendo, os resultados obtidos para o isolado *Steinernema* sp. CB – n06 não diferiram daqueles obtidos na testemunha dos soldados.

Todos os insetos dissecados apresentaram nematóides, comprovando que a mortalidade ocorrida foi resultante da infecção dos agentes inoculados (Tabela 03).

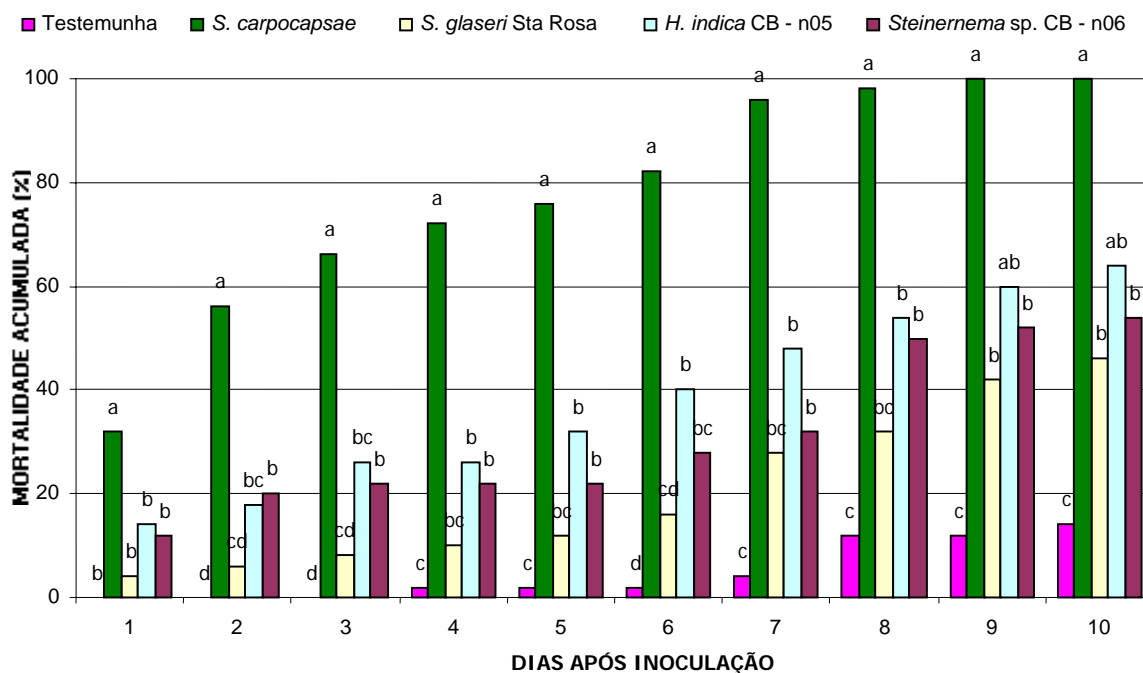


Figura 03 – Mortalidade acumulada (%) dos operários de *C. cumulans* expostos aos isolados *S. carpocapsae*, *S. glaseri* Santa Rosa, *H. indica* CB – n05 e *Steinernema* sp. CB – n06, e testemunha, durante 10 dias de avaliação. Médias seguidas de mesma letra, não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5%, comparadas no mesmo dia de avaliação.

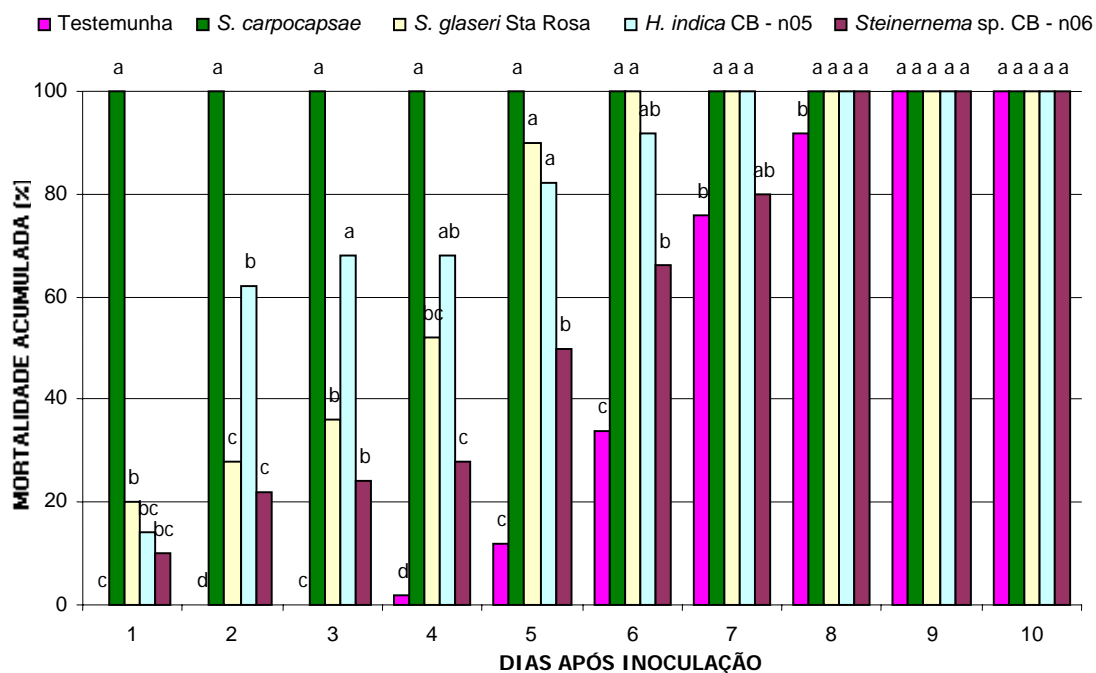


Figura 04 – Mortalidade acumulada (%) dos soldados de *C. cumulans* expostos aos isolados *S. carpocapsae*, *S. glaseri* Santa Rosa, *H. indica* CB – n05 e *Steinernema* sp. CB – n06, e testemunha, durante 10 dias de avaliação. Médias seguidas de mesma letra, não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5%, comparadas no mesmo dia de avaliação.

Tabela 03 – Número médio de nematóides encontrados por inseto morto, após exposição desses agentes às castas de operários e soldados do cupim de montículo (*Cornitermes cumulans*).

nematóide	Operários		Soldados	
	Jl	A	Jl	A
<i>S. carpocapsae</i>	445,6	4,5	18,7	*
<i>S. glaseri</i> Santa Rosa	846,0	*	29,6	*
<i>Heterorhabditis indica</i> CB – n05	25,9	*	58,4	4,0
<i>Steinernema</i> sp. CB – n06	19,0	4,4	57,4	*

Jl - juvenis infectantes; A - adultos; * não foram encontrados nematóides

Terceiro experimento

Neste experimento, *S. carpocapsae* proporcionou mortalidade acumulada de 100% no 4º dia de avaliação, diferindo da mortalidade dos demais isolados e da testemunha dos operários (Figura 05). Assim, nessa avaliação, a mortalidade dos isolados *Heterorhabditis* sp. CB – n10, *Steinernema* sp. CB – n09 e *Heterorhabditis* sp. CB – n23 foram de 12, 18 e 24% e para a testemunha dos operários foi de 12%.

No 10º dia foi verificado que o isolado *Steinernema* sp. CB – n09 proporcionou 58% de mortalidade acumulada dos operários, sendo esta mortalidade semelhante à mortalidade acumulada de *S. carpocapsae*. Contudo, a mortalidade proporcionada por *Steinernema* sp. CB – n09 e *Heterorhabditis* sp. CB – n23 não diferiu da mortalidade causada pelo isolado *Heterorhabditis* sp. CB – n10. A testemunha dos operários no 10º dia apresentou mortalidade acumulada de 12%, não diferindo apenas daquela apresentada por *Heterorhabditis* sp. CB – n10.

A mortalidade acumulada dos soldados proporcionada por *S. carpocapsae* foi de 100%, no 1º dia (Figura 06). Contudo, no 2º dia de avaliação, a mortalidade acumulada dos soldados causadas pelos isolados *Heterorhabditis* sp. CB – n10 e *Heterorhabditis* sp. CB – n23 não diferiu daquela causada por *S. carpocapsae*, sendo elas de 64 e 96%, respectivamente. No 6º dia, o mesmo ocorreu para o tratamento com *Steinernema* sp. CB – n09, atingindo 70% de mortalidade acumulada. A testemunha dos soldados apresentou mortalidade acumulada de 84%, no 9º dia, não diferindo da mortalidade dos demais isolados.

Após a dissecação, todos os insetos nos tratamentos com nematóides, apresentaram a presença de nematóides em seu interior, comprovando que a morte dos mesmos foi causada pelos agentes testados (Tabela 04).

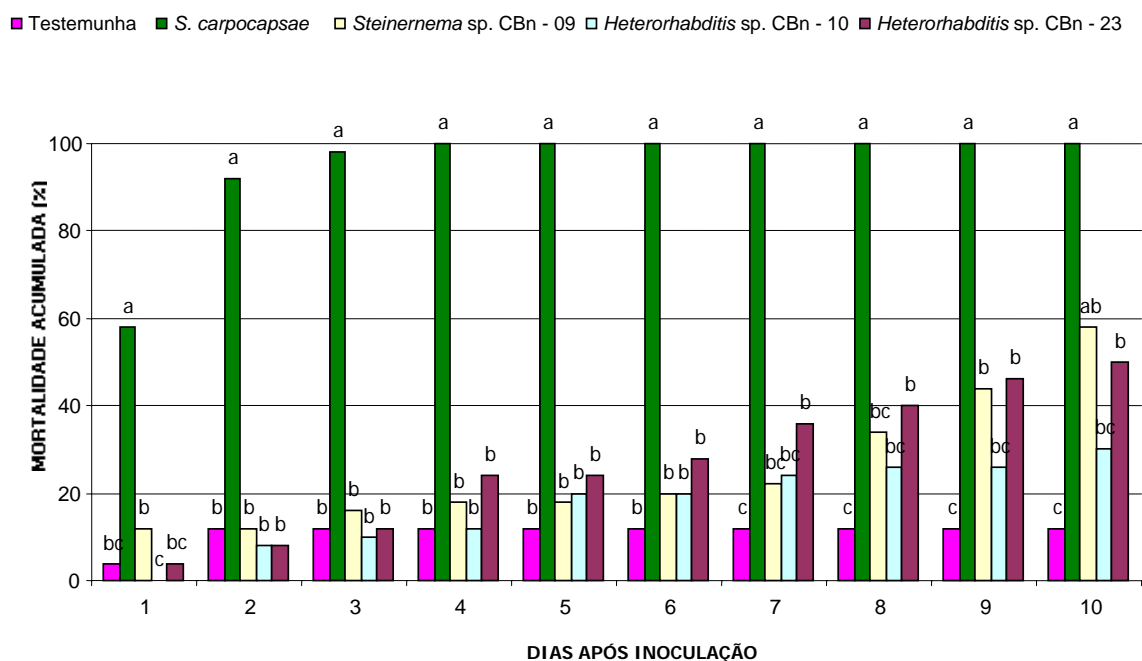


Figura 05 – Mortalidade acumulada (%) dos operários de *C. cumulans* expostos aos isolados *S. carpocapsae*, *Steinernema* sp. CB – n09, *Heterorhabditis* sp CB – n10, *Heterorhabditis* sp CB – n23, e testemunha, durante 10 dias de avaliação. Médias seguidas de mesma letra, não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5%, comparadas no mesmo dia de avaliação.

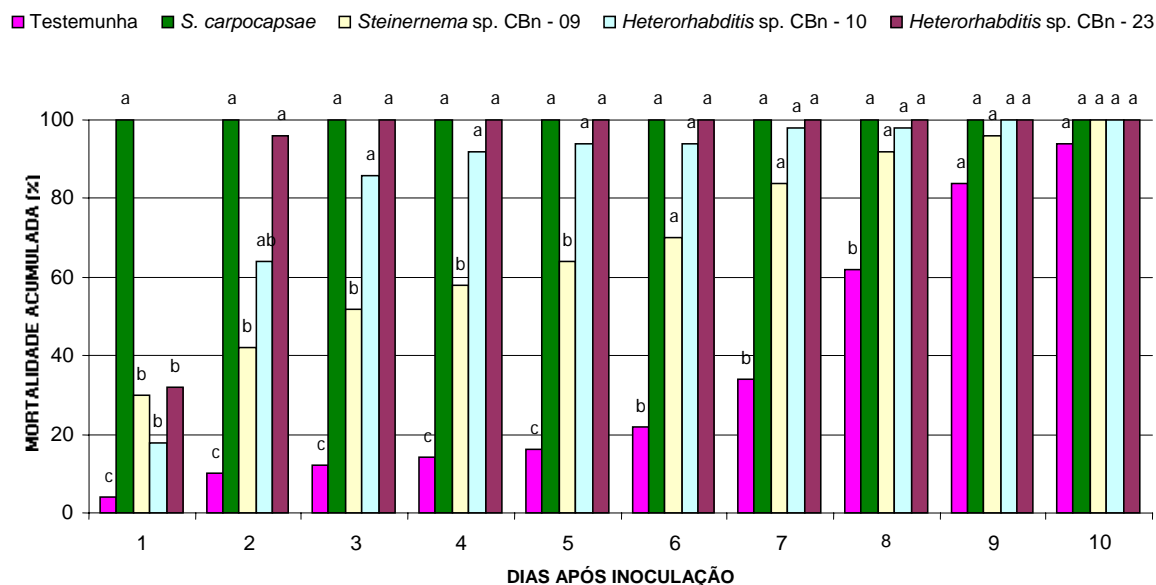


Figura 06 – Mortalidade acumulada (%) dos soldados de *C. cumulans* expostos aos isolados *S. carpocapsae*, *Steinernema* sp. CB – n09, *Heterorhabditis* sp CB – n10, *Heterorhabditis* sp. CB – n23, e testemunha, durante 10 dias de avaliação. Médias seguidas de mesma letra, não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5%, comparadas no mesmo dia de avaliação.

Tabela 04 – Número médio de nematóides encontrados por inseto morto após exposição desses agentes às castas de operários e soldados do cupim de montículo (*Cornitermes cumulans*).

nematóides	Operários		Soldados	
	Jl	A	Jl	A
<i>S. carpocapsae</i>	263,6	*	12,2	*
<i>Steinernema</i> sp. CB – n09	157,2	*	10,5	*
<i>Heterorhabditis</i> sp. CB – n10	45,9	*	21,2	2,3
<i>Heterorhabditis</i> sp. CB – n23	87,4	*	21,5	*

Jl - juvenis infectantes; A - adultos; * não foram encontrados nematóides

Quarto experimento

S. carpocapsae proporcionou mortalidade acumulada de 100% no 4º dia após inoculação, para os operários (Figura 07), entretanto, para os demais isolados e testemunha dos operários, tal mortalidade mostrou-se inexpressiva, sendo de 4, 12, 16, 30% para *Steinernema* sp. CB – n25, testemunha, *Steinernema* sp. CB – n08 e *Steinernema* sp. CB – n15, respectivamente. No 9º dia, o isolado *Steinernema* sp. CB – n15 proporcionou mortalidade acumulada de 70% não diferindo daquela obtida por *S. carpocapsae*. Contudo, os isolados *Steinernema* sp. CB – n08 e *Steinernema* sp. CB – n25 não proporcionaram mortalidade acumulada significativa em comparação com *S. carpocapsae* e *Steinernema* sp. CB – n15.

Para os soldados (Figura 08), *S. carpocapsae* causou mortalidade acumulada de 100%, no 1º dia de avaliação, diferindo da mortalidade proporcionada pelos isolados *Steinernema* sp. CB – n25, *Steinernema* sp. CB – n08, *Steinernema* sp. CB – n15 e pela testemunha, sendo esta mortalidade de 12, 14, 36 e 4%, respectivamente. No 3º dia para o isolado *Steinernema* sp. CB – n15 e no 7º dia para o isolado *Steinernema* sp. CB – n08, a mortalidade acumulada destes isolados foi de 66 e 64%, não diferindo da mortalidade obtida por *S. carpocapsae*. No 9º dia, a testemunha dos soldados apresentou mortalidade acumulada de 84%, não diferindo daquela dos demais isolados, exceto do *Steinernema* sp. CB – n25 que apresentou 52%, diferindo dos resultados de mortalidade acumulada dos demais tratamentos (com e sem nematóide).

Após a dissecação dos insetos (Tabela 05), foram encontrados nematóides em todos os insetos inoculados, verificando a infecção dos nematóides em *C. cumulans*.

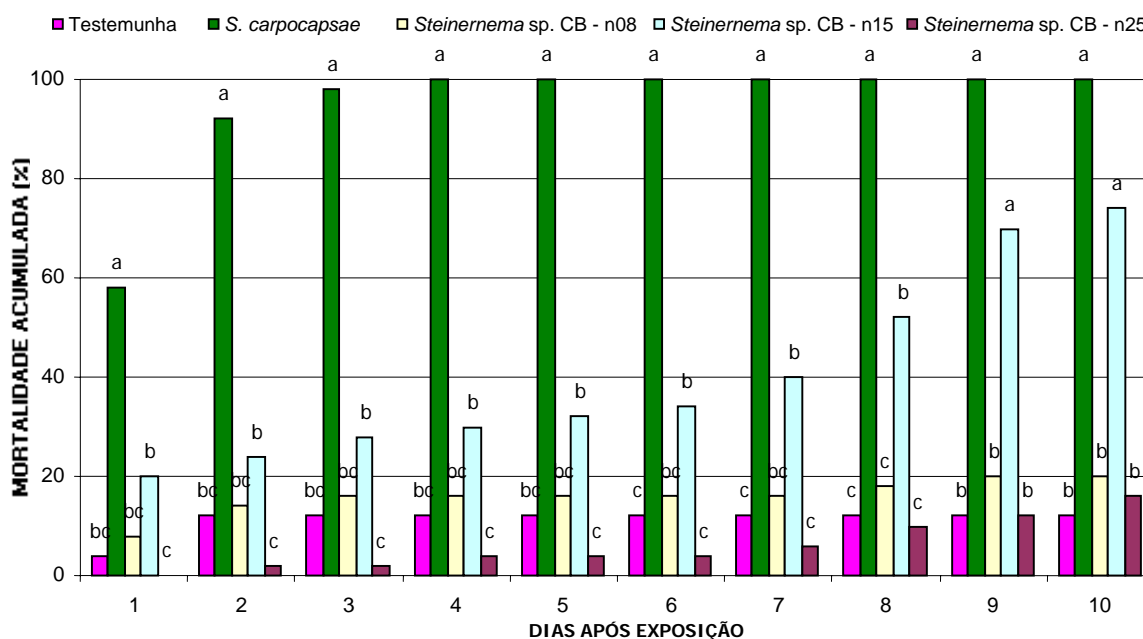


Figura 07 – Mortalidade acumulada (%) dos operários de *C. cumulans* expostos aos isolados *S. carpocapsae*, *Steinerinema* sp. CB – n08, *Steinerinema* sp. CB – n15 e *Steinerinema* sp. CB – n25, e testemunha, durante 10 dias de avaliação. Médias seguidas de mesma letra, não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5%, comparadas no mesmo dia de avaliação.

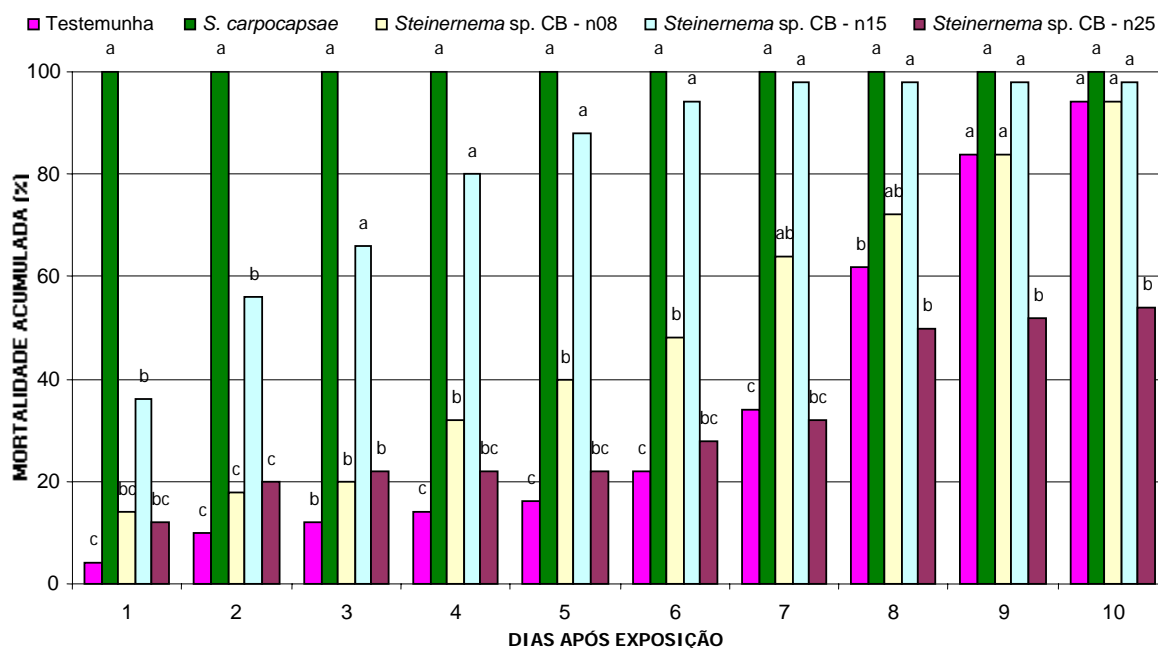


Figura 08 – Mortalidade acumulada (%) dos soldados de *C. cumulans* expostos aos isolados *S. carpocapsae*, *Steinernema* sp. CB – n08, *Steinernema* sp. CB – n15 e *Steinernema* sp. CB – n25, e testemunha, durante 10 dias de avaliação. Médias seguidas de mesma letra, não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5%, comparadas no mesmo dia de avaliação.

Tabela 05 – Número médio de nematóides encontrados por inseto morto após exposição desses agentes às castas de operários e soldados do cupim de montículo (*Cornitermes cumulans*).

nematóide	Operários		Soldados	
	Jl	A	Jl	A
<i>S. carpocapsae</i>	359,2	58,2	7,9	0,6
<i>Steinernema</i> sp. CB – n08	243,2	2,0	58,6	46,0
<i>Steinernema</i> sp. CB – n15	15,9	0,4	1,6	2,3
<i>Steinernema</i> sp. CB – n25	12,6	1,0	6,6	1,0

Jl - juvenis infectantes; A - adultos

Quinto experimento

No 1º dia de avaliação dos operários, *S. carpocapsae* apresentou mortalidade acumulada de 52% diferindo significativamente da mortalidade dos demais isolados (Figura 09). No 3º dia, *S. carpocapsae* proporcionou mortalidade acumulada de 100%, diferindo da mortalidade dos isolados *H. indica* CB – n05 e *Heterorhabditis* sp. CB – n13 com 52 e 24%, respectivamente. O isolado *H. indica* CB – n05 proporcionou para os operários mortalidade acumulada de 64% no 6º dia, que não diferiu dos resultados obtidos por *S. carpocapsae*. O mesmo ocorreu com o isolado *Heterorhabditis* sp. CB – n13, no 7º dia de avaliação, que apresentou mortalidade acumulada de 74%.

No 1º dia, a mortalidade acumulada dos soldados foi de 100% para *S. carpocapsae*, diferindo significativamente da mortalidade acumulada causada por *H. indica* CB – n05 e *Heterorhabditis* sp. CB – n13, sendo estas de 32 e 64%, respectivamente (Figura 10). Porém, no 2º dia, o isolado *Heterorhabditis* sp. CB – n13 que proporcionou mortalidade acumulada de 90% e o isolado *H. indica* CB – n05 que proporcionou mortalidade acumulada de 92%, apresentaram alta taxa de mortalidade acumulada, não diferindo daquelas obtidas por *S. carpocapsae*. Em todos insetos dissecados foram encontrados nematóides confirmando a morte dos insetos pelos agentes testados (Tabela 06).

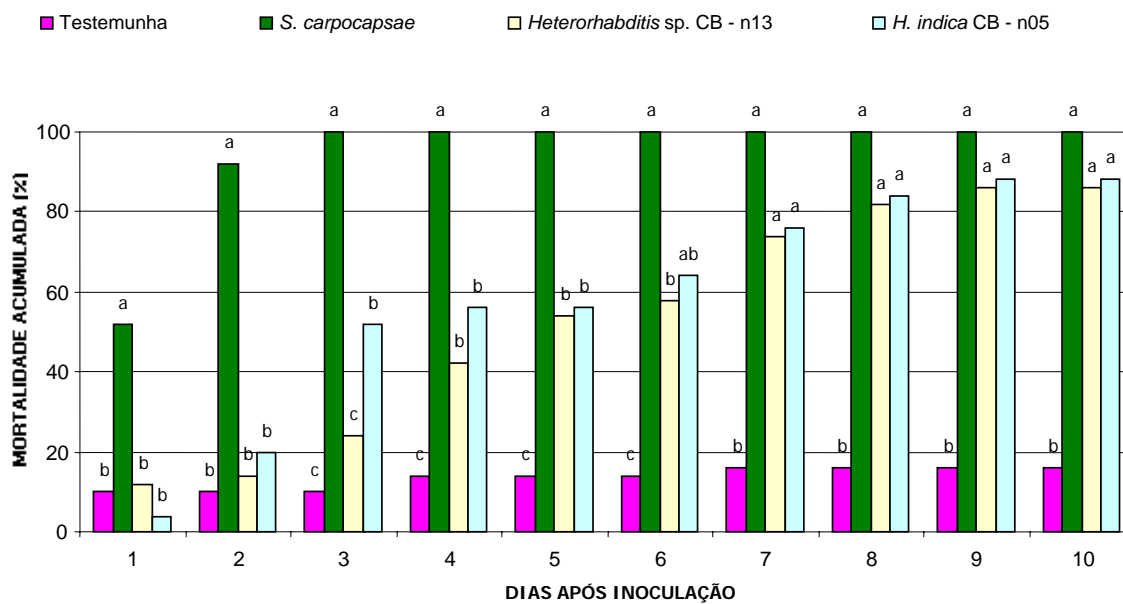


Figura 09 – Mortalidade acumulada (%) dos operários de *C. cumulans* aos isolados de *S. carpocapsae*, *H. indica* CB – n05, *Heterorhabditis* sp. CB – n13, e testemunha, durante 10 dias de avaliação. Médias seguidas de mesma letra, não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5%, comparadas no mesmo dia de avaliação.

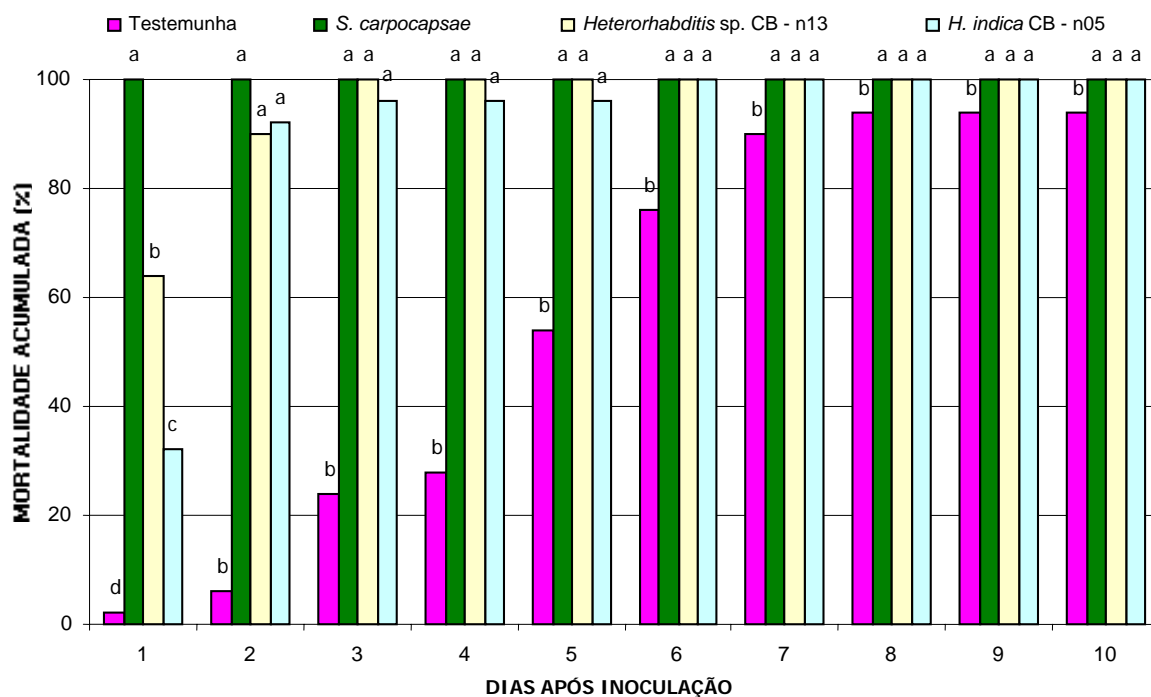


Figura 10 – Mortalidade acumulada (%) dos soldados de *C. cumulans* aos isolados de *S. carpocapsae*, *H. indica* CB – n05, *Heterorhabditis* sp. CB – n13, e testemunha, durante 10 dias de avaliação. Médias seguidas de mesma letra, não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5%, comparadas no mesmo dia de avaliação.

Tabela 06 – Número médio de nematóides encontrados por inseto morto após exposição desses agentes às castas de operários e soldados do cupim de montículo (*Cornitermes cumulans*).

nematóide	Operários		Soldados	
	Jl	A	Jl	A
<i>S. carpocapsae</i>	435,6	12,1	23,5	2,0
<i>H. indica</i> CB – n05	28,3	*	46,9	2,6
<i>Heterorhabditis</i> sp. CB – n13	24,4	1,5	2,6	0,3

Jl - juvenis infectantes; A - adultos; * não foram encontrados nematóides

Os resultados obtidos em todos os experimentos realizados demonstram que o isolado de *S. carpocapsae* diferiu significativamente dos demais isolados estudados, quanto à mortalidade acumulada, desde o 1º dia após sua inoculação, para ambas castas, de *C. cumulans*, mostrando ser um agente bastante virulento contra esse inseto quando testado em condições de laboratório. Tal resultado corrobora com aqueles obtidos por Souza (2006), que verificou que *S. feltiae* e *S. carpocapsae* são mais virulentos contra *C. cumulans* do que os demais isolados testados em laboratório. Segundo relatos de Passos & Alves citado por Grewal *et al.* (2001), a espécie *S. carpocapsae* causou alta mortalidade dos operários e soldados de cupins da espécie *Heterotermes tenuis*.

Andaló *et al.* (2004) também constataram que a espécie *S. carpocapsae* causou maior mortalidade em menor tempo nas fêmeas adultas da cochonilha-da-raiz-do-cafeeiro (*Dysmicoccus texensis*). Rosales & Suarez (1998) constataram alta patogenicidade da espécie *S. carpocapsae* e de alguns isolados nativos contra adultos de *Cosmopolites sordidus*.

Machado *et al.* (2006), em estudos de campo, verificaram a supressão de 45,2% da população de *Migdolus fryanus* em cana-de-açúcar, com o nematóide *H. indica* CB – n05, não diferindo dos resultados obtidos no tratamento químico.

S. carpocapsae é a espécie mais promissora para ser utilizada no controle do cupim de montículo, *C. cumulans*, uma vez que ambas castas, operários e soldados, são suscetíveis a sua ação. Entretanto, pesquisa utilizando esses agentes biológicos no controle do cupim de montículo, *C. cumulans*, ainda são bastante escassas, dificultando assim, a comparação dos resultados. Portanto, faz-se necessário que mais estudos sejam realizados para que os potenciais destes agentes biológicos no controle de *C. cumulans* sejam evidenciados.

Literatura citada

ANDALÓ, V.; MOINO JUNIOR, A.; SANTA-CECILIA, L.V.C. & G.C. SOUZA. 2004. Seleção de isolados de fungos e nematóides entomopatogênicos para a cochonilha-da-raiz-do-cafeeiro *Dysmicoccus texensis* (Tinsley). Arq. Inst. Biol., São Paulo, 71(2): 181-187.

CANCELLO, E. M. 1989. Revisão de *Cornitermes* Wamann (Isoptera, Termitidae, Nasutitermitinae). São Paulo, USP, 151p. (Tese de Doutorado, Instituto de Biociências).

CANCELLO, E.M. & SCHLEMMERMEYER, T. 2006. Isoptera. In: *Animalia* (9):82-91.

FERRAZ, L.C.C.B. 1998. Nematóides entomopatogênicos. In: ALVES, S. B. (Coord.). *Controle Microbiano de Insetos*. Piracicaba: FEALQ, 2º Edição, p. 541-569.

GREWAL, P.S.; DE NARDO, E.A.B. & M. M. AGUILLERA. 2001. Entomopathogenic nematodes: potencial for exploration and use in South América. *Neotropical Entomology* 30(2):191-205.

MACHADO, L.; LEITE, L.G.; CARREGARI, L.C. & M. HABIB. 2006. Raízes ameaçadas. In: *Revista Cultivar*. p. 36-39.

MARICONI, F.A. M.; PASSOS, H.R.; GALAN, V.B.; ROCHA, M.T. & R.A.A. SILVA. 1995. Novidades no controle do cupim de monte *Cornitermes cumulans* (Kollar, 1832). In: FONTES, L.R. & BERTI FILHO, E. (ed.). *Alguns aspectos atuais da biologia e controle de cupins*. Piracicaba, FEALQ, 184p.

ROSALES, A.L.C. & H.Z. SUAREZ. 1998. Nematodos entomopatógenos como posibles agentes de control Del gorgojo negro Del plátano *Cosmopolites sordidus* (Germar 1824) (Coleóptera:Curculionidae). *Bol. Entomol. Venez.* 13(2):123-140.

SOUTHEY, J.F. 1970. *Laboratory methods for work with plant and soil nematodes*. Her Majesty's Stationery Office, Fifth edition, London. 143p.

SOUZA, C.G. 2006. Seleção de isolados de nematóides entomopatogênicos visando o controle de *Cornitermes cumulans* (Kollar, 1832) (Isoptera: Termitidae). Minas Gerais, UFLA, 41p. (Tese de Mestrado).

VALÉRIO, J.R.; MACEDO, N.; WILCKEN, C.F. & R. CONSTANTINO. 2004. Cupins em pastagens, cana-de-açúcar e plantações florestais. In: SALVADORI, J. R.; ÁVILA, C. J.; SILVA, M. T. B. da. (ed.). Pragas de solo no Brasil. Passo Fundo:Embrapa Trigo; Dourados:Embrapa Agropecuária Oeste; Cruz Alta:Fundacep Fecotrigo, p.400-456.

WILCKEN, C. F. & C.G. RAETANO, C.G. 1995. Eficiência do inseticida fipronil no controle de cupins subterrâneo (Isoptera) em eucalipto. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE ENTOMOLOGIA, XV, Caxambu. Resumos, p. 547.

WHITE, G.F. 1927. A method for obtaining infective nematode larvae from cultures. Science (66):302-303.

CAPÍTULO II

“Patogenicidade de *Steinernema carpocapsae* (Rhabditidae: Steinernematidae) ao Cupim de Montículo (*Cornitermes cumulans*) (Isoptera: Termitidae) em Colônias Artificiais”

Patogenicidade de *Steinernema carpocapsae* (Rhabditidae: Steinernematidae) ao Cupim de Montículo (*Cornitermes cumulans*) (Isoptera: Termitidae) em Colônias Artificiais*

JULIANA MAGRINELLI OSÓRIO ROSA^{1*}; SILVIA RENATA SICILIANO WILCKEN¹;
CARLOS FREDERICO WILCKEN¹ & LUÍS GARRIGÓS LEITE²

* Parte da Dissertação de Mestrado do primeiro autor.

¹ Depto. de Produção Vegetal, Setor de Defesa Fitossanitária, Faculdade de Ciências Agrônomicas - UNESP, 18610-307, Botucatu (SP), Brazil, e-mail: jmorosa@fca.unesp.br

² Instituto Biológico, Centro Experimental do Instituto Biológico, 13001-970, Campinas (SP).

Resumo - Rosa, J.M.O.; S.R.S. Wilcken; C. F. Wilcken & L.G. Leite. 2006. Patogenicidade de *Steinernema carpocapsae* (Rhabditidae: Steinernematidae) ao Cupim de Montículo (*Cornitermes cumulans*) (Isoptera: Termitidae) em Colônias Artificiais.

A patogenicidade do isolado *S. carpocapsae* as castas (operários e soldados) de *C. cumulans* foi estudado em colônias artificiais de cupins. Três experimentos foram conduzidos. Um experimento com cupim foi realizado em placas de Petri concomitante ao segundo experimento, sendo avaliado diariamente. No segundo, realizado em colônias artificiais, a suspensão de nematóide foi aplicada sobre o alimento dos cupins utilizando as concentrações de 167 e 333 JI/inseto, e no terceiro, as concentrações de 133, 267 e 533 JI/inseto foram aplicadas sobre as colônias artificiais do cupim. Ambos experimentos foram avaliados nos 1º, 5º e 9º dias após a inoculação. Cada inseto morto foi dissecado para confirmar a presença de nematóide. O isolado *S. carpocapsae* foi patogênico as castas de *C. cumulans*, em todas as formas de exposição do agente.

Palavras-chave: *Cornitermes cumulans*, patogenicidade, *Steinernema carpocapsae*, controle biológico.

Summary - Rosa, J.M.O.; S.R.S. Wilcken; C. F. Wilcken & L.G. Leite. 2006. Pathogenicity of *Steinernema carpocapsae* (Rhabditidae: Steinernematidae) to mound termite (*Cornitermes cumulans*) (Isoptera: Termitidae) in artificial colonies.

The pathogenicity of *S. carpocapsae* isolate to *C. cumulans* castes (workers and soldiers) was studied in artificial colonies of termites. Three experiments were conducted. An experiment with termite was accomplished in Petri dishes concomitant to the second experiment, it was evaluated daily. In the second, accomplished in artificial colonies, the nematode suspension was applied on the food of the termites using the concentrations of 167 and 333 JI/insect, and in the third one, the concentrations of 133, 267 and 533 JI/insect were applied on the artificial colonies of termite. Both experiments were evaluated in the 1^o, 5^o and 9^o days after the inoculation. Each dead insect was dissected to confirm the nematode presence. The *S. carpocapsae* strain was pathogenic to *C. cumulans* castes, for all forms of agent exhibition.

Keywords: *Cornitermes cumulans*, pathogenicity, *Steinernema carpocapsae*, biological control.

Introdução

O gênero *Cornitermes* ocorre principalmente nas regiões de florestas tropicais e cerrados da América do Sul e a espécie *Cornitermes cumulans* (Isoptera: Termitidae) predomina nas regiões de invernos amenos e verões muito quentes. No Brasil, esta espécie é mais freqüente nas Regiões sul e sudeste, e no Mato Grosso do Sul (Canello, 1989).

A espécie *Cornitermes cumulans* (Kollar, 1832) é mais relatada em lavouras, principalmente sob sistema de plantio direto (PD), e em pastagens. Constroem montes típicos, com estrutura externa em formato cônico irregular, variando de tamanho e

coloração, dependendo da idade e região (Cooplantio, 2003). Ninhos epígeos predominam em áreas menos sujeitas à mecanização, como as pastagens, assim caso não haja a preocupação de controlá-los, pastagens mais velhas tenderão a apresentar níveis de infestação mais elevados (Embrapa, 1996; Valério *et al.*, 2006).

Os danos da espécie *C. cumulans* aparecem quando o local apresenta altas infestações deste cupim (Pizano, 1992). Resultados semelhantes foram observados por Santos *et al.* (1996), quando em laboratório, ocorreram danos em pedaços de colmos de cana-de-açúcar em experimentação sobre preferência alimentar de *C. cumulans* e *C. snyderi*. Entretanto, em experimentos de campo, em áreas infestadas, não foram constatados danos nessa cultura.

Segundo Arrigoni *et al.* (1989), na cultura da cana-de-açúcar as espécies *Heterotermes tenuis* e *Cornitermes cumulans* são tidas como importantes pragas, pois são as mais freqüentes e de maior distribuição. Durante a colheita manual da cana-de-açúcar os montículos de *C. cumulans* são na maioria destruídos nos tratos culturais após a colheita. Contudo na colheita mecanizada, acabam sendo obstáculos reais quando atingidos pelas lâminas basais das máquinas. Assim, a atual recomendação é que se realize a destruição mecânica dos montículos seguida por controle químico, dirigidos aos montículos antes do preparo do solo (Valério *et al.*, 2004).

O controle químico dos cupins vem sendo realizado há muitos anos, sendo que, para algumas espécies, este tipo de controle ainda se constitui em um método insubstituível, como no caso dos cupins de madeira em geral (Almeida & Alves, 1995).

A utilização do controle biológico utilizando-se de fungos entomopatogênicos vem sendo desenvolvida para o controle dos cupins, entretanto ocorrem ainda controvérsias sobre a eficácia desses agentes contra essas pragas.

Nematóides entomopatogênicos têm demonstrado ser um excelente agente de controle biológico para diversas pragas já estudadas. Estes nematóides apresentam simbiose com bactérias também patogênicas a insetos, garantindo a mortalidade de insetos suscetíveis, em geral após 24 a 48 horas da sua penetração, viabilizando a utilização desses agentes entomopatogênicos em programas de controle biológico de pragas (Ferraz, 1986).

Segundo Aguilera *et al.* (2003), os nematóides entomopatogênicos dos gêneros *Steinernema* e *Heterorhabditis* continuam a despertar interesses de empresas em todo

mundo para a produção e comercialização de produtos à base de NEPs para uso em culturas de alto valor comercial ou naquelas em que o uso de inseticidas químicos não é recomendado.

Grewal (2000) relatou que *Steinernema carpocapsae* é uma das espécies mais estudada e versátil de todos os nematóides entomopatogênicos. Sua produção em larga escala é de fácil obtenção e sua capacidade de sobreviver em formulados parcialmente secos é ampla. São eficientes no controle de um amplo círculo de hospedeiros.

Andaló *et al.* (2004) realizaram bioensaio para seleção de nematóides utilizando *Heterorhabditis* sp.; *S. arenarium*, *S. carpocapsae* e *S. glaseri* em três concentrações (25, 50 e 100 nematóides/cochonilha), visando o controle de fêmeas adultas da cochonilha da raiz do cafeeiro. Esses nematóides foram aplicados em placas de Petri contendo areia e 10 cochonilhas/placa. Observaram que *S. carpocapsae* na menor concentração causou maior mortalidade (78%) em relação aos demais nematóides nas concentrações testadas, sendo esta espécie selecionada, pelos autores, por causar maior mortalidade em menor tempo, ou seja, em 3 dias.

Devido aos relatos de sucesso no controle de pragas utilizando nematóides das famílias Steinernematidae, o presente estudo teve como objetivo verificar a patogenicidade de *S. carpocapsae*, em diferentes concentrações e formas de exposição do agente as castas do cupim de montículo (*Cornitermes cumulans*) em colônias artificiais.

Material e métodos

Um experimento conduzido em placa de Petri e dois experimentos conduzidos em colônias artificiais foram estabelecidos no Laboratório de Nematologia da Faculdade de Ciências Agrônômicas, UNESP, do campus de Botucatu/SP.

Primeiro experimento

O primeiro experimento foi conduzido concomitantemente ao segundo experimento para verificar a patogenicidade das mesmas concentrações (10.000 e 20.000 JI) de *S. carpocapsae* nos operários e soldados de *C. cumulans*, em placas de Petri contendo papel

filtro umedecido com água destilada/autoclavada e suspensão de nematóides aplicados com auxílio de pipeta volumétrica. Foram inoculadas cinco placas de Petri contendo cinco operários cada, e o mesmo número para os soldados, totalizando 25 operários e 25 soldados inoculados, para cada concentração. Como testemunhas foram utilizadas cinco placas de Petri para cada casta. O papel de filtro de cada parcela foi umedecido com 1 ml de água destilada/autoclavada. As placas foram mantidas em BOD na temperatura de 25°C. Na primeira concentração utilizou-se 0,60 ml de água destilada/autoclavada e 0,40 ml de suspensão contendo 10.000 juvenis infectantes (JI) de *S. carpocapsae* equivalente a 2.000 JI/inseto. Na segunda concentração utilizou-se 0,20 ml de água destilada/autoclavada e 0,80 ml de suspensão contendo 20.000 juvenis infectantes de *S. carpocapsae* equivalente a 4.000 JI/inseto. As avaliações ocorreram a cada 24 horas, sendo os insetos mortos contados e separados individualmente em placas de Petri de 2 cm de diâmetro. Após 4 dias os cupins mortos foram dissecados e examinados para avaliação da presença do nematóide no inseto. Os dados de mortalidade diária foram utilizados para o cálculo da porcentagem de mortalidade acumulada.

Segundo experimento

O delineamento experimental foi inteiramente casualizado com três tratamentos sendo a testemunha inoculada com 1 ml de água destilada/autoclavada. Foram consideradas cinco repetições (cupinzeiro). O experimento foi conduzido em colônias artificiais (Figura 01) utilizando recipientes plásticos de 20 cm de diâmetro contendo uma camada de 1 cm de gesso no fundo, coberto com 400 ml de terra autoclavada. Aproximadamente 400 g da região do oco basal do cupinzeiro foram colocados em cada recipiente sendo adicionados indivíduos das duas castas de *C. cumulans* na proporção de 1:5 (10 soldados para 50 operários). A suspensão de nematóides foi adicionada com o auxílio de pipeta sobre 50 g do bagaço de cana-de-açúcar fornecido como alimento sendo este espalhado, após a inoculação da suspensão, sob a colônia artificial. Na primeira concentração de *S. carpocapsae* utilizou-se 0,60 ml de água destilada/autoclavada e 0,40 ml de suspensão contendo 10.000 juvenis infectantes equivalente aproximadamente a 167 JI/inseto. Na segunda concentração, utilizou-se 0,20 ml de água destilada/autoclavada e 0,80 ml de suspensão

contendo 20.000 juvenis infectantes equivalente aproximadamente de 333 JI/inseto. As avaliações ocorreram após 24, 120 e 216 horas (1º, 5º e 9º dias) da inoculação, quando os insetos mortos foram contados, separados e mantidos individualizados em placa de Petri de 2 cm de diâmetro, com papel filtro umedecido e mantidas a 25°C. Após 4 dias os cupins mortos foram dissecados e examinados para avaliação da presença do nematóide no inseto. Os dados de mortalidade foram utilizados para o cálculo da porcentagem de mortalidade acumulada.

Terceiro experimento

Tal experimento foi conduzido de maneira semelhante ao segundo, diferindo nas concentrações (8.000, 16.000 e 32.000 juvenis infectantes de *S. carpocapsae*) equivalente aproximadamente a 133, 267 e 533 JI/inseto, respectivamente, e testemunha; no volume de aplicação (8 ml) e no modo de exposição, sendo a suspensão aplicada com auxílio de pipeta sobre a colônia artificial.

Esse experimento foi constituído de quatro tratamentos com cinco repetições, totalizando 20 parcelas (15 parcelas com nematóides e 05 parcelas sem nematóides), sendo os insetos coletados de cupinzeiros provenientes de pastagens ao redor da Fazenda Experimental Lageado, Botucatu, SP.

Para verificação da infectividade dos nematóides presentes na suspensão utilizada em ambos experimentos, foram mantidos três placas de Petri com cinco lagartas de *Galleria mellonella* inoculadas com suas respectivas dosagens de *S. carpocapsae*.

Análise estatística

Os dados de porcentagem de mortalidade acumulada, dos experimentos, foram transformados em $\sqrt{x + 0,5}$, submetidos a análise de variância, sendo as médias comparadas pelo teste de Tukey a 5%, utilizando o programa computacional Sanest.



Figura 01 – Colônias artificiais realizadas para o cupim de montículo (*C. cumulans*)

Resultados e discussão

Primeiro experimento

Logo no 1º dia de avaliação ambas concentrações de *S. carpocapsae* proporcionaram alta mortalidade acumulada dos operários, sendo de 76 e 80% para as concentrações de 2.000 e 4.000 JI/inseto, respectivamente (Figura 02). No 2º dia verificou-se 100% de mortalidade acumulada dos operários em ambas concentrações, sendo que até este dia, não houve mortalidade na testemunha dos operários.

Para os soldados inoculados com *S. carpocapsae* houve 100% de mortalidade acumulada logo no 1º dia de avaliação, em ambas concentrações testadas, diferindo significativamente da mortalidade acumulada de apenas 4% da testemunha dos soldados (Figura 03). Portanto, verificou-se alta suscetibilidade dos soldados, quando submetidos a concentrações de 2.000 e 4.000 JI/ inseto de *S. carpocapsae*, em condições de placa de Petri.

Em todos os insetos inoculados que posteriormente foram dissecados foi encontrado nematóide em seu interior (Tabela 01).

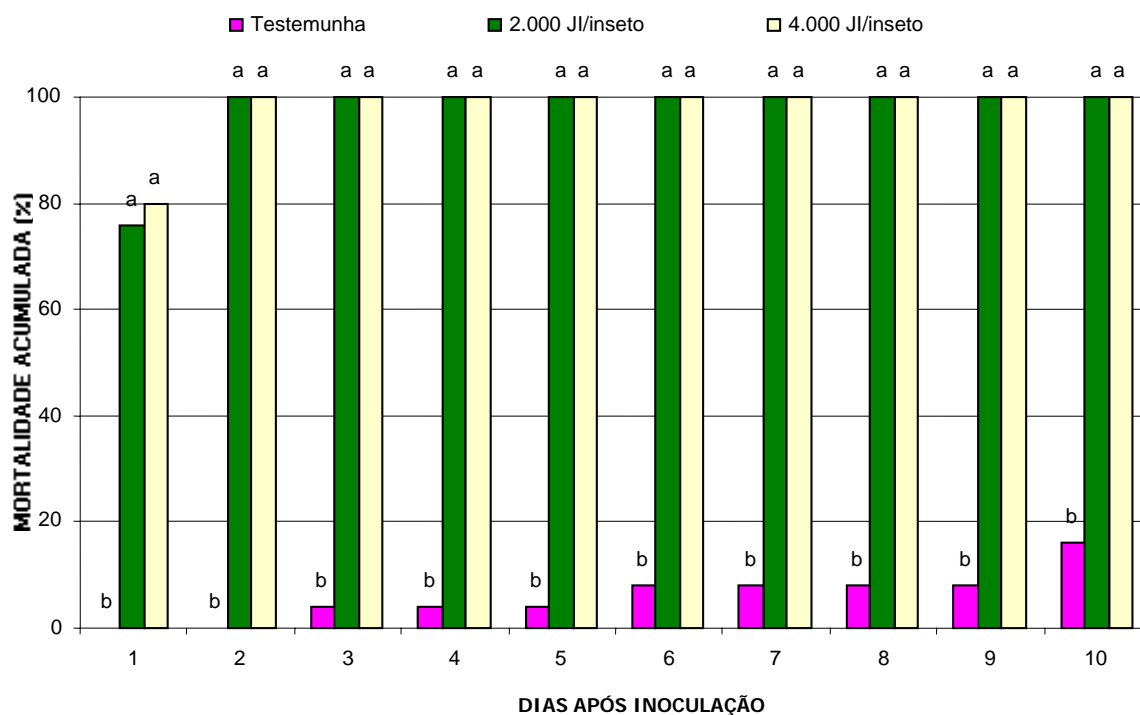


Figura 02 – Mortalidade acumulada (%) dos operários de *C. cumulans* expostos a *S. carpospae* nas concentrações de 2.000 e 4.000 JI/inseto, aplicados no alimento, e testemunha. Médias seguidas de mesma letra, não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5%, comparadas no mesmo dia de avaliação.

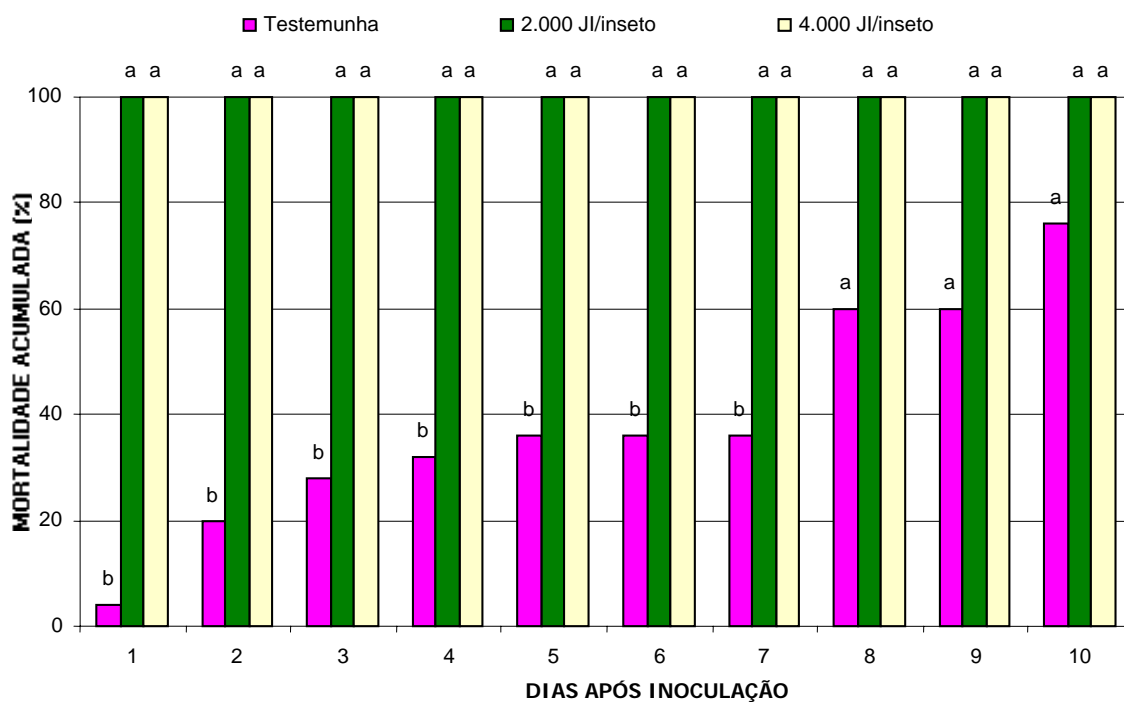


Figura 03 – Mortalidade acumulada (%) dos soldados de *C. cumulans* expostos a *S. carpocapsae* nas concentrações de 2.000 e 4.000 JI/inseto, aplicados no alimento, e testemunha. Médias seguidas de mesma letra, não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5%, comparadas no mesmo dia de avaliação.

Tabela 01 – Número médio de nematóides encontrados por inseto morto após exposição desses agentes às castas de operários e soldados do cupim de montículo (*Cornitermes cumulans*).

concentração (JI/inseto)	Operários		Soldados	
	Jl	A	Jl	A
2.000	76,7	1,4	107,0	0,3
4.000	118,2	1,0	219,9	0,6

Jl - juvenis infectantes; A - adultos

Segundo experimento

No 1º dia após inoculação, *S. carpocapsae* proporcionou mortalidade acumulada de 48 e 71% para as concentrações de 167 e 333 JI/inseto, respectivamente, diferindo da mortalidade acumulada de 8% obtida na testemunha dos operários (Figura 04). Porém, os resultados obtidos nas concentrações de 167 e 333 JI/inseto de *S. carpocapsae* não diferiram entre si.

Contudo, no 5º dia após inoculação, *S. carpocapsae* causou uma taxa maior de mortalidade acumulada em ambas concentrações, sendo estas de 91 e 99% para 167 e 332 JI/inseto, respectivamente. No 9º dia, este isolado proporcionou 100% de mortalidade acumulada em ambas concentrações, diferindo dos resultados obtidos pela testemunha dos operários, que apresentou mortalidade acumulada inferior, sendo de 21%.

Para os soldados (Figura 05), no 1º dia após inoculação, não houve diferença significativa entre a mortalidade acumulada dos tratamentos com e sem nematóides, apresentando 8, 16 e 20% de mortalidade acumulada para a testemunha dos soldados, 167 e 333 JI/inseto, respectivamente. Entretanto, na 2ª avaliação, realizada no 5º dia da inoculação, *S. carpocapsae* proporcionou mortalidade acumulada de 74 e 94% nas concentrações de 167 e 333 JI/inseto, diferindo daquela obtida pela testemunha dos soldados. Na 3ª avaliação, ao 9º dia da inoculação, *S. carpocapsae* causou 100% de mortalidade acumulada, em ambas concentrações. A testemunha dos soldados, nesta avaliação, apresentou mortalidade acumulada de 18%.

As concentrações de 167 e 333 JI/inseto de *S. carpocapsae* causaram alta mortalidade acumulada dos operários logo no 1º dia e no 2º dia após inoculação, no caso dos soldados, proporcionando mortalidade acumulada de 100% no 9º dia para ambas castas. A concentração de 333 JI/inseto proporcionou uma maior mortalidade para ambas castas quando comparado com os resultados da concentração de 167 JI/inseto. Contudo, a mortalidade acumulada de ambas concentrações não se diferiu entre si.

Todos os insetos dissecados apresentaram a presença de nematóide, comprovando que a morte dos insetos foi devido à infecção pelo nematóide testado (Tabela 02).

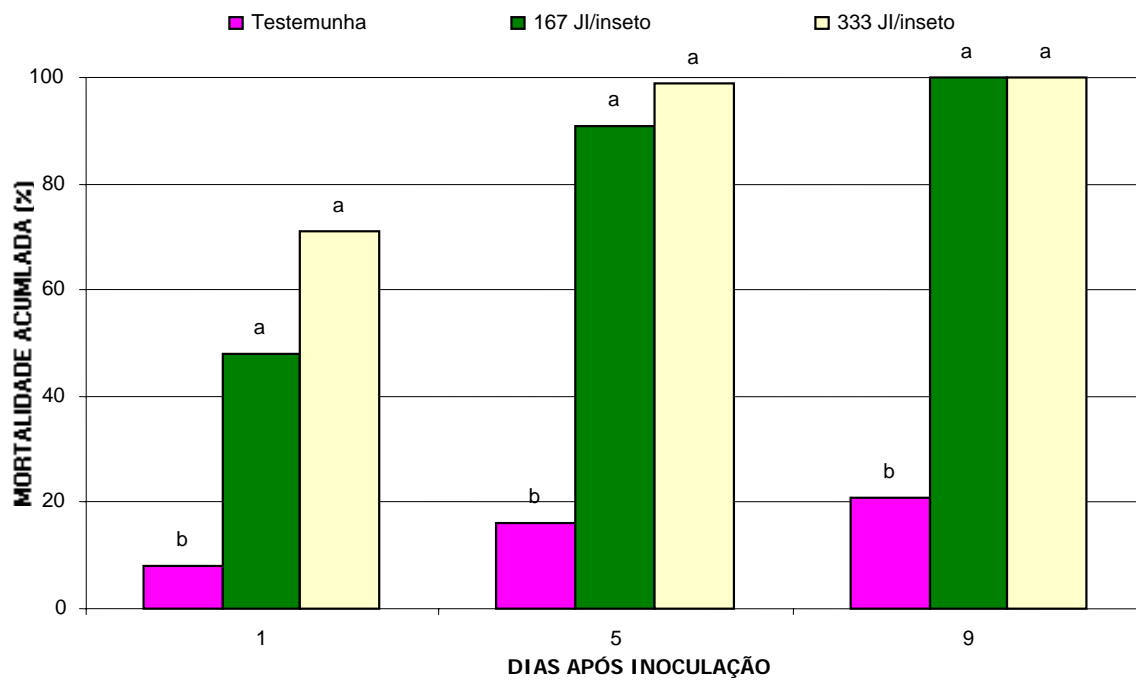


Figura 04 – Mortalidade acumulada (%) dos operários de *C. cumulans* expostos a *S. caropopsae* nas concentrações de 167 e 333 JI/inseto, aplicados no alimento, e testemunha. Médias seguidas de mesma letra, não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5%, comparadas no mesmo dia de avaliação.

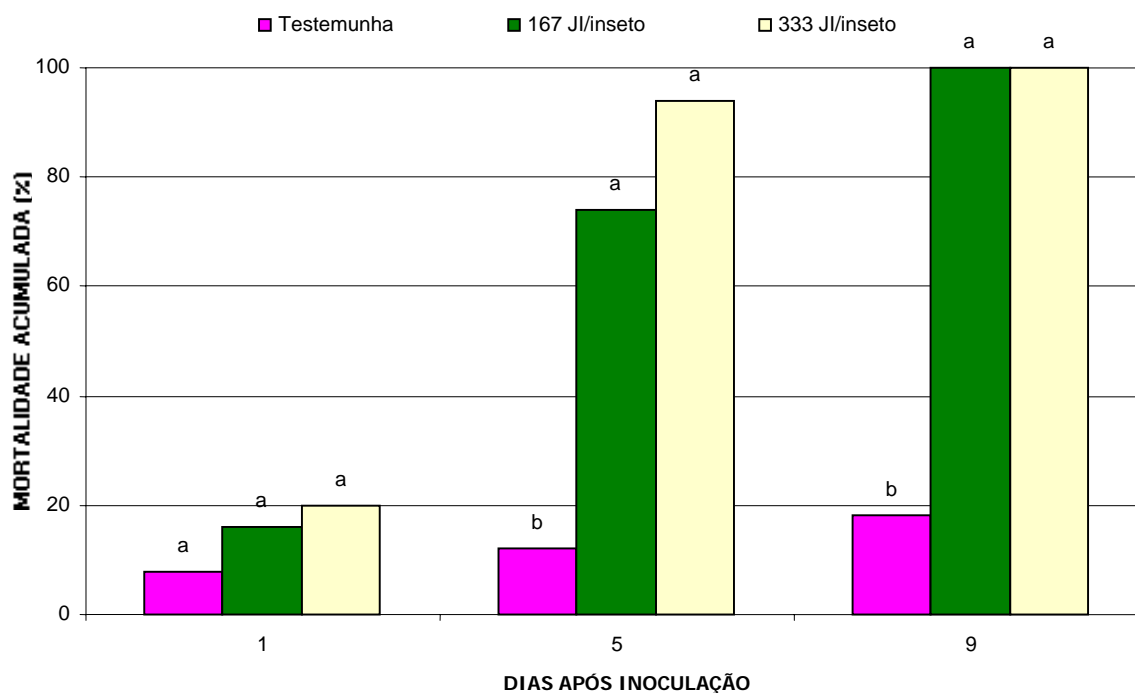


Figura 05 – Mortalidade acumulada (%) dos soldados de *C. cumulans* expostos a *S. carpocapsae* nas concentrações de 166 e 333 JI/inseto, aplicados no alimento, e testemunha. Médias seguidas de mesma letra, não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5%, comparadas no mesmo dia de avaliação.

Tabela 02 – Número médio de nematóides encontrados por inseto morto após exposição desses agentes às castas de operários e soldados do cupim de montículo (*Cornitermes cumulans*).

concentração (JI/inseto)	Operários		Soldados	
	Jl	A	Jl	A
166	171,5	*	839,9	*
332	363,2	*	1.810,8	*

Jl - juvenis infectantes; A - adultos; * não foram encontrados nematóides

Terceiro experimento

A concentração de 133 JI/inseto de *S. carpocapsae* proporcionou mortalidade acumulada de 22, 44 e 95% no 1º, 5º e 9º dia, respectivamente, para os operários (Figura 06), enquanto que a mortalidade acumulada, nestes dias, para os soldados foi de 22, 52 e 94% (Figura 07). Para a concentração de 267 JI/inseto esta mortalidade foi de 33, 71, 100% para os operários e 28, 82, 100% para os soldados. E para a terceira concentração de 533 JI/inseto a mortalidade acumulada chegou a 60 % no 1º dia, atingindo 100% no 5º dia de avaliação, para os operários, e para os soldados a mortalidade acumulada foi de 42, 92 e 100% nos 1º, 5º e 9º dias, respectivamente.

Na primeira avaliação a mortalidade acumulada de 60% proporcionada pela concentração de 533 JI/inseto de *S. carpocapsae* diferiu daquelas proporcionadas pelas demais concentrações e testemunha para os operários. Na segunda avaliação a mortalidade acumulada das concentrações de 267 e 533 JI/inseto não se diferiu apresentando elevadas taxas de mortalidade de 71 e 100%, respectivamente. Na terceira avaliação que ocorreu no 9º dia às concentrações se equipararam na taxa de mortalidade acumulada, demonstrando a patogenicidade deste nematóide nas concentrações testadas e que esta cresce ao longo do tempo.

Para os soldados, não houve diferenças significativas entre a mortalidade acumulada nas concentrações estudadas, na primeira avaliação, entretanto, ao decorrer das avaliações constatou-se que as concentrações de 267 e 533 JI/inseto de *S. carpocapsae* proporcionaram uma mortalidade acumulada de soldados de *C. cumulans* maior do que a verificada para a concentração de 133 JI/inseto, no 9º dia após inoculação.

A mortalidade final dos operários e dos soldados não inoculados foi de 2% para os operários e não ocorreu mortalidade para a casta de soldados durante o período avaliado.

Todos os insetos dissecados apresentaram nematóides em seu interior, comprovando que a morte ocorrida foi resultado da infecção do nematóide estudado (Tabela 03).

Em geral, para ambas castas, os dados obtidos nas concentrações de 267 e 533 JI/inseto de *S. carpocapsae* proporcionaram uma maior mortalidade acumulada para as castas de operários e soldados de *C. cumulans* evidenciando a patogenicidade de *S. carpocapsae* a estes insetos.

Com a função de manutenção e limpeza das colônias, os operários ficam mais expostos aos nematóides comparados com os soldados cuja função é de proteção, permanecendo assim mais tempo no interior da colônia diminuindo a exposição deste inseto ao agente biológico testado. Devido a este fato, a mortalidade dos operários torna-se maior que a mortalidade apresentada pelos soldados nas colônias artificiais. Entretanto, em placas de Petri não ocorre esta diferença de exposição e os nematóides acabam infectando os soldados em um menor tempo.

Embora tenha sido utilizado as mesmas concentrações de 10.000 e 20.000 JI de *S. carpocapsae* no 1º e 2º experimento, o número de insetos para estes experimentos variou. Assim, tendo em vista a utilização de um maior número de juvenis infectantes/cupim de *S. carpocapsae* no experimento em placas de Petri, este fato também contribuiu para outro fator positivo para a maior mortalidade de ambas castas de *C. cumulans* em um menor tempo em placas de Petri.

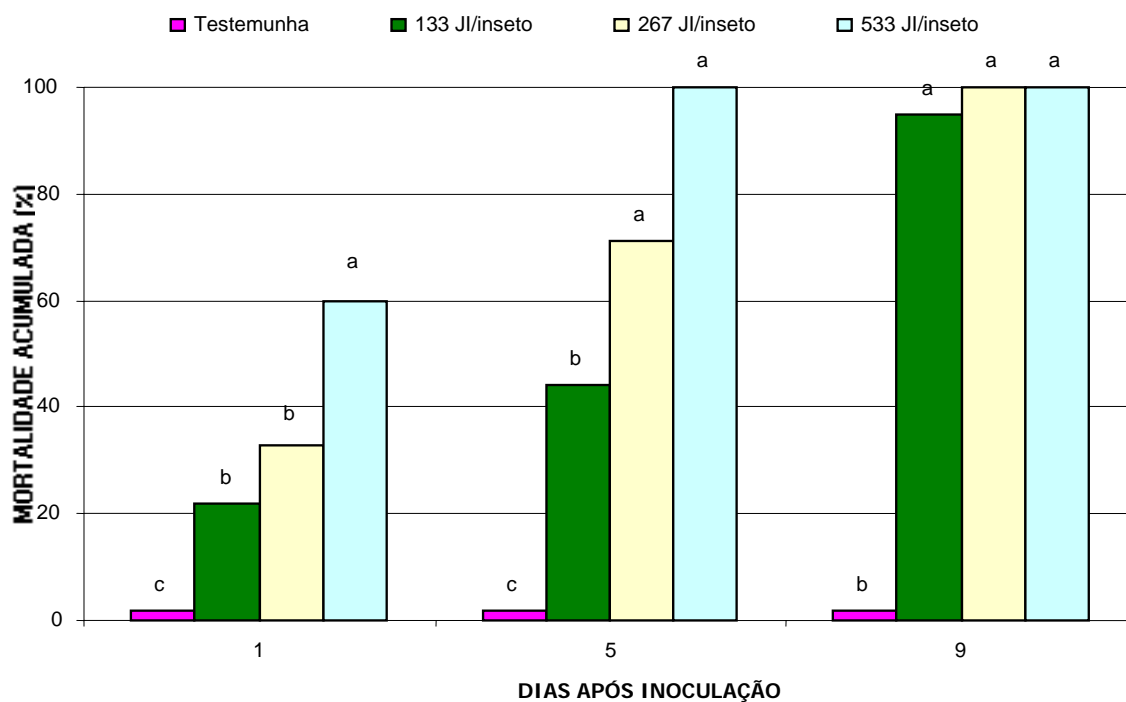


Figura 06 – Mortalidade acumulada (%) dos operários de *C. cumulans* expostos a *S. carpocapsae* nas concentrações de 133, 267 e 533 JI/inseto, aplicados sobre a colônia artificial, e testemunha. Médias seguidas de mesma letra, não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5%, comparadas no mesmo dia de avaliação.

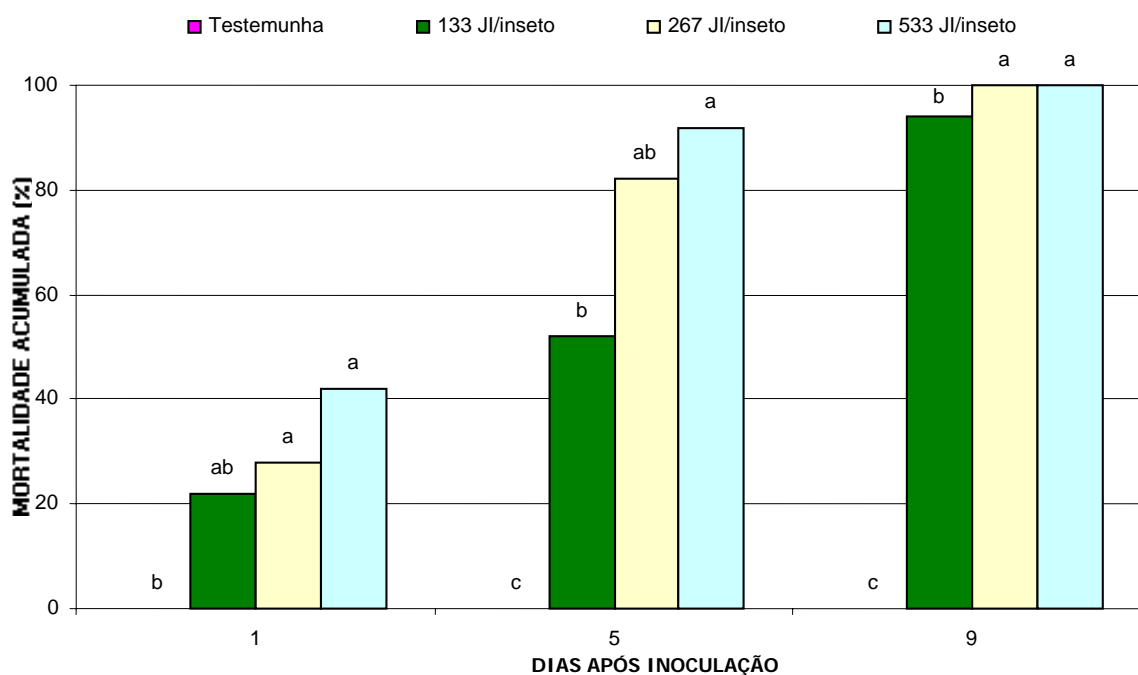


Figura 07 – Mortalidade acumulada (%) dos soldados de *C. cumulans* expostos a *S. carpocapsae* nas concentrações de 133, 267 e 533 JI/inseto, aplicados sobre a colônia artificial, e testemunha. Médias seguidas de mesma letra, não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5%, comparadas no mesmo dia de avaliação.

Tabela 03 – Número médio de nematóides encontrados por inseto morto após exposição desses agentes às castas de operários e soldados do cupim de montículo (*Cornitermes cumulans*).

concentração (JI/inseto)	Operários		Soldados	
	Jl	A	Jl	A
133	86,5	*	705,7	*
267	260,6	*	1560,5	*
533	459,6	*	2.257,7	*

Jl - juvenis infectantes; A - adultos; * não foram encontrados nematóides

A espécie *S. carpocapsae* mostrou-se eficiente no controle de ambas castas de *C. cumulans*, nas concentrações testadas. Resultados esses que corroboram com os obtidos por Lamound *et al.* (1979), que observaram 100% de mortalidade em três dias do cupim *Nasutitermes exitiosus* utilizando a concentração de 6.000 JI de *S. carpocapsae*. Tal como Wang *et al.* (2002), que constataram a eficiência de *S. carpocapsae*, *S. riobravis*, *Heterorhabditis bacteriophora* e *H. indica* a espécie de cupim *Coptotermes formosanus*.

Embora tenha sido utilizada outra espécie de nematóide, Souza (2006), constatou a mortalidade de 88% em *C. cumulans* quando submetido à concentração de 413 JI/cupim de *S. feliae*.

Em trabalho realizado por Andaló *et al.* (2004), foi verificado que mesmo em uma menor concentração, de 25 nematóides/cochonilha, utilizando a espécie *S. carpocapsae*, foi eficiente no controle de *Dysmicocus texensis*.

A mortalidade de *C. cumulans* provocada pelo nematóide *S. carpocapsae* é crescente com o tempo decorrido atingindo níveis significativos mesmo em concentrações relativamente baixas.

Tais resultados demonstram um elevado potencial de uso da espécie *S. carpocapsae* visando o controle de *C. cumulans*, porém é necessário que sejam realizados mais estudos para determinar a eficiência em campo destes agentes biológicos para o controle deste inseto.

Literatura citada

AGUILLERA, M. M.; & E.A.B. DE NARDO. 2003. Situação mundial da pesquisa e uso de nematóides entomopatogênicos com ênfase na América do Sul. In: SIMPÓSIO DE CONTROLE BIOLÓGICO, VIII, São Pedro. Resumos, p. 41.

ALMEIDA, J.E.M. & S.B. ALVES. 1995. Seleção de armadilhas para a captura de *Heterotermes tenuis* (Hagen). Anais da Sociedade Entomológica do Brasil, Londrina, 24(3):619-624.

ANDALÓ, V.; MOINO JUNIOR, A.; SANTA-CECILIA, L.V.C. & G.C. SOUZA. 2004. Seleção de isolados de fungos e nematóides entomopatogênicos para a cochonilha-da-raiz-do-cafeeiro *Dysmicoccus texensis* (Tinsley). Arq. Inst. Biol., São Paulo, 71(2): 181-187.

ARRIGONI, E. B.; ALMEIDA, L.C.; KASTEN JR., P. & A.A.C.M., PRECETTI. 1989. Distribuição de espécies de cupins, em cana-de-açúcar, em unidades cooperadas das regiões de Jaú e Sertãozinho. Bol. Téc. Copersucar, 48:38-47.

CANCELLO, E. M. 1989. Revisão de *Cornitermes* Wamann (Isoptera, Termitidae, Nasutitermitinae). São Paulo, USP, 151p. (Tese de Doutorado, Instituto de Biociências).

COOPLANTIO. 2003. Cupins (*Cornitermes cumulans*). Disponível em: www.cooplantio.com.br/scripts/cooplantio/pg/printfile.exe?f=20

EMBRAPA GADO DE CORTE. 1996. Cupim de montículo em pastagens. Disponível em: www.cnpqc.embrapa.br/publicacoes/divulga/GCD18.html

FERRAZ, L.C.C.B. 1986. Nematóides entomopatogênicos. In: ALVES, S. B. (Coord.). Controle Microbiano de Insetos. São Paulo: Manole, 1º Edição, p. 210-221.

GREWAL, P. 2000. Biology & Ecology: Insect parasitic nematodes.

LAUMOND, C.; MAULÉON, H. & A. KERMARREC. 1979. New data on the host spectrum and the parasitism of the entomophagous nematode, *Neoplectana carpocapsae*. Entomophaga, Paris, 24(1):13-27.

PIZZANO, M.A. 1992. Controle de cupins subterrâneos em cana-de-açúcar. In: Memória de Reunião de Especialistas em Controle Alternativo de Cupins e formigas. Brasília, 2:13-14.

SANTOS, M. M. DOS; LIMA, S. DE O. & P.M. FERNANDES. 1996. Preferência alimentar de *Corniterme cumulans* e *Cornitermes snyderi* a variedades de cana-de-açúcar em condições de laboratório. *Anais Esc. Agron. e Vet.*, 26(2):65-69.

SOUZA, C.G. 2006. Seleção de isolados de nematóides entomopatogênicos visando o controle de *Cornitermes cumulans* (Kollar, 1832) (Isoptera: Termitidae). Minas Gerais, UFLA, 41p. (Tese de Mestrado).

VALÉRIO, J.R.; MACEDO, N.; WILCKEN, C.F. & R. CONSTANTINO. 2004. Cupins em pastagens, cana-de-açúcar e plantações florestais. In: SALVADORI, J. R.; ÁVILA, C. J.; SILVA, M. T. B. da. (ed.). *Pragas de solo no Brasil*. Passo Fundo:Embrapa Trigo; Dourados:Embrapa Agropecuária Oeste; Cruz Alta:Fundacep Fecotrigo, p.400-456.

VALÉRIO, J.R.; SANTOS, A.V.; SOUZA, A.P.; BARBOSA, L.R. & M.C.M. OLIVEIRA. 2006. Níveis de infestação de cupins-de-montículo em pastagens de diferentes gramíneas forrageiras. p.236.

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

3. CONCLUSÕES

Os nematóides mais virulentos aos operários de *Cornitermes cumulans* são *Steinernema carpocapsae*, *Heterorhabditis indica* CB – n05, *Heterorhabditis* sp. CB – n13 e *Steinernema* sp. CB – n15.

Os nematóides mais virulentos aos soldados de *C. cumulans* são *S. carpocapsae*, *S. glaseri* Santa Rosa, *Heterorhabditis* sp. CCA/UFSCar, *H. indica* sp. CB – n05, *Steinernema* sp. CB – n06, *Steinernema* sp. CB – n09, *Heterorhabditis* sp. CB – n10, *Heterorhabditis* sp. CB – n13, *Steinernema* sp. CB – n15 e *Heterorhabditis* sp. CB – n23.

Os soldados são mais suscetíveis que os operários a *S. carpocapsae* em placas de Petri.

Os operários são mais suscetíveis comparados com os soldados em colônias artificiais.

O isolado *S. carpocapsae* é patogênico a ambas castas de *C. cumulans* em colônias artificiais do inseto.

4. REFERÊNCIA BIBLIOGRÁFICA

ACEVEDO, J. P. M.; MOINO JR., A.; CAVALCANTI, R. S.; DOLINSKI, C.; CARVALHO, F. A. Patogenicidade, multiplicação e biologia de isolados nativos de nematóides entomopatogênicos (Rhaditida: Heterorhabditidae) provenientes de Lavras, MG. **Nematologia Brasileira**, v. 29, n.1, p. 25-30, 2005.

AGUILLERA, M. M. Nematóides benéficos controlam pragas na agricultura. **Informativo Meio Ambiente e Agricultura**. Embrapa Meio Ambiente. Jaguariúna, SP, n. 33, ano IX, jan/fev/mar.2001. Disponível em:
http://www.cnpma.embrapa.br/informativo/mostra_informativo.php3?id=140

AGUILLERA, M. M.; DE NARDO, E. A. B. Situação mundial da pesquisa e uso de nematóides entomopatogênicos com ênfase na América do Sul. In: SIMPÓSIO DE CONTROLE BIOLÓGICO, 8., 2003, São Pedro. **Resumos...**,2003 p. 41.

ALMEIDA, J. E. M.; ALVES, S. B. Seleção de armadilhas para a captura de *Heterotermes tenuis* (Hagen). **Anais da Sociedade Entomológica do Brasil**, Londrina, PR, v.24, n.3, p.619-624, 1995.

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, SP, v. 70, n. 3, p. 347-353, 2003.

ALVES, S. B.; ALMEIDA, J. E. M., Novas alternativas para controle microbiológico de cupins. In: BERTI – FILHO, E.; FONTES, L.R. (Ed.). **Alguns aspectos atuais da biologia e controle de cupins**. Piracicaba, FEALQ, 1995, 183 p.

ANDALÓ, V.; MOINO JUNIOR, A.; SANTA-CECILIA, L.V.C., SOUZA, G. C. Seleção de isolados de fungos e nematóides entomopatogênicos para a cochonilha-da-raiz-do-cafeeiro *Dysmicoccus texensis* (Tinsley). **Arq. Inst. Biol.**, São Paulo, v. 71, n. 2, p. 181-187, 2004.

ARRIGONI, E. B.; ALMEIDA, L. C.; KASTEN JR., P.; PRECETTI, A. A. C. M. Distribuição de espécies de cupins, em cana-de-açúcar, em unidades cooperadas das regiões de Jaú e Sertãozinho. **Bol. Téc. Copersucar**, v. 48, p. 38-47, 1989.

ÁVILA, C. J.; RUMIATTO, M. Controle mecânico do cupim de montículo *Cornitermes cumulans* (Kollar), com o implemento “Demolidor de cupinzeiros”. In: REUNIÃO SUL-BRASILEIRA DE INSETOS DE SOLOS, 5., 1995, Dourados. **Ata e resumos...**Dourados: Embrapa – CPAO, 1995. p. 70-71.

BOEMARE, N. E., AKHURST, R. J.; MOURANT, R. G. DNA relatedness between *Xenorhabdus* spp. (Enterobacteriaceae) symbiotic bacteria of entomopathogenic nematodes, and a proposal to transfer *Xenorhabdus luminescens* to a new genus, *Photorhabdus* gen. novo. **Int. Syst. Bacteriol.**, v. 43, p. 249-255, 1993.

BUZZI, J. Z. **Entomologia didática**. 4ªed , Curitiba:Editora UFPR, 2002. 348 p.

CANCELLO, E. M. Revisão de *Cornitermes* Wamann (Isoptera, Termitidae, Nasutitermitinae). 1989. 151 f. **Tese** (Doutorado, Instituto de Biociências) – Universidade de São Paulo, São Paulo, 1989.

CANCELLO, E. M.; SCHLEMMERMEYER, T. Isoptera. **Animalia**, cap. 9, p. 82-91, 2006.

COOPLANTIO. **Cupins (*Cornitermes cumulans*)**. 2003. Disponível em:
www.cooplantio.com.br/scripts/cooplantio/pg/printfile.exe?f=20

CZEPAK, C.; ARAUJO, E. A. DO, & FERNADES, P. M. Ocorrência de espécies de cupins de montículo em pastagens no estado de Goiás. **Pesquisa Agropecuária Tropical**, v. 33, n.1, p. 35-38, 2003.

EMBRAPA GADO DE CORTE. **Cupim de montículo em pastagens**. 1996. Disponível em:
www.cnpqc.embrapa.br/publicacoes/divulga/GCD18.html

FERRAZ, L. C. C. B. Nematóides entomopatogênicos. In: ALVES, S. B. (Coord.). **Controle Microbiano de Insetos**. São Paulo: 1º Edição, Editora Manole, 1986. p. 210-221.

FERRAZ, L. C. C. B. Nematóides entomopatogênicos. In: ALVES, S. B. (Coord.). **Controle Microbiano de Insetos**. Piracicaba: FEALQ, 2º Edição, 1998. p. 541 -569.

FERNANDES, P. M. ; ALVES, S. B. Preferência alimentar e danos de *Cornitermes cumulans* (Kollar, 1832) (Isoptera: Termitidae) às plantas cultivadas em laboratório. **An. Soc. Ento. Brasil**, v. 21, n. 2, p. 125:132, 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, p. 187-210.

FIGUEROA, W. Biocontrol of the banana root borer weevil, *Cosmopolites sordidus* (Germar) with Steinernematidae nematodes. **Journal of Agriculture of the University of Puerto Rico**, v. 74, n. 1, p.15 - 19, 1990.

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, p. 211-225.

FONTES, L. R.; ARAUJO, R. L. Os Cupins. In: MARICONI, F. A. M. (ed.). **Insetos e outros invasores de residências**. 1º ed. Piracicaba: FEALQ, 1999. P. 35-90.

FORTI, L. C.; ANDRADE, M. L. Populações de cupins. In: BERTI-FILHO, E.; FONTES, L. R.; (Eds.). **Alguns aspectos atuais da biologia e controle de cupins**. São Paulo: FEALQ, 1995, p. 29-51.

GALLO, D.; NAKANO, O.; SILVEIRA NETO, S.; CARVALHO, R. P. L.; BATISTA, G. C. DE; BERTI FILHO, E.; PARRA, J. R. P.; ZUCCHI, R. A.; ALVES, S. B.; VENDRAMIM, J. D.; MARCHINI, L. C.; LOPES, J. R. S.; OMOTO, C. **Entomologia Agrícola**. Piracicaba: FEALQ, 2002. 290p.

GOULART, R. M.; TAVARES, F. M.; LEITE, L. G.; MACHADO, L. A.; BATISTA FILHO, A.; ALMEIDA, J. E. M. Formação de um banco de nematóides entomopatogênicos no Instituto Biológico, SP. In: SIMPÓSIO DE CONTROLE BIOLÓGICO, 8., 2003, São Pedro, **Resumos...** São Pedro, 2003. p.83.

GREWAL, P. **Biology & Ecology: Insect parasitic nematodes**. 2000.

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

KAYA, H. K. Entomogenous nematodes for insect control in IPM systems. In: HOY, M.; HERZOG, D. C. (Ed.). **Biological Control in Agricultural IPM Systems Academic Press**, New York, 1985. p. 283-302.

HERZOG, T.R.R.; FERNANDES, W.D.; SANTOS, H.R. DOS, NOVELINO, J.O.; ULRICH, M.D. Artrópodes co-habitantes em termiteiros de *Cornitermes cumulans* (Kollar, 1832), no município de Dourados, MS. 2006.

JONES, W.E.; GRACE, J.K.; TAMASHIRO, M. Virulence of seven isolates of *Beauveria bassiana* and *Metarhizium anisopliae* to *Coptotermes formosanus* (Isoptera: Rhinotermitidae). **Environ. Entomol.**, v. 25, p. 481-487, 1996.

LEITE, L.G.; GOULART, T.M.; CARREGARI, L.C.; TAVARES, F.M.; GINARTE, C.M.A.; LISI, L.; SILVA, A.C.; BUSSOLA, R.A. Susceptibilidade de larvas de “Fungus gnats” a *Heterorhabditis indica* (Rhabditida) e a *Bacillus thuringiensis israelensis* em laboratório. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE NEMATOLOGIA, 26., 2006, Campos dos Goytacazes. **Anais...** Campos dos Goytacazes: CCTA, UENF, p. 67, 2006.

LINDEGREN, J. E. Field suppression of three fruit fly species (Diptera: Tephritidae) with *Steinernema carpocapsae*. In: INTERNATIONAL COLLOQUIUM ON INVERTEBRATE PATHOLOGY AND MICROBIAL CONTROL, 5., 1990, Adelaide, Austrália, 1990. p. 223.

MACHADO, L.; LEITE, L.G.; CARREGARI, L.C. & M. HABIB. 2006. Raízes ameaçadas. In: **Revista Cultivar**. p. 36-39.

MARICONI, F.A.M.; GALAN, V.B.; ROCHA, M.T.; MAULE, R.F.; PASSOS, H.R.; SILVA, R.A.A. Ensaio de combate ao cupim de monte *Cornitermes cumulans* (Kollar, 1832) (Isoptera, Temitidae). **Sci. Agric.**, Piracicaba, 51(3):505-508, se./dez.,1994.

MARICONI, F. A. M.; PASSOS, H. R.; GALAN, V. B.; ROCHA, M. T.; SILVA, R.A.A. Novidades no controle do cupim de monte *Cornitermes cumulans* (Kollar, 1832). In: FONTES, L.R.; BERTI FILHO, E. (ed.). **Alguns aspectos atuais da biologia e controle de cupins**. Piracicaba: FEALQ, 1995. 184p.

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 cloririfós e endossulfan. **Scientia Agrícola**, Piracicaba, v. 53, n. 2/3, p. 293-295, maio/dez. 1996.

MIKLÓS, A. A. de W. Papel de cupins e formigas na organização e na dinâmica da cobertura pedológica. In: FONTES, L. R.; BERTI-FILHO, E. (Ed.). **Cupins: o desafio do conhecimento**. Piracicaba:FEALQ, 1998, p. 227-241.

NEVES, P. O. J.; AVES, S. B. Controle associado de *Cornitermes cumulans* (Kollar 1832) (Isoptera: Termitidae) com *Metarhizium anisopliae*, *Beauveria bassiana* e imidacloprid. **Scientia Agrícola**, v. 56, p. 313-319, 1999.

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. **An. Soc. Entomol.**, Brasil, v. 29, n. 3, set. 2000.

PAIVA, P. E. B.; GARCIA, J. F.; AGUILLERA, M. M. Ocorrência do nematóides entomopatogênico, *Heterorhabditis* Poinar, 1976, em áreas de citros no estado de São Paulo. In: SIMPÓSIO DE CONTROLE BIOLÓGICO, 8., 2003; São Pedro. **Anais...** 2003. p. 93.

PARON, M. J. F. O.; AGUILLERA, M. M.; VOSS, M.; SALVADORI, J. R.; PARON, M. E.; RODRIGUES, R. C. D. Patogenicidade de nematóides entomopatogênicos (Nematoda: Steinernematidae e Heterorhabditidae) a *Phyllophaga triticophaga*. In: SIMPÓSIO DE CONTROLE BIOLÓGICO, 8., 2003; São Pedro. **Anais...** 2003. p. 93.

- PEREIRA, C. *Rhabditis hambletoni* n.sp. nema aparentemente semiparasito da “broca do algodoeiro” (*Gasterocercodes brasiliensis*). **Arch. Inst. Biol.**, v. 8, p. 215-230, 1937.
- PIZANO, M.A.; AGUILLERA, M.M.; MONTEIRO, A.R.; FERRAZ, L.C.B. Incidence of *Neoplectana glaseri* Steiner, 1929 (Nematoda: Steinernematidae) parasitizing *Migdolus fryanus* (Westwood, 1863) (Col. Cerambycidae). **Entomol. Newsl.**, v. 17, p. 9-10, 1985
- PIZZANO, M.A. Controle de cupins subterrâneos em cana-de-açúcar. **Memória de Reunião de Especialistas em Controle Alternativo de Cupins e formigas**, Brasília, v. 2, p.13-14, 1992.
- POINAR JR., G. O. Entomogenous nematode, a manual and host list of insect-nematode associations. Leiden, E. J. Brill, 254p.
- ROSALES, L. C. A.; SUAREZ, Z. H. Nematodos entomopatógenos como posibles agentes de control Del gorgojo negro Del plátano *Cosmopolites sordidus* (Germar 1824) (Coleoptera: Curculionidae). **Bol. Entomol. Venez.** v. 13, n. 2, p.123-140, diciembre 1998.
- SANTOS, E. **Os insetos (vida e costumes)**. Belo Horizonte: Editora Itatiaia, v. 9, p. 89-106, 1982.
- SANTOS, M. M. DOS; LIMA, S. DE O.; FERNANDES, P. M. Preferência alimentar de *Corniterme cumulans* e *Cornitermes snyderi* a variedades de cana-de-açúcar em condições de laboratório. **Anais Esc. Agron. e Vet.**, v. 26, n. 2, p. 65-69, 1996.
- SCHMITT, A. T.; GOWEN, S. R.; HAGUE, N. G. M. Baiting technique for the control of *Cosmopolites sordidus* Germar by *Steinernema carpocapsae*. **Nematropica**, v. 22, p. 159-163, 1992.

SCHROEDER, W.J. Suppression of *Diaprepes abbreviatus* (Coleoptera: Curculionidae) adult emergence with soil application of entomopathogenic nematodes (Nematoda: Rhabditida).

Florida Entomologist, v. 73, n. 4, p. 680-683, 1990.

SMART JR, G.C. Entomopathogenic nematodes for the biological control of insects.

Supplement to the Journal of Nematology, v. 27, n. 45, p. 529-534, 1995.

TREVERROW, N.L.; BEDDING, R.A. Development of a system for the control of the banana weevil borer, *Cosmopolites sordidus* Germar (Coleoptera: Curculionidae) with entomopathogenic nematodes. In: Bedding, R.; Akhrust, R.; Kaya, H. K. (eds.). **Nematodes and biological control of insect pests**. Melbourne: CSIRO, 1993. p.41- 47

VALÉRIO, J. R.; SANTOS, A.V. DOS; SOUZA, A. P.; MACIEL, A. M.; OLIVEIRA, M. C. M. Controle químico e mecânico de cupins de montículo (Isoptera: Termitidae) em pastagens. **Anais da Sociedade Entomológica do Brasil**, v. 27, n.1, p. 125-132,1998.

VALÉRIO, J.R.; MACEDO, N.; WILCKEN, C.F. & R. CONSTANTINO. Cupins em pastagens, cana-de-açúcar e plantações florestais. In: SALVADORI, J. R.; ÁVILA, C. J.; SILVA, M. T. B. da. (ed.). **Pragas de solo no Brasil**. Passo Fundo:Embrapa Trigo; Dourados:Embrapa Agropecuária Oeste; Cruz Alta:Fundacep Fecotrigo, 2004. p. 400-456.

VALÉRIO, J.R.; SANTOS, A.V.; SOUZA, A.P.; BARBOSA, L.R. & M.C.M. OLIVEIRA. Níveis de infestação de cupins-de-montículo em pastagens de diferentes gramíneas forrageiras. p.236. 2006.

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**, Porto Alegre, v. 21, n. 3, p. 329 - 338, 1992.

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

ZANETTI, R. 2003. **Manejo integrado de cupins**. Disponível em www.ufla.br

ZANETTI, R.; CARVALHO, G.A.; SOUZA-SILVA, A.; SANTOS, A. DOS; GODOY, M.S. **Manejo integrado de cupins**. Notas de aula, Prof. Ronald Zanetti – DEN/UFLA. Disponível em www.ufla.br.