

PROTEÇÃO DE PLANTAS**Efeito de Imidacloprid e Fipronil sobre *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuill. e *Metarhizium anisopliae* (Metsch.) Sorok. e no Comportamento de Limpeza de *Heterotermes tenuis* (Hagen)**ALCIDES MOINO JR.¹ E SÉRGIO B. ALVES²¹Departamento de Entomologia, UFLA, Caixa postal 37, 37200-000, Lavras, MG.²Departamento de Entomologia, ESALQ/USP, Caixa postal 9, 13418-900, Piracicaba, SP.

An. Soc. Entomol. Brasil 27(4): 611-619 (1998)

Effects of Imidacloprid and Fipronil on *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuill. and *Metarhizium anisopliae* (Metsch.) Sorok. and on the Grooming Behavior of *Heterotermes tenuis* (Hagen)

ABSTRACT - The fungitoxic effects of imidacloprid and fipronil on the entomopathogenic fungi *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuill. and *Metarhizium anisopliae* (Metsch.) Sorok. were evaluated. The colony radial growth and conidial production were measured in the presence of the insecticides added to the culture medium. Imidacloprid was less toxic to the fungi than fipronil, and *M. anisopliae* was less affected by either insecticide than *B. bassiana*. The changes in the grooming behavior of *Heterotermes tenuis* (Hagen) under the action of the insecticides was also evaluated. Using scanning electron microscopy, conidia of *B. bassiana* and *M. anisopliae* were observed on the surface of the insect tegument at different times after inoculation. Imidacloprid at sublethal concentrations affected the grooming behavior of *H. tenuis*, while fipronil did not alter this behavior.

KEY WORDS: Insecta, entomopathogenic fungi, subterranean termites, control.

RESUMO - Avaliou-se o efeito fungitóxico dos inseticidas imidacloprid e fipronil sobre os fungos entomopatogênicos *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuill. e *Metarhizium anisopliae* (Metsch.) Sorok., por meio da medição do diâmetro de colônias e contagem do número de conídios produzidos por colônia que cresceu em meio de cultura contendo esses inseticidas. O imidacloprid foi menos tóxico para *B. bassiana* e *M. anisopliae* que o fipronil, sendo que *M. anisopliae* mostrou-se menos suscetível que *B. bassiana* aos dois produtos. Também foi avaliada a alteração no comportamento de limpeza de operários de *Heterotermes tenuis* (Hagen) sob a ação dos dois produtos. Para isso foram observados, com o auxílio da microscopia eletrônica de varredura, os conídios dos dois entomopatógenos presentes na superfície do tegumento dos insetos em diferentes horários após a inoculação. O produto imidacloprid em concentrações subletais alterou o comportamento de limpeza dos operários de *H. tenuis*, enquanto fipronil não provocou alteração nesse comportamento.

PALAVRAS-CHAVE: Insecta, fungos entomopatogênicos, cupins subterrâneos, controle.

O controle associado, utilizando produtos fitossanitários seletivos em conjunto com a aplicação de entomopatógenos, pode contribuir para o manejo de uma determinada praga. A interação dos aspectos relacionados à seletividade e ao controle associado deve ser bem estudada, principalmente no caso dos cupins subterrâneos em cana-de-açúcar, onde se aplica a estratégia de controle de *Heterotermes tenuis* (Hagen) usando-se de iscas de papelão corrugado impregnadas com inseticidas e fungos entomopatogênicos (Almeida & Alves 1996). A ação de produtos fitossanitários sobre entomopatógenos pode variar desde a inibição do crescimento vegetativo e da conidiogênese, até a ocorrência de mutações genéticas, alterando sua virulência (Alves *et al.* 1998). Ao se considerar a estratégia do controle associado, deve-se atentar para os possíveis efeitos fungitóxicos dos produtos fitossanitários a serem utilizados.

A capacidade estressora de alguns produtos fitossanitários favorece a utilização do controle associado, atuando em mecanismos comportamentais, como no caso dos cupins. Nesses insetos, a capacidade de limpeza dos indivíduos mantém as colônias livres de patógenos, dificultando o controle microbiano, sendo que a utilização de inseticidas em concentrações subletais pode alterar esse comportamento, agindo de forma sinérgica (Zeck 1992, Boucias *et al.* 1996a). Também outros hábitos comportamentais como trofalaxia, tigmotropismo, lambimento ("grooming") e canibalismo podem contribuir para o estabelecimento de epizootias nas colônias, facilitando a disseminação dos patógenos dos indivíduos infectados para os sadios, sendo relevantes no aspecto de defesa do inseto contra o estabelecimento de agentes patogênicos (Almeida & Alves 1996, Boucias *et al.* 1996b).

Neste trabalho avaliou-se o efeito fungitóxico das formulações comerciais de imidacloprid e fipronil sobre *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuill. e *Metarhizium anisopliae* (Metsch.) Sorok., bem como o efeito desses inseticidas na alteração do comportamento de limpeza de *H. tenuis* quando inoculado com os dois fungos entomopatogênicos.

Material e Métodos

Avaliação do Efeito Fungitóxico de Imidacloprid e Fipronil sobre *B. bassiana* e *M. anisopliae*. Foram utilizados os isolados 634 (*B. bassiana*) e E-9 (*M. anisopliae*), armazenados no Banco de Patógenos do Laboratório de Patologia de Insetos (Departamento de Entomologia, ESALQ/USP). Testaram-se duas formulações comerciais de inseticidas registradas para o controle de cupins na cultura da cana-de-açúcar: imidacloprid (Confidor 700 GrDA, Bayer S.A.) e fipronil (Regent 800 WG, Rhodia Agro Ltda.). Considerando-se a utilização de concentrações subletais dos inseticidas para associação com fungos entomopatogênicos no controle de *H. tenuis*, as formulações foram testadas na concentração média recomendada e a uma concentração 70% inferior.

Os fungos foram inoculados em placas de Petri com meio BDA (batata-dextrose-ágar), acrescido das duas concentrações de cada produto, e de um tratamento testemunha (sem adição dos produtos), totalizando cinco tratamentos para cada fungo. Foram feitas quatro placas por tratamento, sendo a inoculação realizada por meio de uma alça de platina, em três pontos equidistantes por placa, totalizando 12 colônias de fungo, das quais seis colônias foram aleatoriamente selecionadas, resultando em seis repetições

por tratamento. A adição dos produtos ao meio de cultura foi feita com o mesmo ainda líquido, a uma temperatura próxima dos 40°C, após o que, o meio foi vertido nas placas, sendo feita, após a sua solidificação, a inoculação dos entomopatógenos.

Para o cálculo das concentrações proporcionais dos produtos, considerou-se um volume médio de aplicação de 300 litros/ha. Assim, os seguintes tratamentos foram obtidos: testemunha - sem adição de produto; imidacloprid: 33,3 mg p.c./100 ml BDA (concentração média recomendada de 100 g p.c./ha); imidacloprid (-): 9,9 mg p.c./100 ml BDA (concentração 70% inferior); fipronil: 83,3 mg p.c./100 ml BDA (concentração média recomendada de 250 g p.c./ha); fipronil (-): 24,9 mg p.c./100 ml BDA (concentração 70% inferior). Após a inoculação dos entomopatógenos, as placas foram mantidas em estufas incubadoras B.O.D. a $26 \pm 0,5^\circ\text{C}$ e fotofase de 12 h, por um período de 10 dias, quando então foram medidos os diâmetros médios das colônias e feita a contagem do número de conídios produzidos por colônia, em câmara de Neubauer.

Os dados obtidos foram submetidos à análise de variância e teste de Tukey ($P < 0,05$) para comparação entre as médias, além do cálculo de um fator de compatibilidade (valor "T"), proposto por Alves *et al.* (1998).

Estudo do Comportamento de Limpeza de *H. tenuis* na Eliminação do Inóculo de *B. bassiana* e *M. anisopliae*, sob o Efeito de Imidacloprid e Fipronil. Os inseticidas foram impregnados em papel de filtro (6,0 cm de diâmetro) nas proporções de 0,01 e 0,001% (peso/peso), por meio de imersão em solução aquosa, utilizando-se um volume de 100 ml de água destilada estéril por tratamento. No tratamento testemunha o papel foi imerso somente em água destilada. Os discos de papel de filtro impregnados foram colocados em placas plásticas de poliestireno de 6,0 cm x 1,5 cm, cobertas com tampa telada, e mantidos para secagem por 24 h, sendo feitas três placas por tratamento.

Em seguida, operários de *H. tenuis*,

coletados por armadilhas de papelão corrugado (Termitrap®), foram inoculados com 0,1 ml de uma suspensão de 10^9 conídios/ml dos fungos *B. bassiana* ou *M. anisopliae* para cada grupo de 20 insetos. Os insetos foram então transferidos para as placas com papel de filtro previamente impregnado com os inseticidas ou com água destilada. Dessa forma, resultaram os seguintes tratamentos: *B. bassiana*; *M. anisopliae*; *B. bassiana* + imidacloprid (0,01%); *B. bassiana* + imidacloprid (0,001%); *B. bassiana* + fipronil (0,01%); *B. bassiana* + fipronil (0,001%); *M. anisopliae* + imidacloprid (0,01%); *M. anisopliae* + imidacloprid (0,001%); *M. anisopliae* + fipronil (0,01%) e *M. anisopliae* + fipronil (0,001%).

Foram retirados 10 insetos de cada tratamento, preparando-se dois suportes para observação ao microscópio eletrônico de varredura, com cinco insetos cada, nos períodos de 0, 6, 12 e 24 h após a inoculação com os entomopatógenos. Os espécimes foram preparados pela técnica de fixação em vapor de OsO_4 (tetróxido de ósmio). Esta consiste na manutenção dos insetos por 48 h em câmara plástica hermética com placa de Petri contendo um filme líquido de OsO_4 , o qual, ao volatilizar, promove a fixação dos espécimes. Após esse processo, o material foi deixado por 72 h em dessecador de vidro com sílica-gel, para manutenção da umidade relativa próxima a 0%. A última etapa da preparação do material foi a metalização com ouro em Evaporador Balzers, modelo MED 010, por 120 segundos. O material preparado foi observado e fotografado ao microscópio eletrônico de varredura (Zeiss, modelo DMS 940), no Laboratório do Núcleo de Apoio à Pesquisa - Microscopia Eletrônica Aplicada à Pesquisa Agropecuária (NAP-MEPA), da ESALQ/USP.

Resultados e Discussão

Avaliação do Efeito Fungitóxico de Imidacloprid e Fipronil sobre *B. bassiana* e *M. anisopliae*. Com relação a *B. bassiana*, observou-se que o efeito causado pelo produto

imidacloprid foi menor, principalmente no caráter diâmetro de colônias, no qual as médias dos tratamentos imidacloprid e imidacloprid (-) foram semelhantes à média obtida no tratamento testemunha. Quando comparados os valores do número de conídios produzidos por colônia, observa-se que o tratamento imidacloprid (-) foi o que provocou menor efeito, como no parâmetro anterior, sendo que a concentração recomendada do produto provocou efeito semelhante aos tratamentos com fipronil, reduzindo a produção de conídios de *B. bassiana* em relação à testemunha. O produto fipronil causou maior efeito, tanto no número de conídios produzidos como no diâmetro das colônias do fungo (Tabela 1). Com relação a *M. anisopliae*, foi obtido um efeito semelhante ao provocado em *B. bassiana* quanto ao

dois parâmetros avaliados. Pode-se notar que alguns tratamentos proporcionaram médias de número de conídios produzidos por colônia e/ou diâmetro médio de colônias superiores às obtidas no tratamento testemunha. Aparentemente conflitantes, esses números reforçam um aspecto que tem sido comum em trabalhos que seguem essa metodologia de avaliação do efeito tóxico de produtos fitossanitários sobre entomopatógenos *in vitro* (Alves *et al.* 1998). Uma hipótese a ser levantada é o fato de que o microrganismo, ao metabolizar os princípios tóxicos do ingrediente ativo, num mecanismo de resistência fisiológica, provoque a liberação no substrato (meio) de moléculas que possam utilizar como nutrientes secundários, promovendo seu crescimento vegetativo e conidiogênese. Outra possibilidade é de que

Tabela 1. Diâmetro de colônias (média \pm EP) e número de conídios produzidos por colônia (média \pm EP) de *Beauveria bassiana* (isolado 634) sob o efeito de imidacloprid e fipronil.

Tratamento	Diâmetro (mm)	Número de conídios/colônia (x 10 ⁸)
	n = 6	n = 6
Testemunha	15,7 \pm 0,99 a	11,9 \pm 1,13 a
Fipronil	10,9 \pm 0,37 b	7,1 \pm 0,23 b
Fipronil (-) ¹	11,2 \pm 0,38 b	8,1 \pm 0,68 b
Imidacloprid	17,0 \pm 0,58 a	8,8 \pm 0,53 b
Imidacloprid (-) ¹	16,7 \pm 0,68 a	14,3 \pm 0,65 a

¹Concentrações dos produtos 70% inferiores às recomendadas.

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

parâmetro diâmetro de colônias. Porém, analisando-se o número de conídios produzidos por colônia, não se constatou diferença entre os tratamentos, indicando um menor efeito dos produtos sobre *M. anisopliae* (Tabela 2). O imidacloprid, principalmente na concentração 70% inferior à recomendada, reduziu pouco o crescimento vegetativo e a conidiogênese de *B. bassiana*, quando comparado ao produto fipronil. Para *M. anisopliae*, os produtos pouco alteraram os

o fungo, numa atividade comparável ao que ocorre com seres vivos em geral, utilize todo seu esforço reprodutivo quando em presença de um princípio tóxico que altere seu ambiente, prejudicando o seu desenvolvimento, resultando assim, em maiores níveis de crescimento vegetativo e conidiogênese.

Alves *et al.* (1998) desenvolveram um modelo de classificação de produtos químicos quanto à toxicidade sobre fungos entomo-

Tabela 2. Diâmetro de colônias (média ± EP) e número de conídios produzidos por colônia (média ± EP) de *Metarhizium anisopliae* (isolado E-9) sob o efeito de imidacloprid.

Tratamento	Diâmetro (mm)	Número de conídios/colônia (x 10 ⁸)
	n = 6	n = 6
Testemunha	16,6 ± 0,76 a	6,8 ± 0,45 a
Fipronil	12,2 ± 0,50 b	5,8 ± 0,39 a
Fipronil (-) ¹	12,7 ± 0,28 b	6,1 ± 0,66 a
Imidacloprid	17,2 ± 0,11 a	6,3 ± 0,23 a
Imidacloprid (-) ¹	16,9 ± 0,33 a	6,9 ± 0,44 a

¹Concentrações dos produtos 70% inferiores às recomendadas.

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

patogênicos. Esse sistema baseia-se em valores médios de porcentagem de conidiogênese e crescimento vegetativo das colônias dos fungos, para testes *in vitro*, realizados em meio de cultura sólido. O índice leva em conta a produção de conídios como fator mais importante, quando comparado com o crescimento vegetativo, já que são os propágulos do fungo que vão atuar no desenvolvimento da doença. Assim, se uma colônia cresce pouco, mas produz muitos conídios, a taxa de disseminação da doença tende a ser maior que a de uma colônia bem desenvolvida, mas com menor conidiogênese. Outro aspecto relevante desse modelo é a tentativa de padronização dos testes de avaliação do efeito de produtos fitossanitários sobre fungos entomopatogênicos *in vitro*. No modelo proposto, calculam-se valores percentuais com relação à testemunha (100%), aplicando-se, em seguida, para cada produto testado, a seguinte fórmula:

$$T = \frac{20(CV) + 80(ESP)}{100}, \text{ onde:}$$

T = valor corrigido para classificação do produto; CV = porcentagem de crescimento vegetativo relativo à testemunha; ESP = porcentagem de esporulação (conidiogênese) relativa à testemunha.

Os valores de T são classificados pelos seguintes limites: 0 a 30 = muito tóxico; 31 a

45 = tóxico; 46 a 60 = moderadamente tóxico; > 60 = compatível. A classificação dos produtos imidacloprid e fipronil, com relação à sua toxicidade aos fungos *B. bassiana* e *M. anisopliae*, de acordo com esse modelo encontra-se na Tabela 3. Os estudos *in vitro* têm a vantagem de expor ao máximo o microrganismo à ação do produto químico, fato que não ocorre em condições de campo, onde vários fatores servem de obstáculo a essa exposição. Assim, constatada a inocuidade de um produto em laboratório, não há dúvidas sobre a sua seletividade em campo. Por outro lado, a alta toxicidade de um produto *in vitro* nem sempre indica a sua elevada toxicidade em campo, mas sim a possibilidade da ocorrência de danos dessa natureza (Alves *et al.* 1998). No caso dos produtos imidacloprid e fipronil, a despeito de haver diferenças médias de até cerca de 30% no crescimento vegetativo e conidiogênese de *B. bassiana* e *M. anisopliae*, pode-se considerar as duas formulações como compatíveis com esses entomopatógenos, quando utilizadas nas concentrações médias recomendadas ou em concentrações subletais (Tabela 3).

A utilização de iscas atrativas com patógenos associados a produtos fitossanitários compatíveis é uma estratégia que pode viabilizar o uso desses microrganismos, tornando as aplicações mais eficientes e econômicas. Assim, Almeida & Alves (1996)

Tabela 3. Valores calculados do índice “T” e classificação dos produtos imidacloprid e fipronil em relação ao efeito fungitóxico sobre *Beauveria bassiana* (isolado 634) e *Metarhizium anisopliae* (isolado E-9).

Tratamentos	Valores de “T” ¹		Classificação ¹	
	<i>B. bassiana</i>	<i>M. anisopliae</i>	<i>B. bassiana</i>	<i>M. anisopliae</i>
Fipronil	61,9	83,1	Compatível	Compatível
Fipronil (-) ²	69,1	87,2	Compatível	Compatível
Imidacloprid	81,0	95,8	Compatível	Compatível
Imidacloprid (-) ²	117,8	102,0	Compatível	Compatível

¹Segundo Alves *et al.* (1998).

²Concentrações dos produtos 70% inferiores às recomendadas.

estudaram a utilização de imidacloprid em associação com *B. bassiana* para o controle do cupim *H. tenuis* com iscas atrativas. Foram utilizadas concentrações subletais do produto químico, com a finalidade de provocar um estresse na praga, tornando-a mais sensível à ação do patógeno, visando diminuir e racionalizar o número de aplicações e a quantidade do produto necessária ao controle da praga. Nesse trabalho, os autores constataram a compatibilidade entre o fungo *B. bassiana* e o imidacloprid, de forma indireta, pois a presença do produto nas iscas não afetou a mortalidade dos cupins causada pelo entomopatógeno. Boucias *et al.* (1996b), em bioensaios realizados visando o controle do cupim *Reticulitermes flavipes* (Kollar), demonstraram que o produto imidacloprid foi inócuo a *B. bassiana*, não interferindo nos diversos aspectos do desenvolvimento desse fungo. Batista F^o *et al.* (1996) avaliaram a compatibilidade do produto fipronil com o fungo *B. bassiana*, visando sua utilização conjunta para o controle de *Cosmopolites sordidus* Germar. Mostraram que fipronil não provocou redução significativa na produção de conídios, apesar de ter afetado ligeiramente o diâmetro médio da colônia quando comparado à testemunha, além de não ter havido alterações na viabilidade dos conídios produzidos. Comparando os resultados obtidos por esses autores com os obtidos no

presente trabalho, alguns pontos devem ser ressaltados. Além do efeito do ingrediente ativo (no caso, fipronil), pode haver um efeito secundário ou, em alguns casos, até mais significativo, um efeito do inerte adicionado à formulação comercial. Assim sendo, algumas restrições devem ser feitas na comparação referida, pois no trabalho de Batista F^o *et al.* (1996) foi usada a formulação 20 G do produto fipronil, enquanto que, no presente estudo, utilizou-se a formulação 800 WG (grânulos dispersíveis em água).

Torna-se importante, também, a realização de testes de patogenicidade com o microrganismo que cresceu no meio de cultura sob a influência do produto químico, com vistas à detecção de alterações que levem a perdas de patogenicidade e virulência do patógeno quando da aplicação do defensivo. Isso pode ser feito com qualquer inseto-teste, dando-se preferência a espécies suscetíveis ao patógeno e de fácil criação em laboratório, como *Diatraea saccharalis* (Fabricius) e *Galleria mellonella* L., para que seja possível a realização de bioensaios padronizados.

Estudo do Comportamento de Limpeza de *H. tenuis* na Eliminação do Inóculo de *B. bassiana* e *M. anisopliae*, sob o Efeito de Imidacloprid e Fipronil. O efeito no comportamento de limpeza de *H. tenuis* pode ser observado, comparando-se a quantidade

de conídios depositada na superfície do tegumento dos insetos logo após a inoculação com *B. bassiana* ou *M. anisopliae* (Fig. 1 A, G) com a quantidade presente no tegumento, decorridas 6 h após a inoculação (Fig. 1 B, H). A assepsia é feita pelos operários de *H. tenuis*, provavelmente, por meio do mecanismo conhecido por “grooming”, ou lambimento, e também pela remoção utilizando os tarsos e garras, fato que pode explicar a grande quantidade de conídios observada nessas estruturas. Considerando-se a hipótese da assepsia por lambimento, pode-se inferir que ocorre a ingestão e desativação dos conídios no aparelho digestivo dos cupins. Boucias *et al.* (1996a), trabalhando com *R.*

flavipes, verificaram que os conídios ingeridos pelos cupins não causaram infecção, além do que, em estudos complementares, esses autores detectaram que a flora microbiana existente em *R. flavipes* possui alta atividade fungistática para *B. bassiana*, promovendo a inibição da germinação de conídios. No entanto, Bao & Yendol (1971) verificaram que conídios de *B. bassiana* haviam perdido sua integridade no aparelho digestivo de *R. flavipes*, porém, em alguns deles, em pequena quantidade, foi observada a ocorrência de germinação e penetração no epitélio do mesêntero. Considerando-se a segunda hipótese, a da remoção dos conídios sem ingestão dos mesmos, pode-se afirmar que

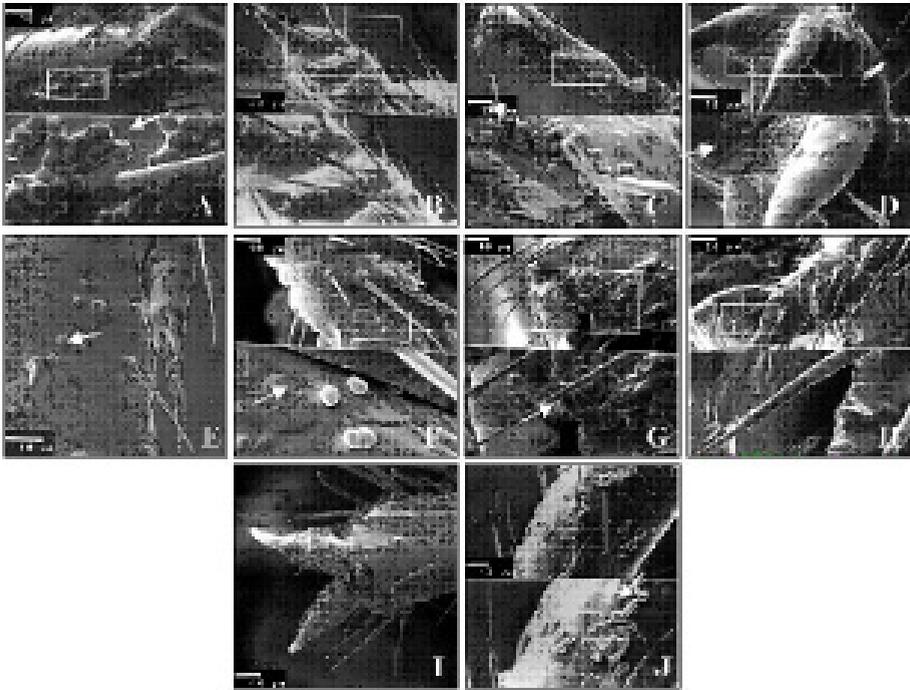


Figura 1. Alterações no comportamento de limpeza de *Heterotermes tenuis* inoculado com *Beauveria bassiana* (isolado 634) (A a F) e *Metarhizium anisopliae* (isolado E-9) (G a J). Fotografias ao Microscópio Eletrônico de Varredura. A e B) Testemunha às 0 e 6 horas após a inoculação (aumentos de 1000 X 4 e 500 X 2, respectivamente). C) Imidacloprid (0,001%) às 6 horas (500 X 4). D) Imidacloprid (0,01%) às 6 horas (1000 X 2). E) Fipronil (0,001%) às 6 horas (1500 X). F) Fipronil (0,01%) às 6 horas (1000 X 4). G e H) Testemunha às 0 e 6 horas (1000 X 2 e 500 X 4, respectivamente). I) Imidacloprid (0,001%) às 6 horas (1000 X). J) Imidacloprid (0,01%) às 6 horas (1000 X 2).

esses devem ser depositados em outros lugares, evitando-se, assim, a contaminação do resto da colônia. Para *R. flavipes*, Boucias *et al.* (1996a) observaram a utilização das galerias e túneis desses cupins subterrâneos para a desativação dos conídios, provavelmente pela atividade antimicrobiana existente no solo, bem como pela adição de substâncias pelos próprios cupins, através da saliva, que contém microrganismos antagonicos no seu aparelho digestivo.

No presente trabalho, quando se utilizou o produto imidacloprid, observou-se, nas duas concentrações estudadas, uma grande alteração no comportamento de limpeza dos cupins. As concentrações utilizadas apresentaram efeitos subletais, ocorrendo a morte dos insetos depois de um período de mais de 24 h do contato com o produto. Almeida & Alves (1996) já haviam selecionado essas duas concentrações para a utilização associada de imidacloprid e *B. bassiana* em iscas de papelão, para o controle de *H. tenuis*. Essa alteração no comportamento de limpeza foi observada para *B. bassiana* (Fig. 1 C, D) e *M. anisopliae* (Fig. 1 I, J), comparando-se os insetos nos tratamentos imidacloprid (0,001%) e imidacloprid (0,01%) com a testemunha, 6 h após a inoculação. Segundo Boucias *et al.* (1996b), 72% dos conídios de *B. bassiana* foram removidos nas 2 h após a inoculação, em *R. flavipes*, sendo que, depois de 24 h, praticamente não foram observados conídios sobre os insetos. Dessa forma, o produto imidacloprid altera a resistência comportamental observada naturalmente nos cupins. Aliado ao entomopatígeno, esse produto pode agir de forma sinérgica, permitindo que uma maior quantidade de conídios possa germinar e iniciar o processo infectivo. Essa associação pode assegurar que tanto o produto como o patógeno possam ser utilizados em concentrações reduzidas, diminuindo custos e aumentando a segurança e a eficiência do controle. Além disso, como demonstrado no item anterior, o imidacloprid é compatível com o entomopatígeno, favorecendo a sua utilização associada ao

patógeno.

O produto fipronil não provocou alteração alguma no comportamento de limpeza dos insetos, nas duas concentrações utilizadas. Comparando-se a quantidade de conídios de *B. bassiana* depositados sobre os insetos, decorridas 6 h da inoculação com a testemunha, percebe-se que houve a retirada quase total dos conídios (Fig. 1 E, F). Não foram feitos registros com relação ao fungo *M. anisopliae*, pois não houve conídios depositados na superfície dos insetos, nas 6 h após a inoculação, sendo o material idêntico à testemunha. Essa diferença entre os dois produtos pode estar ligada ao modo de ação de cada ingrediente ativo sobre o inseto. Imidacloprid é um inseticida sistêmico do grupo das nitroguanidinas, com ação de contato e ingestão que atua como uma neurotoxina, ligando-se ao receptor nicotínico da acetilcolina (Boucias *et al.* 1996b). Fipronil é um inseticida do grupo fenil pirezol, que também atua sobre o sistema nervoso central, porém, como um inibidor reversível do receptor GABA (ácido gama-aminobutírico) (Andrei 1996). Analisando-se bioensaios preliminares, e observando-se o comportamento dos insetos após o contato com os dois inseticidas, percebe-se que, nas concentrações utilizadas, fipronil parece ser bem mais tóxico, alterando rapidamente a mobilidade dos insetos e provocando mortalidade mais precocemente. Porém, esse efeito não se notabilizou por alterar o comportamento de limpeza dos insetos na presença desse produto, ao contrário do que ocorre com imidacloprid. Dessa forma, não se pode considerar o produto fipronil, nas concentrações analisadas, como sendo um estressor, que venha a ser utilizado na estratégia preconizada, em associação ao entomopatígeno para o controle de *H. tenuis*.

Agradecimentos

À FINER, pelo suporte financeiro para a realização desta pesquisa. Ao Prof. Elliot W. Kitajima e à técnica Sylvania Machado, do NAP-MEPA (ESALQ/USP), pela oportu-

nidade e apoio na utilização do microscópio eletrônico de varredura.

Literatura Citada

- Almeida, J.E.M. & S.B. Alves. 1996.** Mortalidade de *Heterotermes tenuis* (Hagen) atraídos por armadilhas com *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuill. e imidacloprid. An. Soc. Entomol. Brasil 25: 507-512.
- Alves, S.B., A. Moino Jr. & J.E.M. Almeida. 1998.** Produtos fitossanitários e entomopatógenos. p. 217-238. In S.B. Alves (ed.), Controle microbiano de insetos. São Paulo, Fealq, 1163 p.
- Andrei. 1996.** Compêndio de defensivos agrícolas. 5ª ed., São Paulo, Organização Andrei Editora Ltda., 506p.
- Bao, L. & W.G. Yendol. 1971.** Infection of the eastern subterranean termite, *Reticulitermes flavipes* (Kollar) with the fungus *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuill. Entomophaga 16: 343-352.
- Batista Fº, A., L.G. Leite, E.B. Alves & J.C. Aguiar. 1996.** Controle de *Cosmopolites sordidus* (Coleoptera: Curculionidae) por fipronil e seu efeito sobre *Beauveria bassiana*. Arq. Inst. Biol. 63: 47-51.
- Boucias, D.G., J.C. Pendland & M.R. Faria. 1996a.** Insect defense mechanisms against microorganisms. p. 249-257. In Simpósio de Controle Biológico, 6. Anais: conferências e palestras. Foz do Iguaçu, Embrapa/CNPSo, 448 p.
- Boucias D. G., C. Stokes, G. Storey & J.C. Pendland. 1996b.** The effect of imidacloprid on the termite *Reticulitermes flavipes* and its interaction with the mycopathogen *Beauveria bassiana*. Pflanzenschutz-Nachrichten Bayer 49: 103-144.
- Zeck, W. M. 1992.** Synergism between a new insecticide and entomophagous fungi in the control of subterranean termites. p. 304. In Annual Meeting of Society for Invertebrate Pathology, 25. Abstracts. Heidelberg, Society for Invertebrate Pathology, 325 p.

Recebido em 20/01/98. Aceito em 04/09/98.
