

# Efeitos de isolados do fungo *Isaria* (Persoon) sobre o cupim subterrâneo *Coptotermes gestroi* (Wasmann) (Isoptera: Rhinotermitidae)

## *Effects of Isaria (Persoon) isolates on the subterranean termite Coptotermes gestroi (Wasmann) (Isoptera: Rhinotermitidae)*

Eliana Maria dos Passos<sup>1\*</sup>, Auristela Correia Albuquerque<sup>2</sup>, Edmilson Jacinto Marques<sup>1</sup>, Valéria Wanderley Teixeira<sup>3</sup>, Cinthia Conceição Matias da Silva<sup>1</sup>, Marco Aurélio Paes de Oliveira<sup>2</sup>

**RESUMO:** *Coptotermes gestroi* (Wasmann) é considerada uma das espécies mais destrutivas de cupins subterrâneos, por causar danos a edificações, à arborização urbana e a culturas. Uma alternativa para o controle desse inseto pode ser o uso de agentes biocontroladores, como os fungos entomopatogênicos. *Isaria* (Persoon) tem sido indicado no controle de térmitas subterrâneos, inclusive do gênero *Coptotermes*. Dessa forma, o presente trabalho teve como objetivo selecionar isolados de *Isaria* patogênicos ao cupim *C. gestroi*. Os insetos pulverizados com suspensões fúngicas de *I. farinosa*, *I. fumosorosea* e *I. javanica* foram avaliados diariamente para a determinação da mortalidade. Todos os isolados foram patogênicos, ocasionando mortalidade acima de 70%, e virulentos, apresentando uma sobrevivência média de 2,0 a 3,9 dias. Contudo, os isolados ESALQ-1205 de *I. farinosa*, ESALQ-1296 de *I. fumosorosea* e os isolados URM-4995 e URM-4993 de *I. javanica* mostraram-se mais virulentos. A  $CL_{50}$  estimada para os isolados ESALQ-1205 de *I. farinosa*, URM-4995 de *I. javanica* e ESALQ-1296 de *I. fumosorosea* resultou em valores de  $3,7 \times 10^5$ ,  $1,4 \times 10^6$  e  $2,7 \times 10^6$  conídios  $mL^{-1}$ , respectivamente. Tais resultados confirmam a eficiência dos isolados testados sobre os operários de *C. gestroi*. No entanto, novos estudos são necessários para verificar a melhor forma de utilização, bem como a sua efetividade em campo.

**PALAVRAS-CHAVE:** térmitas; controle microbiano; patogenicidade; sobrevivência.

**ABSTRACT:** *Coptotermes gestroi* (Wasmann) is considered to be one of the most destructive species of subterranean termites because of the damage caused on edifications, urban trees, and crops. One alternative to control it is the use of biocontrol agents, such as the entomopathogenic fungi. The genus *Isaria* (Persoon) has been suggested for the control of subterranean termites, including the *Coptotermes* genus. Therefore, the present work aim was to select isolates of *Isaria* pathogenic to *C. gestroi*. The workers were sprayed with fungi suspensions of *I. farinosa*, *I. fumosorosea* and *I. javanica*, and evaluated every day to determine mortality. All isolates were pathogenic towards *C. gestroi* with mortality rates higher than 70%, and virulent, with mean of survival of 2.0 up to 3.9 days. Among the isolates, the ESALQ-1205 isolate of *I. farinosa*, the ESALQ-1296 isolate of *I. fumosorosea*, URM-4995 and URM-4993 isolates of *I. javanica* showed the highest virulence. The estimated  $CL_{50}$  for the ESALQ-1205 isolate of *I. farinosa*, URM-4995 isolate of *I. javanica* and ESALQ-1296 isolate of *I. fumosorosea* was  $3.7 \times 10^5$ ,  $1.4 \times 10^6$  and  $2.7 \times 10^6$  conidia  $mL^{-1}$ , respectively. These results suggest high efficiency of these isolates towards the *C. gestroi* workers. Nevertheless, further studies are necessary to determine a way of using them as well as their efficacy in field.

**KEYWORDS:** termites; microbial control; pathogenicity; survivorship.

<sup>1</sup>Departamento de Agronomia/Entomologia; Universidade Federal Rural de Pernambuco (UFRPE) – Recife (PE), Brasil.

<sup>2</sup>Departamento de Biologia/Zoologia; UFRPE – Recife (PE), Brasil.

<sup>3</sup>Departamento de Morfologia e Fisiologia Animal; UFRPE – Recife (PE), Brasil.

\*Autor correspondente: bisologa@hotmail.com

Recebido em: 08/07/2012. Aceito em: 20/04/2014

## INTRODUÇÃO

*Coptotermes gestroi* (WASMANN) é um térmita subterrâneo de origem asiática, considerado como praga agrícola e de edificações, o qual vem se estabelecendo nas regiões tropical e subtropical do mundo (JENKINS *et al.*, 2007). No Brasil, existem grandes infestações na região Sudeste, além de ocorrências registradas nos estados de Pernambuco (FONTES; VEIGA, 1998), Ceará, Bahia, Pará e Paraná (FERRAZ, 2000). Os indivíduos desta espécie, além de causarem enormes danos a edificações urbanas ou rurais, comprometem a arborização urbana e são considerados como praga agrícola (FONTES, 1995; COSTA-LEONARDO, 2002).

A principal tática de controle utilizada para diminuir as infestações de térmitas subterrâneos como o *C. gestroi* é a aplicação de inseticidas. No entanto, mesmo com a substituição dos clorados por outros grupos de inseticidas de menor poder residual, como piretroides, neonicotinoides, fenil pirazol, reguladores de crescimento e éter difenílico, a utilização desses produtos ainda apresenta alguma limitação, como o efeito residual (POTENZA; ZORZENON, 2006). O controle de *C. gestroi* se torna ainda mais difícil devido ao enorme tamanho de suas populações, ninhos policíclicos, presença de neotênicos e forrageamento a longas distâncias (COSTA-LEONARDO, 2002).

Uma alternativa para o controle desse inseto pode ser o uso de agentes biocontroladores, especialmente os fungos entomopatogênicos, pois as condições dos ninhos dos cupins, com temperatura moderada e umidade alta, contribuem para o crescimento de espécies de fungos e são fatores importantes para a sobrevivência e a propagação desses agentes de controle biológico (KRAMM *et al.*, 1982; IGNOFFO, 1992). CHOUVENC *et al.* (2011), analisando 50 anos de pesquisa sobre o controle microbiano de térmitas, constataram que 65% de todos os experimentos relatados testaram uma espécie fúngica; das mais de 20 espécies testadas para a patogenicidade, cerca de 15 mostraram-se virulentas.

Estudos têm demonstrado que *Metarhizium anisopliae* (Metsch.) Sorok. é virulento a térmitas subterrâneas e causa grande mortalidade em alados e operários de *Coptotermes* (WRIGHT *et al.*, 2005; MAKETON *et al.*, 2007). Além disso, não apresentam repelência a esses térmitas, sendo bons candidatos para o uso em campo (WRIGHT; CORNELIUS, 2012). Sugere-se ainda seu uso como isca, em uma mistura de conídios e atrativos (WANG; POWELL, 2004; BALACHANDER *et al.*, 2013).

Contudo, fungos do gênero *Isaria* (Persoon) têm se destacado no controle de espécies de térmitas subterrâneas, através da utilização de linhagens de *Isaria fumosorosea* (= *Paecilomyces fumosoroseus*) (Wize) e *Isaria javanica* (= *Paecilomyces javanicus*) (Friedrichs e Bally), que produzem grande quantidade de inóculo em meios sólidos. São fáceis e baratos de serem preparados, além de não serem repelentes, o que facilita a disseminação entre os indivíduos (WRIGHT *et al.*, 2003; MEIKLE *et al.*, 2005; WRIGHT *et al.*, 2008; YANAGAWA *et al.*, 2008; WRIGHT;

CORNELIUS, 2012; DUNLAP *et al.*, 2012). O uso deste patógeno tem sido pesquisado e recomendado para o controle desses térmitas na forma de pó seco, pó molhável associado ou não com queratina hidrolisada (WRIGHT *et al.*, 2003; DUNLAP *et al.*, 2007; WRIGHT *et al.*, 2008, 2012). A espuma de queratina foi desenvolvida como um mecanismo de liberação biologicamente compatível com o agente de controle microbiano, para permitir a expansão do patógeno no cupinzeiro (DUNLAP *et al.*, 2007, 2012).

Além disso, *Isaria* spp. é empregado em escala comercial em cultivos protegidos na Europa e nas Américas do Norte e Latina, para o controle de pulgões, mosca-branca, tripses, cochonilhas, ácaros, coleópteros e cigarrinhas (FARIA; MAGALHÃES, 2001; ALVES *et al.*, 2008). No Brasil, *Isaria* spp. tem sido produzido no estado de Mato Grosso para o controle do percevejo de renda da seringueira, *Leptopharsa heveae* (Drake & Poor) (Heteroptera: Tingidae) (ALVES *et al.*, 2008).

Tendo em vista que em programas de controle microbiano a seleção de isolados patogênicos para o inseto alvo é uma etapa de fundamental importância, o trabalho teve como objetivo verificar o efeito dos isolados de três espécies de *Isaria* sobre o cupim *C. gestroi*.

## MATERIAL E MÉTODOS

### Obtenção dos insetos

Os insetos foram coletados mediante o uso de armadilhas de papelão corrugado, envoltas em tubo plástico de acordo com a metodologia descrita por COSTA-LEONARDO (2002). As armadilhas foram colocadas diretamente no solo, próximas a um tronco de abacateiro (*Persea americana* Mill) infestado de *C. gestroi*, localizado no bairro de Iputinga, Recife (PE). Posteriormente, as iscas com os cupins foram acondicionadas em laboratório, com temperatura aproximada de  $26 \pm 2^\circ\text{C}$ , umidade acima de 60% e escotofase constante.

### Obtenção, multiplicação e viabilidade dos isolados

Os isolados investigados de *Isaria* obtidos de diferentes hospedeiros e localidades (Tabela 1) foram mantidos na micoteca do Laboratório de Patologia de Insetos da UFRPE, após revigoramento em operários de *C. gestroi*.

Inicialmente, os isolados foram repicados para placas de Petri, contendo meio batata-dextrose-água mais antibiótico (BDA+A). Após sete dias foram feitas placas cheias contendo meio completo (MC), constituído de extrato de levedura, glucose, sais minerais, água e água destilada, sendo os isolados uniformemente espalhados por toda a extensão da placa, com o auxílio da alça de Drigalsky. As placas permaneceram

**Tabela 1.** Procedência (localidade e hospedeiro) dos isolados de *Isaria farinosa*, *Isaria javanica* e *Isaria fumosorosea* utilizados sobre *Coptotermes gestroi*.

Isolados	Localidade	Hospedeiros
<i>I. farinosa</i>		
ESALQ-1205	Santa Fé do Sul- SP	<i>Bemisia tabaci</i>
ESALQ-1355	Aldeia- PE	<i>Brassolis sopharae</i>
<i>I. javanica</i>		
URM-4993	Rio Grande do Sul	Coleóptero
URM- 4995	Rio Grande do Sul	Coleóptero
<i>I. fumosorosea</i>		
ESALQ-1296	Piracicaba- SP	<i>B. tabaci</i>
ESALQ-1297	Ipeúna- SP	<i>Lagria villosa</i>

em estufa incubadora B.O.D. a  $26 \pm 1^\circ\text{C}$ , com fotofase de 12 horas para germinação e crescimento dos isolados.

Posteriormente, foram preparadas suspensões fúngicas, adicionando-se 10 mL de água destilada esterilizada mais espalhante adesivo Tween 80 (0,01%), sendo os conídios removidos com a ajuda de uma espátula de borracha. As suspensões resultantes, depois de filtradas em gaze esterilizada, foram aferidas e ajustadas para concentração de  $10^7$  conídios  $\text{mL}^{-1}$ , mediante quantificação em câmara de Neubauer, utilizando-se microscópio óptico.

A viabilidade dos isolados foi avaliada segundo a metodologia descrita por ALVES; MORAES (1998).

## Verificação da patogenicidade e virulência dos isolados

Na avaliação da patogenicidade, para cada isolado, 70 operários de *C. gestroi* agrupados em uma placa de Petri (15 x 2,0 cm) foram pulverizados de maneira uniforme e simultânea, com 1 mL de suspensão a  $10^7$  conídios  $\text{mL}^{-1}$ , utilizando-se microatomizador “Paasche Airbrush” elétrico, modelo “VL”, acoplado a um compressor regulado para 5 libras de pressão. Na testemunha, os insetos foram pulverizados com água destilada e espalhante adesivo a 0,01%. Após a aplicação, com o auxílio de um pincel umedecido, os cupins foram transferidos em grupos de 10 para placas de Petri (9,0 cm) forradas com papel de filtro umedecido, contendo pedaços de papelão corugado (2,0 x 2,0 cm), o qual servia como abrigo e fonte de alimento. Para a manutenção da umidade, as placas com os cupins eram fechadas com filme plástico. Os cupins tratados foram mantidos em temperatura ambiente  $26 \pm 2^\circ\text{C}$  e escotofase constante. O experimento foi conduzido em delineamento inteiramente casualizado, com sete tratamentos e sete repetições, sendo cada parcela constituída por 10 operários.

A mortalidade foi avaliada diariamente, e os cupins mortos foram transferidos para câmara úmida, mantidos em B.O.D. a  $26 \pm 1^\circ\text{C}$  e 12 horas de fotofase para confirmação do agente causal. Os dados de mortalidade média foram transformados em arco-seno  $\sqrt{(x + 0,5)}$  e submetidos à análise de variância (ANOVA), utilizando o Proc ANOVA do SAS (SAS INSTITUTE, 1999–2001); as médias foram comparadas pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

Mediante os dados de mortalidade confirmada, determinou-se a porcentagem de sobrevivência média. Os dados foram submetidos ao teste Long-Rank, através do método Kaplan-Meyer por pares de isolados, usando o Proc Lifetest do SAS (SAS INSTITUTE, 1999–2001).

## Estimativa da $CL_{50}$

A partir dos resultados obtidos no teste de patogenicidade, um isolado de cada espécie foi selecionado para investigação da concentração letal. Suspensões dos isolados ESALQ-1205 de *Isaria farinosa* (= *Paecilomyces farinosus*) (Holmsk.) Fr., ESALQ-1296 de *I. fumosorosea* e URM-4995 de *I. javanica* foram ajustadas a  $10^5$ ,  $5 \times 10^5$ ,  $10^6$ ,  $5 \times 10^6$ ,  $10^7$ ,  $5 \times 10^7$ ,  $10^8$  conídios  $\text{mL}^{-1}$  e usadas para pulverizar os cupins, compondo os tratamentos. No grupo controle foi aplicada água destilada esterilizada e Tween (80) a 0,01%. Para cada tratamento foram utilizadas seis repetições com 12 operários pulverizados, com 1 mL de cada suspensão. Na preparação e aplicação das suspensões, determinação da viabilidade de conídios, acomodação dos cupins e avaliações, foi utilizada a mesma metodologia empregada no experimento de patogenicidade. A mortalidade foi avaliada por um período de quatro dias, e os insetos mortos foram transferidos para a câmara úmida, sendo mantidos em B.O.D. a  $26 \pm 1^\circ\text{C}$  e 12 horas de fotofase para confirmação do agente causal. A partir dos dados de mortalidade confirmada estimou-se a  $CL_{50}$ , empregando-se o Proc Probit do programa estatístico SAS (SAS INSTITUTE, 1999–2001).

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

### Patogenicidade e virulência dos isolados

Os isolados de *Isaria* spp. testados apresentaram viabilidade superior a 95%, o que demonstra a alta capacidade germinativa dos mesmos. As mortalidades obtidas através dos isolados de *I. farinosa*, *I. javanica* e *I. fumosorosea* foram superiores a 70%, enquanto na testemunha esta porcentagem foi inferior a 10%, não sendo necessário corrigir a mortalidade, demonstrando que todos os isolados são patogênicos ao cupim *C. gestroi*, capazes de desencadear doença e levar à morte. Contudo, os valores de mortalidade confirmada diferiram significativamente

entre o isolado ESALQ-1297 de *I. fumosorosea*, que ocasionou 70,24% de mortalidade, e os isolados ESALQ-1205 de *I. farinosa* e URM-4995 de *I. javanica*, que causaram mortalidades de 97,14 e 100%, respectivamente (Tabela 2).

A sobrevivência, ou seja, o tempo de vida dos cupins após receberem o tratamento com as suspensões fúngicas, nas condições de laboratório previamente relatadas, foi demonstrada em média (Tabela 2) e em sobrevivência diária (Fig. 1). Ambas indicam a intensidade ou o grau com que o patógeno causa a enfermidade. Com o tratamento fúngico, os cupins apresentaram uma sobrevivência média de 2,0 a 3,9 dias, diferindo significativamente entre os isolados, e destes com o grupo controle, que apresentou valor médio de sobrevivência de 13,7 dias (Tabela 2). Os isolados se comportaram como um patógeno rápido sobre o hospedeiro, e, portanto também são adequados como inseticidas microbianos em introdução inundativa (ALVES; LEUCONA, 1998).

Diferenças na sobrevivência diária entre o grupo controle e os tratamentos reforçam o efeito patogênico dos isolados sobre o cupim *C. gestroi*. Observou-se tempo de vida de até 35 dias para os cupins pertencentes ao grupo controle, e de no máximo 7 dias nos tratamentos (Fig. 1). Já a variação na sobrevivência entre os isolados indica diferentes níveis da doença ocasionada por eles, sendo que os isolados ESALQ-1297 de *I. fumosorosea* e ESALQ-1355 de *I. farinosa* sobrepoem-se e são responsáveis por maior tempo de vida em relação aos demais isolados, demonstrando menor agilidade no processo de infecção (Fig. 1).

Assim, de acordo com os dados de mortalidade e sobrevivência apresentados, pode-se afirmar que os isolados ESALQ-1205 de *I. farinosa*, ESALQ-1296 de *I. fumosorosea* e os isolados URM-4995 e URM-4993 de *I. javanica* mostraram-se mais virulentos sobre o cupim *C. gestroi*, ocasionando percentuais elevados de mortalidade em menor período de tempo.

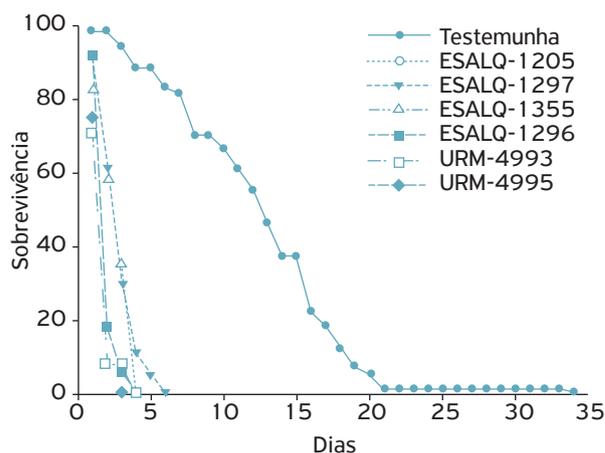
Embora os isolados de *I. javanica* tenham se destacado entre os mais virulentos, o estudo de aspectos morfológicos desses dois isolados, também sobre *C. gestroi*, constatou maior crescimento da colônia de URM-4995 (LOPES *et al.*, 2011), confirmando a sua indicação, visto que tal característica favorece a disseminação entre os cupins.

Quanto ao *I. fumosorosea*, este tem demonstrado ser eficiente sobre outras espécies de *Coptotermes*, chegando a ocasionar 100% de mortalidade sobre *Coptotermes formosanus* (Shiraki) (YANAGAWA *et al.*, 2008; MEIKLE *et al.*, 2005). Testes avaliando a sobrevivência de *C. formosanus* pulverizados com *I. fumosorosea* comprovaram que este é até mais virulento do que o produto comercial à base do fungo *M. anisopliae* (MEIKLE *et al.*, 2005), e ocasiona maior mortalidade aos térmitas do que este patógeno (WRIGHT; CORNELIUS, 2012). Uma formulação à base de blastosporos de *I. fumosorosea*, com uso de queratina hidrolisada como surfactante, também já foi testada, patenteada e recomendada para o controle de *C. formosanus* (DUNLAP *et al.*, 2007, 2012). Estudos de comportamento

**Tabela 2.** Mortalidade confirmada (%) aos cinco dias e sobrevivência média (dias) de *Coptotermes gestroi* por isolados de *Isaria spp.* ( $10^7$  conídios mL<sup>-1</sup>). Temp.:  $26 \pm 2^\circ\text{C}$ ; UR  $70 \pm 10\%$  e escotofase.

Isolados	Mortalidade (%) <sup>1</sup>	Sobrevivência (dias) <sup>2</sup>
ESALQ-1205	97,1 $\pm$ 1,84a	2,8 $\pm$ 0,09c
ESALQ-1297	70,24 $\pm$ 9,90b	3,9 $\pm$ 0,18b
ESALQ-1355	92,2 $\pm$ 3,10ab	3,7 $\pm$ 0,15b
ESALQ-1296	92,5 $\pm$ 3,8ab	3,0 $\pm$ 0,10c
URM-4993	82,06 $\pm$ 6,81ab	2,8 $\pm$ 0,12c
URM-4995	100,0a	2,0 $\pm$ 0,09c
Testemunha	-	13,7 $\pm$ 0,80a
	$F_{5;41} = 3,79^{0,0074}$	$\chi^2 = 246,3^{0,0001}$

<sup>1</sup>Médias ( $\pm$  EP) seguidas da mesma letra, na coluna, não diferem entre si pelo teste de Tukey; <sup>2</sup>médias seguidas da mesma letra não diferem entre si pelo teste de Log-Rank por pares de isolados após análise de sobrevivência pelo método Kaplan-Meier.



**Figura 1.** Sobrevivência diária (%) do cupim *Coptotermes gestroi* tratado com isolados de *Isaria spp.* avaliada até a morte do último indivíduo.

realizados recentemente mostraram ainda que este fungo não é repelente a operários desses térmitas, o que os tornam altamente suscetíveis à infecção (HUSSAIN *et al.*, 2010; WRIGHT; CORNELIUS, 2012), sugerindo possibilidade de utilização na forma de isca.

Embora existam diversos estudos a respeito do potencial no controle de térmitas com *I. fumosorosea* e poucos estudos com *I. javanica*, micoinseticidas à base de linhagens dessas duas espécies já foram patenteadas nos Estados Unidos, para o controle de cupins subterrâneos (WRIGHT *et al.*, 2003, 2008). Contudo, estudos a respeito de *I. farinosa* para o controle de térmitas são raros, ou mesmo inexistentes. Desta

**Tabela 3.** Estimativa da  $CL_{50}$  para os isolados de *Isaria spp.* sobre o cupim *Coptotermes gestroi*.

Isolado	n	GL	$CL_{50}$ (Conídios mL) IC95%	Inclinação da reta ( $\beta \pm EP$ )	$\chi^2$	Valor p
ESALQ-1205	447	5	$3,7 \times 10^5$ ( $2,9 \times 10^5 - 4,5 \times 10^5$ )	$2,31 \pm 0,26$	0,76	0,9797
URM-4995	391	4	$1,4 \times 10^6$ ( $1,2 \times 10^6 - 1,8 \times 10^6$ )	$2,55 \pm 0,24$	2,18	0,7034
ESALQ-1296	409	4	$2,7 \times 10^6$ ( $2,3 \times 10^6 - 3,4 \times 10^6$ )	$2,24 \pm 0,19$	2,80	0,5911

GL: Grau de Liberdade para teste de qui-quadrado ( $\chi^2$ ); significância a 5% de probabilidade; ( $\beta \pm EP$ ): coeficiente angular da reta  $\pm$  erro padrão.

forma, acredita-se que este trabalho seja o primeiro, ou um dos poucos, a registrar o potencial desta espécie de *Isaria* no controle desses insetos.

Durante as avaliações diárias foi possível observar, em todos os tratamentos e na testemunha, um comportamento de ataque, caracterizado pela presença de operários de *C. gestroi* com a cabeça separada do corpo, ou somente a cabeça. Esse ataque faz parte de um conjunto de comportamentos de defesa contra esse tipo de patógeno, também registrado nesse mesmo gênero de cupim, tratado com *Isaria* (YANAGAWA et al., 2011). Demonstra a tentativa de remover o material recém-aplicado, já que os ataques se concentraram basicamente nas primeiras 24 horas.

## Estimativa da $CL_{50}$

Como os isolados das três espécies estudadas se destacaram na avaliação da virulência, um isolado de cada espécie foi selecionado para investigação da concentração letal. Estimou-se, portanto, a  $CL_{50}$  para os isolados ESALQ-1205 de *I. farinosa*, URM-4995 de *I. javanica* e ESALQ-1296 de *I. fumosorosea*, resultando em valores de  $3,7 \times 10^5$ ,  $1,4 \times 10^6$  e  $2,7 \times 10^6$  conídios  $mL^{-1}$ , respectivamente. Estes diferem entre si pelo intervalo de confiança, contudo, nas curvas de concentração de mortalidade não foi observada diferença em relação à inclinação das retas (Tabela 3). Tais resultados corroboram os dados de

mortalidade já apresentados, indicando não haver diferença na mortalidade ocasionada pelos isolados. Assim, confirma a eficiência sobre os operários de *C. gestroi* e demonstra que pode ser usado em uma dosagem menor, tornando-se mais econômico no caso de uma possível aplicação em campo.

## CONCLUSÕES

Os isolados de *I. farinosa*, *I. javanica* e *I. fumosorosea* se mostraram patogênicos e virulentos, tendo os isolados ESALQ-1205 de *I. farinosa*, ESALQ-1296 de *I. fumosorosea* e os isolados URM-4995 e URM-4993 de *I. javanica* se destacado como mais virulentos. Portanto, são mais indicados no controle do cupim *C. gestroi*. As diferenças encontradas na proporção de cupins mortos e tempo de sobrevivência, após tratamento, devem-se à grande variabilidade genética existente entre isolados de espécies diferentes ou da mesma espécie. Os testes de patogenicidade e a avaliação da virulência, através da análise de sobrevivência, são fundamentais na seleção dos isolados mais promissores. Desta forma, este trabalho representa uma importante contribuição para o controle biológico de *C. gestroi* com o uso de fungos do gênero *Isaria*. Porém, são necessários estudos para verificar a melhor forma de utilização e sua efetividade em campo.

## REFERÊNCIAS

- ALVES, S.B.; LEUCONA, R.E. Epizootiologia aplicada ao controle microbiano de insetos. In: (Ed.). *Controle Microbiano de Insetos*. Piracicaba: FEALQ. 1998. p.97-169.
- ALVES, S.B.; MORAES, A.S. Quantificação de inóculo de patógenos de insetos. In: (Ed.). *Controle Microbiano de Insetos*. Piracicaba: FEALQ. 1998. p.97-169.
- ALVES, S.B.; LOPES, R.B.; VIEIRA, A.S.; TAMAI, M.A. Fungos Entomopatogênicos usados no controle de pragas na América Latina. In: ALVES, S.B.; LOPES, R.B.(Eds.). *Controle Microbiano de Pragas na América Latina: avanços e desafios*. Piracicaba. FEALQ. 2008. p.69-110.
- CHOUVENC, T.; NAN-YAO, S.; GRACE, J. KENNETH. Fifty years of attempted biological control of termites – Analysis of a failure. *Biological Control*, v.59, n.2, p.69-82, 2011.
- COSTA-LEONARDO, A.M. Cupins-Praga: Morfologia, Biologia e Controle. Rio Claro: UNESP. 2002. 128 p.
- DUNLAP, C.A.; JACKSON, M. A.; WRIGHT, M. S. A foam formulation of *Paecilomyces fumosoroseus*, an entomopathogenic biocontrol agent. *Biocontrol Science Technology*, v.17, n.9, p.709-719, 2007.

- DUNLAP, C.A.; JACKSON, M. A.; WRIGHT, M. S. Compositions of keratin hydrolysate and microbes for pest control applications. *US Patent 8263526*. 2012.
- FARIA, M.R.; MAGALHÃES, B.P. O uso de fungos entomopatogênicos no Brasil. *Biotecnologia Ciência e Desenvolvimento*, n.22, p.8-44, 2001.
- FERRAZ, M.V. *Estudo taxonômico e aspectos da biologia de Coptotermes Wasmann, (Isoptera, Rhinotermitidae) nas Américas*. 2000. 213f. Tese (Doutorado) – Universidade de São Paulo, 2000.
- FONTES, L.R. Cupins em áreas urbanas. In: BERTI FILHO, E.; FONTES, L.R.(Eds.). *Alguns aspectos atuais da biologia e controle de cupins*. Piracicaba: FEALQ. 1995. p.57-75.
- FONTES, L.R., VEIGA, A.F.S.L. Registro do cupim subterrâneo, *Coptotermes havilandi* (Isoptera, Rhinotermitidae), na área metropolitana de Recife, PE. *Anais da Sociedade Brasileira de Entomologia*, Rio de Janeiro, 1005p, 1998.
- HUSSAIN, A.; TIAN, M.Y.; HE, Y.R.; BLAND, J.M.; GU, W.X. Behavioral electrophysiological responses of *Coptotermes formosanus* Shiraki towards entomopathogenic fungal volatiles. *Biological Control*, v.55, n.3, p.166-173, 2010.
- IGNOFFO, C.M. Environmental factors affecting persistence of entomopathogens. *Florida Entomologist*, v.75, n.4, p.516-525, 1992.
- JENKINS, T.M.; JONES, S.C.; LEE, C.Y.; FORSCHLER, B.T.; CHEN, Z.; LOPEZ-MARTINEZ, G.; GALLAGHER, N.T.; BROWN, G.; NEAL, M.; THISTLETON, B.; KLEINSCHMIDT, S. Hyllogeography illuminates maternal origins of exotic *Coptotermes gestroi* (Isoptera: Rhinotermitidae). *Molecular Phylogenetics and Evolution*, v.42, n.3, p.612-621, 2007.
- KRAMM, K.R.; WEST, D.F.; ROCKENBACH, P.G. Termite pathogens: transfer of the entomopathogen *Metarhizium anisopliae* between *Reticulitermes* sp. Termites. *Journal of Invertebrate Pathology*, v.39, n.1, p.1-5, 1982.
- LOPES, R.S.; SVEDESE, V.M.; SILVA, A.P.A.P., ALBUQUERQUE, A.C.; LUNA-ALVES LIMA, E.A. Virulência e Aspectos biológicos de *Isaria javanica* (Frieder & Bally) Samson & Hywell-Jones sobre *Coptotermes gestroi* (Wasmann) (Isoptera: Rhinotermitidae). *Arquivos do Instituto Biológico*, v.78, n.4, p.565-572, 2011.
- MEIKLE, W.G.; MERCADIER, G.; ROSENGAUS, R.B.; KIRK, A.A.; DEROUANÉ, F.; QUIMBY, P.C. Evaluation of an entomopathogenic fungus, *Paecilomyces fumesoroseus* (Wize) Brown and Smith (Deuteromycota: Hyphomycetes) obtained from Formosan subterranean termites (Isop., Rhinotermitidae). *Journal Applied Entomology*, v.129, n.6, p.315-322, 2005.
- YANAGAWA, A.; YOKOHARI, F.; SHIMIZU, S. Defense mechanism of the termite, *Coptotermes formosanus* Shiraki, to entomopathogenic fungi. *Journal of Invertebrate Pathology*, v.97, n.2, p.165-170, 2008.
- YANAGAWA, A.; FUJIWARA-TSUJII, N.; AKINO, T.; YOSHIMURA, T.; YANAGAWA, T. Behavioral changes in the termite, *Coptotermes formosanus* (Isoptera), inoculated with six fungal isolates. *Journal of Invertebrate Pathology*, v.107, n.2, p.100-106, 2011.
- POTENZA, M.R.; ZORZENON, F.J. Cupins: Pragas em áreas urbanas. *Boletim Técnico Instituto Biológico*. São Paulo, 66p, 2006.
- SAS INSTITUTE. SAS user's guide: Statistics, version 8.2, 6. ed. SAS Institute: Cary NC. 1999-2001.
- WRIGHT, M.S.; CONNICK, W.J.JR.; JACKSON, M.A. Use of *Paecilomyces* spp. as pathogenic agents against subterranean termites. *U.S. Patent 20030095951*. 2003.
- WRIGHT, M.S.; CONNICK W.J. JR; JACKSON M.A. Use of *Paecilomyces* spp. As pathogenic agents against subterranean termites. *U.S. Patent 7390480*. 2008.
- WRIGHT, M.S.; CORNELIUS, M. Mortality and repellent effects of microbial pathogens on *Coptotermes formosanus* (Isoptera: Rhinotermitidae). *BioMed Central Microbiology*, v.12, n.291, 2012.