



UNIVERSIDADE
ESTADUAL de LONDRINA

JULIANA CHIQUETTI FAZAM

**MORTALIDADE E REDUÇÃO DO FORRAGEAMENTO DE FORMIGAS
CORTADEIRAS COM ÁCIDO SALICÍLICO, TERRA DE
DIATOMÁCEAS E *BEAUVERIA BASSIANA***

Londrina
2022

JULIANA CHIQUETTI FAZAM

**MORTALIDADE E REDUÇÃO DO FORRAGEAMENTO DE FORMIGAS
CORTADEIRAS COM ÁCIDO SALICÍLICO, TERRA DE
DIATOMÁCEAS E *BEAUVERIA BASSIANA***

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Agronomia da Universidade Estadual de Londrina, como pré-requisito a obtenção do título de Doutora em Agronomia.

Orientador: Prof. Dr. Amarildo Pasini

Londrina
2022

Ficha de identificação da obra elaborada pelo autor, através do Programa de Geração Automática do Sistema de Bibliotecas da UEL

F287o Fazam, Juliana Chiquetti.
Mortalidade e redução do forrageamento de formigas cortadeiras com ácido salicílico, terra de diatomáceas e Beauveria bassiana / Juliana Chiquetti Fazam. - Londrina, 2022.
113 f. : il.

Orientador: Amarildo Pasini.
Tese (Doutorado em Agronomia) - Universidade Estadual de Londrina, Centro de Ciências Agrárias, Programa de Pós-Graduação em Agronomia, 2022.
Inclui bibliografia.

1. Atta sexdens - Tese. 2. Formiga cortadeira - Tese. 3. Beauveria bassiana - Tese. 4. Manejo de integrado de insetos eussociais - Tese. I. Pasini, Amarildo. II. Universidade Estadual de Londrina. Centro de Ciências Agrárias. Programa de Pós-Graduação em Agronomia. III. Título.

CDU 63

JULIANA CHIQUETTI FAZAM

**MORTALIDADE E REDUÇÃO DO FORRAGEAMENTO DE FORMIGAS
CORTADEIRAS COM ÁCIDO SALICÍLICO, TERRA DE
DIATOMÁCEAS E *BEAUVERIA BASSIANA***

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Agronomia da Universidade Estadual de Londrina, como pré-requisito a obtenção do título de Doutora em Agronomia.

BANCA EXAMINADORA

Orientador: Prof. Dr. Amarildo Pasini
Universidade Estadual de Londrina - UEL

Prof. Dr. Mauricio Ursi Ventura
Universidade Estadual de Londrina - UEL

Prof. Dr. Adriano Thibes Hoshino
Universidade Estadual de Londrina - UEL

Prof^a. Dr^a. Daiane Heloisa Nunes
Instituto Federal Catarinense - IFC

Prof^a. Dr^a. Cláudia Maria Justus
Centro Universitário Filadélfia - UniFil

Londrina, 25 de fevereiro de 2022.

Com o coração repleto de gratidão e muito amor,

dedico...

...aos meus pais, Edna e Marcos e a minha irmã Isabela, que sempre fizeram o possível e o impossível para que eu chegasse até aqui, saibam que vocês são a minha motivação. Ao meu esposo Mateus, por todo apoio, amor e incentivo para que eu sempre almeje ir além.

In memoriam

Deixo aqui registrado que todo o esforço que depus neste trabalho, foi para o meu avô Clelio, que partiu como tantos outros repentinamente vítima de Covid-19, quem sempre fazia questão de reforçar que um dia veria o tal “doutora” pendurado em uma porta antes do meu nome.

Vô este dia chegou!

AGRADECIMENTOS

O ano de 2021 me marcou profundamente. Penso que está seja a parte mais difícil de se escrever em uma tese, porque não temos como descobrir a significância das pessoas por uma ANOVA, e pela grandeza do seu valor p.

Antes de qualquer coisa gostaria de dizer que sou grata, a cada linha que está aqui e a cada dia vivido pelo doutoramento, sou grata a Deus por me fazer forte quando achei que fosse desistir, por iluminar minha vida com pessoas maravilhosas, por me permitir estar aqui hoje, por me dar tranquilidade para seguir em frente com os meus objetivos e não desanimar com as dificuldades. Agradeço a Ele também pela nossa saúde.

Agradeço muito ao Amarildo. Resumi-lo a orientador é muito pouco e tenho certeza de que ele sabe a importância que teve não só na condução do trabalho, mas também como conselheiro e até nas horas em que parece que nada está dando certo.

Aos meus pais, que sempre me motivaram, entenderam as minhas faltas, os momentos de afastamento e me mostraram o quanto era importante estudar, mesmo não tendo eles a mesma oportunidade no passado. Obrigada pelos dias dedicados a ajudarem nos experimentos.

Ao meu esposo Mateus e à minha irmã Isabela, pelas noites dedicadas a contar formigas, justo quando mais precisei e me ausentei, isso foi incrível, aos sustos, aos risos, ao medo de serem mordidos por elas e a segurança de estarem comigo nestes e outros dias, de ser meu porto seguro sempre que precisei.

Um agradecimento especial ao mestrando Douglas M. Cecconello por toda ajuda nos experimentos de compatibilidade de fungos. Ao Prof. Dr. Rodrigo M. Feitosa do departamento de zoologia da Universidade Federal do Paraná e ao Prof. Dr. Adriano T. Hoshino pela identificação das espécies de formigas.

Ao doutorando Gabriel D. Shimuzu por todo suporte as análises

estatísticas. Aos pesquisadores Vanádio Lucas Bega (Koppert do Brasil) e Júlio Cesar Teschima (Biotrop-soluções em tecnologia biológica, por cederem os fungos entomopatogênicos usados do trabalho. E aos doutorandos e pós doutorandos do museu Goeldi, Cláudia Xavier, Fabián Alfonso Garcia Oviedo e Nikolas G. Cípola.

Ainda, quanto aos professores, agradeço a todos eles do PGARG, pelos ensinamentos que passaram desde a graduação, os quais foram, são e serão muito importantes para mim e para a minha vida profissional. Agradeço aos colegas do Lab de Ento.

Aos meus ilustres amigos.

À CAPES, por conceder bolsas para a formação de recursos humanos no campo de pesquisa científica e tecnológica, ao programa de Pós-Graduação, em Agronomia da Universidade Estadual de Londrina, na qual fui contemplada.

Aos membros da banca, pelas contribuições oferecidas para a condução deste trabalho. E para todas as pessoas que colaboraram em algum momento para a realização deste trabalho.

FAZAM, Juliana Chiquetti. **Mortalidade e redução do forrageamento de formigas cortadeiras com ácido salicílico, terra de diatomáceas e *Beauveria bassiana***. 2022. 109 f. Tese (Doutorado em Agronomia) - Universidade Estadual de Londrina, Londrina, 2022.

RESUMO

O Paraná carece de estudos comportamentais relativos ao forrageamento da formiga-cortadeira (*Atta sexdens*), bem como de novas estratégias de controle, sustentáveis ambientalmente. Os objetivos desta tese foram: avaliar a mortalidade de formigas cortadeiras (*Atta* e *Acromyrmex*), submetidas à aplicação direta com pós secos e fungos entomopatogênicos em laboratório e, avaliar o fluxo de forrageamento de ninhos de saúva limão, em ninhos submetidos à aplicação destes produtos, com polvilhadeira elétrica. Também foram identificadas as espécies de formigas predadoras coletadas nos ninhos que receberam os tratamentos. Os tratamentos consistiram em produtos à base de pós secos (talco G[®], talco inerte Quimidrol[®], deltametrina, ácido salicílico, enxofre, óxido de zinco, ácido bórico e terra de diatomáceas) e fungos entomopatogênicos (*Beauveria bassiana*, *Metarhizium anisopliae* e *Trichoderma harzianum*), os quais foram polvilhados sobre as operárias. A campo, em ninhos de *At. sexdens*, utilizou-se uma polvilhadeira elétrica para inoculação dos pós com os melhores resultados de laboratório no interior dos ninhos, avaliando-se o ritmo de forrageamento. Para ambas as espécies de formigas cortadeiras, *At. sexdens* e *Ac. crassispinus*, em laboratório, o ácido salicílico possui potencial formicida, quando aplicado diretamente sobre as operárias, causando mortalidade acumulada superior a 90%, em 24 horas. O referido tratamento, quando aplicado em olheiros próximos ao murundum, apresentou resultados semelhantes à deltametrina. Todos os fungos, via seca, causaram altas mortalidades de operárias da saúva limão, em laboratório. Tanto *T. harzianum* quanto terra de diatomáceas demonstraram ação formicida sobre operárias de *At. sexdens*. Cabe destacar que *B. bassiana*, em mistura com terra de diatomáceas, apresentou redução do forrageamento da saúva limão, por 60 dias em condições de campo. Dos ninhos fragilizados pelos tratamentos foram coletados 7 gêneros de formigas predadoras: *Camponotus*, *Odontomachus*, *Pachycondyla*, *Brachymyrmex*, *Ectatomma*, *Neoponera*, *Pheidole*, sendo que as espécies *C. ager*, *C. renggeri*, *C. melanoticus*, *N. laevigata*, *N. verenae*, *P. oxyops* e *P. triconstricta* não possuem registro para a Região de Londrina-Paraná.

Palavras-chave: controle biológico; formiga-cortadeira; manejo de insetos eussociais.

FAZAM, Juliana Chiquetti. **Mortality and reduction of the forage activity of leaf cut ants using salicylic acid, diatomacea earth and *Beauveria bassiana***. 2022. 109 p. Thesis (Doctorate in Agronomy) - State University of Londrina, Londrina, 2022.

ABSTRACT

Paraná has few studies on behavior regarding the foraging of the leaf-cutting ant (*Atta sexdens*), as well as new control strategies that are environmentally sustainable. The objectives of this study: to evaluate the mortality of leaf-cutting ants (*Atta* and *Acromyrmex*) subjected to direct application with dry powders and entomopathogenic fungi in the laboratory and, to evaluate the behavior of the *Atta sexdens*, in nests submitted to the application of these products, with a electric powder applicator, evaluating the foraging rhythm.. They were also identified as predatory ant species collected in the nests that received the Treatments. Treatments consist of dry-based products (G[®] talc, Quimidrol[®] inert talc, deltamethrin, salicylic acid, sulfur, zinc oxide, boric acid and diatomaceous earth) and entomopathogenic fungi (*Beauveria bassiana*, *Metarhizium anisopliae* and *Trichoderma harzianum*) which were applied over the workers. With better laboratory results in the field, in nests of *At. sexdens*, an electric duster was used to inoculate the powders inside the nests, evaluating the foraging rhythm. For the species of leaf-cutting ants, *Ac. crassispinus* and *At. sexdens*, in the laboratory, the salicylic acid formicide, applied directly on the ants workers, when both cumulative mortality was greater than to 90%. The referred treatment, when applied in feeding holes close to the murundum, presented similar results to deltamethrin. All fungi, in the dry way, caused high mortality of workers of the leaf-cut ant, in the laboratory. Both *T. harzianum* and diatomaceous earth demonstrated formicidal effect on workers of *At. sexdens*. *B. bassiana*, in a mixture with diatomaceous earth, presented reduced foraging of the *Atta sexdens* for 60 days under field conditions. From the nests weakened by the treatments, 7 genera of predatory ants were collected: *Camponotus*, *Odontomachus*, *Pachycondyla*, *Brachymyrmex*, *Ectatomma*, *Neoponera*, *Pheidole*, and the species *C. ager*, *C. renggeri*, *C. melanoticus*, *N. laevigata*, *N. verenae*, *P. oxyops* e *P. triconstricta* did not are registered for the Londrina-Paraná.

Key words: alternative control; leaf cutting ant; management of eusocial insect.

LISTA DE FIGURAS

- Figura 1** - Distribuição geográfica de formigas- cortadeiras no Brasil18
- Figura 2** - Desenho esquemático da arquitetura de ninhos de formigas cortadeiras (*Atta sexdens*), com a disposição das painéis de fungo sob a projeção do monte de terra solta19
- Figura 3** - Polvilhadeira elétrica, protótipo Catec, capacidade de armazenamento de 3 kg de pó, bico aplicador e bateria com carga de até 8 horas26
- Figura 3.1** - Curva de sobrevivência de operárias de saúva limão *Atta sexdens*, submetidas a tratamentos químicos com pó seco. **A:** talco G[®], talco inerte quimidrol[®] testemunha. **B:** componentes químicos (isolados) do talco polvilho antisséptico comercial (talco G[®]), estimada pelo método de Kaplan-Meier. Londrina-PR, 201946
- Figura 3.2** - Modelo de riscos proporcionais de COX, com risco relativo e intervalo de confiança para mortalidade de operárias de quenquém de cisco *Acromyrmex crassispinus*, submetidas a tratamentos químicos em pó seco. Londrina-PR, 2019.....48
- Figura 3.3** - Produtos à base de pós polvilhados, via polvilhadeira elétrica, em ninhos de *Atta sexdens*. **A:** Polvilhados em olheiros de forrageamento. **B:** polvilhados em olheiros no murundum. Londrina-PR, 201950
- Figura 4.1** - Mortalidade acumulada de *Atta sexdens* com fungos entomopatogênicos e ácido salicílico, aplicados via contato corporal, em laboratório. Londrina- PR. 202067
- Figura 4.2** - Mortalidade acumulada pela diluição do entomopatógeno *Beuveria bassiana* (marca comercial Boveril[®] WP PL63), em Quimidrol[®] (polvilhado) sob formigas cortadeiras em laboratório. Londrina- PR. 2020.71
- Figura 4.3** - Mortalidade acumulada de *Atta sexdens* com terra de diatomáceas isolada (Insecto[®]) ou em mistura com *Metarhizium anisopliae* (*Metarri*[®] WP E9) polvilhados em laboratório. Londrina- PR. 202072

| | |
|---|----|
| Figura 4.4 - Fluxo de forrageamento da formiga saúva limão em ninhos polvilhados com produtos em pó, com polvilhadeira elétrica em olheiros de forrageamento e no murundum de formigueiros localizados em Londrina-PR. 2021 | 74 |
| Figura 4.5 - Número de formigas ativas por tratamento, forrageando nos olheiros de avaliação ao final de 60 dias após receberem produtos em pó, com polvilhadeira elétrica, em olheiros de forrageamento e no murudum. Londrina-PR. 2021 | 76 |
| Figura 5.1 - Espécimes de formigas carnívoras com ocorrência em ninhos de saúva limão submetidos a tratamentos com pós. (A) <i>Camponotus ager</i> , (B). <i>C. cingulatus</i> , (C) <i>C. renggeri</i> , (D) <i>C. melanoticus</i> , (E) <i>Odontomachus chelifer</i> , (F) <i>Pachycondyla striata</i> , (G) <i>Brachymyrmex sp</i> , (H) <i>Ectatomma edentatum</i> , (I) <i>Neoponera laevigata</i> , (J) <i>N. verenae</i> , (K) <i>Pheidole oxyops</i> , (L) <i>P. triconstricta</i> | 88 |

LISTA DE TABELAS

- Tabela 3.1** - Tratamentos em pó aplicados com frasco tipo saleiro em formigas cortadeiras no laboratório de entomologia da Universidade Estadual de Londrina42
- Tabela 3.2** - Tratamentos em pó aplicados com polvilhadeira elétrica em ninhos de formiga *Atta sexdens* para avaliação da atividade de forrageamento. Londrina-PR.....44
- Tabela 4.1** - Tratamentos em pó aplicados com talqueiro pump em operárias de formiga *Atta sexdens* para avaliação da mortalidade acumulada em laboratório. Londrina-PR60
- Tabela 4.2** - Tratamentos em pó utilizados com polvilhadeira elétrica aplicados em olheiros de forrageamento e no murundum no campus da Universidade Estadual de Londrina, para controle de saúva limão, *Atta sexdens*64
- Tabela 4.3.1** - Crescimento vegetativo, Unidades Formadoras de Colônia (UFC), germinação de conídios, produção de conídios, Índice Biológico (IB) de *Beauveria bassiana*, quando misturados com ácido salicílico65
- Tabela 4.3.2** - Percentual de redução de forrageamento da saúva limão, em ninhos tratados com diferentes substâncias em pó, 60 dias após a aplicação (DAP)75

SUMÁRIO

| | | |
|----------|--|-----------|
| 1 | INTRODUÇÃO | 14 |
| 2 | REVISÃO DE LITERATURA | 16 |
| 2.1 | CARACTERÍSTICAS TAXONÔMICAS E DISTRIBUIÇÃO GEOGRÁFICA | 16 |
| 2.1.2 | Características dos ninhos de saúva | 18 |
| 2.2 | FORRAGEAMENTO E DANOS OCACIONADOS POR FORMIGAS CORTADEIRAS | 20 |
| 2.3 | MÉTODOS DE CONTROLE DE FORMIGAS CORTADEIRAS | 22 |
| 2.3.1 | Outras Estratégias de Controle de Formigas Cortadeiras | 26 |
| 2.3.1.1 | Ácido Salicílico em formigas..... | 28 |
| 2.3.1.2 | Terra de diatomáceas no controle de insetos..... | 29 |
| 2.3.2 | Inseticidas a Base de Fungos Entomopatogênicos no Controle de Formigas Cortadeiras | 30 |
| 2.3.2.1 | Metarhizium anisopliae | 32 |
| 2.3.2.2 | Beuveria bassiana | 33 |
| 2.3.2.3 | Iscas granuladas à base de fungos entomopatogênicos | 35 |
| 3 | ARTIGO A: MORTALIDADE E ATIVIDADE DE FORRAGEAMENTO DE FORMIGAS CORTADEIRAS SUBMETIDAS AO ÁCIDO SALICÍLICO EM PÓ | 38 |
| 3.1 | INTRODUÇÃO | 40 |
| 3.2 | MATERIAL E MÉTODOS | 41 |
| 3.3 | RESULTADOS E DISCUSSÃO | 45 |
| 3.4 | CONCLUSÕES | 51 |
| | REFERÊNCIAS..... | 52 |
| 4 | ARTIGO B: MORTALIDADE E REDUÇÃO DO FORRAGEAMENTO DA SAÚVA LIMÃO POR AGENTES ENTOMOPATOGÊNICOS EM PÓS | 54 |
| 4.1 | INTRODUÇÃO | 56 |
| 4.2 | MATERIAL E MÉTODOS | 58 |
| 4.3 | RESULTADOS E DISCUSSÃO | 64 |

| | | |
|----------|---|------------|
| 4.4 | CONCLUSÕES | 77 |
| | REFERÊNCIAS..... | 79 |
| 5 | ARTIGO C: FORMIGAS PREDADORAS ASSOCIADAS A NINHOS DE SAÚVA LIMÃO EM LONDRINA-PR | 84 |
| 5.1 | INTRODUÇÃO | 86 |
| 5.2 | MATERIAL E METODOS | 87 |
| 5.3 | RESULTADOS E DISCUSSÃO | 87 |
| 5.4 | CONCLUSÃO | 91 |
| | REFERÊNCIAS..... | 93 |
| 6 | CONSIDERAÇÕES FINAIS | 97 |
| | REFERÊNCIAS GERAIS | 98 |
| | APÊNDICES..... | 109 |
| | APÊNDICE 1: TEMPERATURA MÉDIA MENSAL E PRECIPITAÇÃO PLUVIOMÉTRICA DE JANEIRO DE 2020 A 18 DE NOVEMBRO DE 2021 EM LONDRINA-PR..... | 109 |

1 INTRODUÇÃO

As formigas cortadeiras são agrupadas em dois grandes gêneros *Atta* (saúvas) e *Acromyrmex* (quenquéns) (HÖLLDOBLER; WILSON, 2009). O polimorfismo das operárias, para organização em castas, ocorre em relação ao tamanho das cabeças (WILSON, 1980). Seus ninhos são subterrâneos, com centenas de galerias com milhões de indivíduos e podem alcançar tamanhos superiores a 100 m² (CARMO, 2014). Nativas da região Neotropical, as formigas cortadeiras possuem organização social e estrutura complexa do ninho, o que dificulta o seu manejo em todo território (DELLA LUCIA *et al.*, 2014).

Devido à dependência de material vegetal para manutenção do fungo *Leucoagaricus gongylophorus* Singer (Möller) (Leucocoprineae: Agaricaceae), selecionam e cortam plantas de importância agrícola e florestal, levando-as para o interior do ninho. Tal comportamento é conhecido como forrageamento. Perdas econômicas consideráveis são registradas pelo hábito de corte, ocasionando danos indiretos à produção. As plantas ficam suscetíveis ao ataque de patógenos e outros insetos (BOULOGNE *et al.*, 2014; CANTARELLI *et al.*, 2008).

O controle destas pragas tem sido predominantemente químico, com iscas granuladas, termonebulização ou pós secos (NAGAMOTO, 2003). Excetuando-se o uso de iscas, as demais estratégias perderam espaço devido ao maior custo operacional, à necessidade de equipamentos, maior risco de contaminação do ambiente, maior risco de intoxicação do operador e, exigência mão de obra qualificada.

Dentre as formas de controle disponíveis no mercado, as iscas granuladas, à base dos princípios ativos fipronil e sulfluramida, que são comumente revestidas por substâncias atrativas cítricas, apresentam vantagens, por serem a forma mais prática e econômica para aplicação, podendo ser encontradas em embalagens micro porta iscas (BRITTO *et al.*, 2016). Talvez o uso indiscriminado de um mesmo tipo de isca possa proporcionar um reconhecimento mais rápido da toxicidade desta isca, e resultar em sua rejeição por parte das operárias. Além disso, devido à complexidade estrutural de um ninho maduro com muitas painéis, dificilmente a isca é carregada até a rainha, o que resulta na sobrevivência dela e conseqüentemente do ninho (HOOPER-BUI; RUST, 2000). Viabilizar estratégias de

controle inundativas merecem atenção e estudos especialmente em áreas impactadas por formigas.

Insucessos têm sido registrados quanto à imunidade social (TRAVAGLINI, 2017), pois as formigas desenvolveram várias estratégias para defender suas colônias. A crescente rejeição das formigas pelas atuais formulações de iscas granuladas tem motivado os pesquisadores a buscar novas substâncias que possam ser adicionadas às suas matrizes, a fim de aumentar sua atratividade, (RAMOS *et al.*, 2006), investigando outros mecanismos de ação, como alternativa sustentável de controle.

A melhoria das estratégias de controle requer mais estudos de comportamento e da ecologia destas pragas (NICKELE, 2013), que possibilitem aplicar tais controles em momentos mais adequados, culminando na maior eficiência, e redução de problemas relacionados ao impacto dos produtos químicos ao ambiente e sobre organismos não alvo. O Manejo Integrado dessas pragas, deve potencializar o controle biológico natural e ou aplicado, ou outras estratégias de controle químico eficazes e menos impactantes no ambiente.

Além das iscas granuladas, no Paraná também é liberado o controle de formigas cortadeiras com pós secos a base de deltametrina ou mesmo fipronil. Nestes casos, os produtos atuam por ação de contato. No entanto, devido à complexidade da arquitetura dos ninhos, o uso de polvilhadeiras manuais não tem sido satisfatória para adequada redução populacional da sociedade, uma vez que a distribuição do pó é restrita no interior do solo, pela baixa pressão de trabalho (BOARETTO; FORTI, 1997).

Novos produtos e estratégias devem ser investigadas, incluindo-se equipamentos motorizados ou à bateria, que possam distribuir melhor os produtos no interior dos ninhos, e pela maior pressão na distribuição dos pós.

O objetivo do trabalho foi avaliar a mortalidade de formigas cortadeiras saúva limão (*Atta sexdens*), submetidas a aplicação com pós secos (talco G[®], talco inerte quimidrol[®], ácido salicílico, enxofre, ácido bórico, óxido de zinco e deltametrina) e fungos entomopatogênicos (*Beauveria bassiana*, *Metarhizium anisopliae* e *Trichoderma harzianum*) em laboratório e avaliar o fluxo de forrageamento de ninhos de saúva, aplicando esses produtos, com polvilhadeira elétrica.

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 CARACTERÍSTICAS TAXONÔMICAS E DISTRIBUIÇÃO GEOGRÁFICA

As formigas cortadeiras são classificadas quanto: ordem Hymenoptera, família Formicidae, subfamília Myrmicinae e a tribo Attini e agrupadas em dois grandes gêneros *Atta* (saúvas) e *Acromyrmex* (quenquéns) (HÖLLDOBLER; WILSON, 2009). A tribo Attini foi descrita por Linnaeus em 1758 e 15 gêneros foram descritos. Em 1804 Fabricius descreveu o gênero *Atta*, englobando 19 espécies (BRANDÃO *et al.*, 2011). Recentemente foi proposto um novo gênero de formiga cortadeira, separando algumas espécies de *Acromyrmex* para uma nova combinação de gênero (*Amoimyrmex*) (CRISTIANO *et al.*, 2020)

As saúvas possuem como característica taxonômica três pares de espinhos dorsais e apresentam polimorfismo entre as operárias da colônia, ápteras e estéreis além da casta reprodutiva (TRAVAGLINI *et al.*, 2017). A saúva limão (*Atta sexdens* (Forel 1908) (Hymenoptera: Formicidae) é a espécie de maior ocorrência no Brasil, conhecida assim pela cor vermelho aveludada e, quando esmagadas, exalam cheiro de limão.

As quenquéns são formigas menores, com quatro ou mais pares de espinhos no dorso (MARICONI, 1970). A escassez de revisões sobre a tribo Attini dificulta a identificação de espécies, sendo atualmente realizada por parâmetros visuais, morfométricos, nas castas dos soldados (WARD *et al.*, 2015).

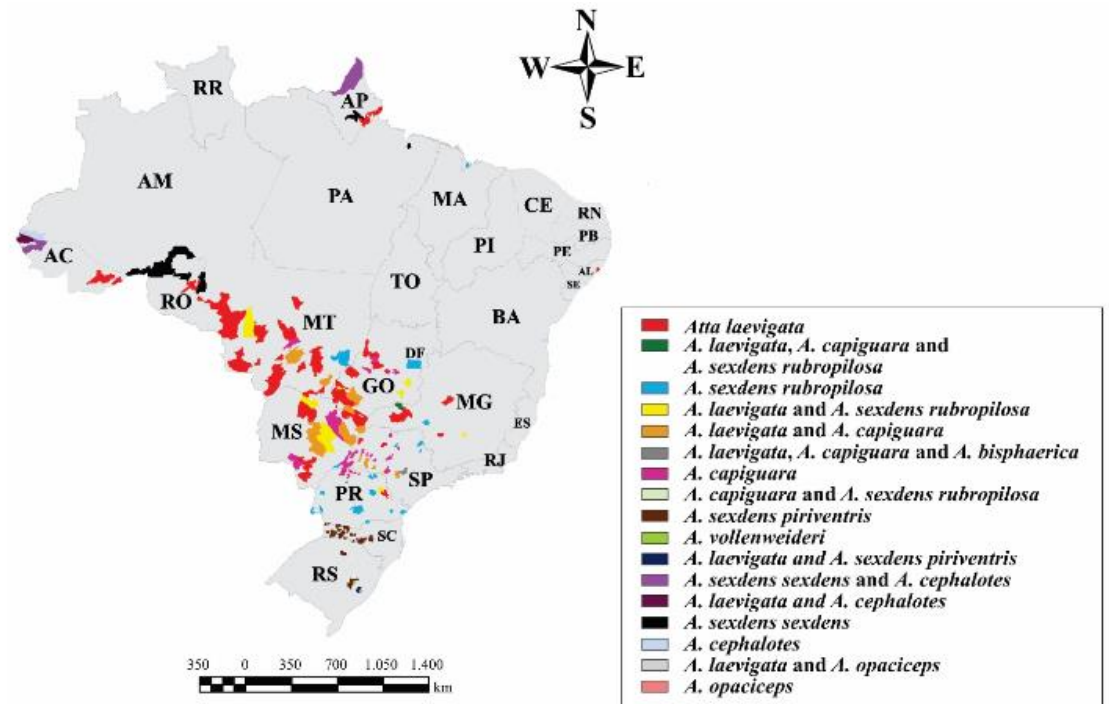
O polimorfismo das operárias, para organização em castas, ocorre em relação ao tamanho das cabeças, e são divididas em quatro: 1) operárias com cabeça 0,6 a 1,2 mm, são as responsáveis em cuidar da rainha e da prole (larvas e pupas); 2) as com cabeça entre 1,3 a 2,0 mm são responsáveis pelo processamento do material vegetal, pelo jardim de fungo e gerenciamento de lixo, conhecidas como jardineiras; 3) as carregadeiras, têm cabeça variando de 2,1 a 2,9 mm são responsáveis em escavar tuneis e galerias, pelas atividades de forrageamento que inclui corte e transporte dos materiais vegetais; 4) as operárias com cabeça >3,0 mm são os soldados, que cuidam da colônia expulsando invasores e desempenham o papel de proteção (WILSON, 1980).

Grande parte do sucesso da ordem Hymenoptera deve-se a organização social, registrando-se mais de 150.000 espécies em todos os ecossistemas. Os insetos sociais ocupam todos os nichos ecológicos: predadores (vespas), polinizadores (abelhas) e simbiontes (formigas cortadeiras) (BUZZI, 2010). As formigas representam quase 16.000 espécies, cerca de 20% da biomassa de insetos do planeta (BOLTON, 2016).

A região neotropical contém a maioria da diversidade e das populações endêmicas, da tribo Attini. Com 2750 espécies descritas e agrupadas em mais de 45 gêneros. No Brasil ocorrem nove espécies do gênero *Atta* e 25 do gênero *Acromyrmex* (BOLTON, 2016). A Região Sul apresenta predomínio de *Atta sexdens piriventris* (Santschi, 1919) (Hymenoptera: Formicidae), ao analisar a distribuição nessa região constata-se que no Paraná está espécie esteve presente em somente 3,8% dos municípios, contra 50% dos municípios com *At. capiguara* (Gonçalves, 1944) (Hymenoptera: Formicidae) e *At. sexdens* (FORTI et al., 2020) (Figura 1).

Espécies dos gêneros *Acromyrmex* e *Atta* são encontradas praticamente em qualquer tipo de vegetação. Para o gênero *Acromyrmex* entre as latitudes 34 N e 41 S e 32 N e 33 S para o gênero *Atta*, que incluem florestas subtropicais, tropicais e equatoriais úmidas ou secas, cerrados, pampas, desertos, caatingas, restingas (MEHDIABADI; SHULTZ, 2010).

Figura 1. Distribuição geográfica de formigas- cortadeiras no Brasil.



FONTE: FORTI et al, 2020.

2.1.1 Características dos Ninhos de Saúva

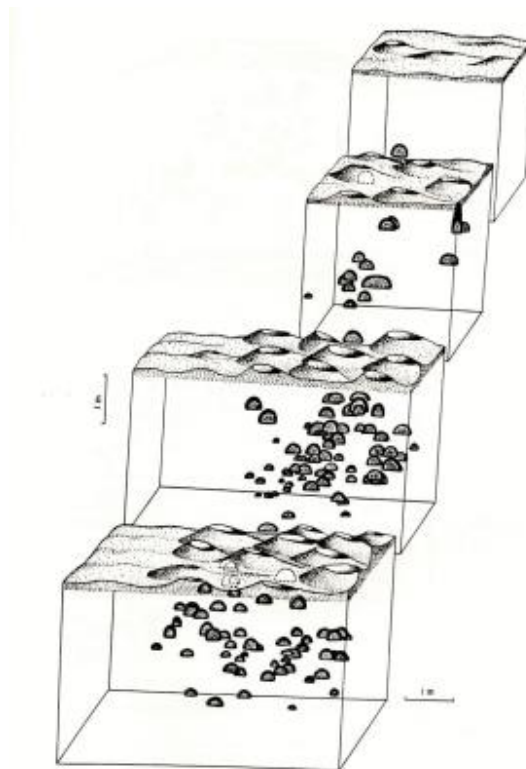
As formigas cortadeiras vivem em ninhos subterrâneos, com centenas de galerias que interligam as câmaras à superfície. Os ninhos podem possuir milhões de indivíduos e alcançar tamanhos superiores a 100 m². Externamente os ninhos são reconhecidos pelos aglomerados maiores de terra solta (murundum), que são extraídos e levados à superfície pela escavação do solo. Cada câmara tem uma destinação específica para o bom funcionamento da colônia (CARMO, 2014).

O conhecimento da arquitetura dos ninhos é importante para definir as estratégias de controle, visto que, essas formigas constroem ninhos complexos, principalmente as espécies do gênero *Atta* (Figura 2). De modo geral, os ninhos de *Atta sexdens*, *A. laevigata* (Smith, 1858), *A. vollenweideri* (Forel, 1908) e *A.*

bisphaerica (Forel, 1908) (Hymenoptera: Formicidae), apresentam apenas um monte de terra solta e as câmaras de fungo localizam-se sob ele (MARICONI, 1970; MOREIRA *et al.*, 2004). No entanto, *A. capiguara* apresenta certo número de áreas secundárias e as câmaras principais (painéis de fungo) estão localizadas sob essas áreas (FORTI, 1985).

A determinação do local onde se encontra a maior concentração de câmaras de fungo é um fator relevante na aplicação de medidas de controle de espécies de *Atta*, visto que quando o limite da área de terra solta coincide com a área de maior concentração de câmaras principais, a aplicação do formicida pode ser feita nos orifícios localizados acima do monte de terra, o que facilita o seu controle (MOREIRA *et al.*, 2007).

Figura 2. Desenho esquemático da arquitetura de ninhos de formigas cortadeiras (*Atta sexdens*), com a disposição das painéis de fungo sob a projeção do monte de terra solta.



FONTE: PRETTO, 1996

As formigas cortadeiras realizam simbiose, forrageiam materiais vegetais para nutrir o fungo, do qual se alimentam, *Leucoagaricus gongylophorus* (Singer (Möller) 1986) (*Agaricales: Agaricaceae*), pertencente à classe dos Basidiomicetos, o qual é a principal fonte de proteína da dieta das formigas (WEBER, 1972; HERVEY *et al.*, 1977). Este fungo é capaz de degradar celulose, produzindo uma enzima conhecida como celulase, gerando nutrientes para as formigas (MARTIN; WEBER, 1969).

Mariconi (1970) relata que a proliferação exacerbada de ninhos de formigas cortadeiras é consequência do manejo agrícola adotado. As saúvas, como *At. sexdens*, *At. bisphaerica*, *At. opaciceps* (Borgmeier, 1939) e, principalmente *At. laevigata* (Smith, 1858), se aproveitam da abertura de estradas para colonizar novas regiões, uma vez que estabelecem com facilidade seus ninhos durante a terraplanagem (DELABIE *et al.*, 1997; VASCONCELOS *et al.*, 2006).

2.2 FORRAGEAMENTO E DANOS OCASIONADOS POR FORMIGAS CORTADEIRAS

As formigas cortadeiras saem em busca de alimento, construindo trilhas de forrageamento. Uma vez encontrado, as saúvas integram todas as informações obtidas do ninho até a fonte alimentar e vão demarcando com feromônios o caminho pelo qual percorreram. Após, retomam o mesmo caminho depositando mais feromônios, num processo de retroalimentação até a fonte alimentar e seu ninho (CZACZKES *et al.*, 2015).

O forrageamento consiste na busca de vegetais, seguido do corte em fragmentos e seu transporte até o ninho, para fornecimento ao fungo simbiote. Este processo é influenciado por diversos fatores como a sazonalidade, revoada, tamanho do formigueiro, queimadas, distribuição espacial entre colônias, hora do dia, presença de parasitoides, precipitação pluviométrica e temperatura (RIBEIRO; MARINHO, 2011). Esses fatores limitam ou ampliam a distribuição geográfica das diferentes espécies de formigas cortadeiras.

A nível regional, a distribuição dos ninhos de formigas cortadeiras é regulada por fatores ambientais como a vegetação, o solo e o clima. Para *At.*

sexdens, os estudos sugerem que as alterações microclimáticas podem induzir as mudanças dos locais dos ninhos (GILS; VANDERWOUDE, 2012).

Fowler e Robinson (1979), avaliando as estratégias de forrageamento de *At. sexdens*, observaram que não houve formação de trilhas em temperaturas acima de 30°C e abaixo de 10°C, indicando que essas formigas apresentam um limite de tolerância de temperatura para realizar o forrageamento.

A atividade de forrageamento aumenta à medida que a temperatura reduz, sendo que a maior atividade concentra entre 19 e 23°C sendo menores em temperaturas superiores a 30°C, devido ao risco de desidratação (TONHASCA; BRAGANÇA, 2000). Viana *et al.* (2004) também concluíram que a temperatura é fator limitante da atividade e intensidade de forrageamento durante o dia.

Tonhasca e Bragança (2000) verificaram que durante o dia, as operárias de *At. sexdens*, forrageiam lentamente e esta atividade era interrompida abruptamente quando a temperatura atingia 30°C. Foi observado também que atividade de forrageamento diurna apresenta maiores riscos de parasitismo e dessecação; assim, é esperado que as forrageadoras diurnas otimizem seu forrageamento transportando cargas maiores.

Em relação a umidade, a atividade das operárias, responsáveis em cortar e carregar materiais vegetais, foi maior em altas umidades relativas (UR), 80-92% (CERQUEIRA, 2012). Deve-se ao fato de além de contribuir para um menor risco de desidratação, as plantas ficam mais tenras e reduzem a concentração de metabólitos secundários o que indiretamente proporciona um maior rendimento da atividade de corte e um material melhor para ser acondicionado para o fungo (SIMAS *et al.*, 2003).

Em condições de 100% de UR ocorre forrageamento, desde que sob leve precipitação. Entretanto em períodos com muita chuva ou persistente não ocorre forrageamento, a retomada fica dependente da intensidade e da duração das chuvas, e a detecção, para orientação, do feromônio das trilhas é prejudicada pela lâmina de água (LEWIS *et al.*, 1974). Em outro estudo, destacou-se que na estação chuvosa ocorrem várias pequenas trilhas, mas na estação seca, elas possuem extensões maiores, e em menor número (FOWLER; ROBINSON, 1979).

Os padrões de forrageamento variam muito com a sazonalidade (DELLA LUCIA; OLIVEIRA, 1993; RIBEIRO; MARINHO, 2011). Em um estudo

realizado com *At. sexdens*, em pastagens no sul do Brasil, Giesel *et al.* (2013) verificaram a ocorrência de correlação negativa entre o número de operárias e a temperatura durante o verão e outono, identificaram que o forrageamento é maior no inverno e na primavera que no restante das estações.

Entretanto, Cerqueira (2012) não identificou diferença no ritmo de forrageamento de *At. sexdens* em um cultivo de eucalipto na Mata Atlântica, entre os meses do ano, caracterizando ausência de sazonalidade. Contudo, sabe-se que a atividade de forrageamento aumenta à medida que a temperatura diminui, e conforme mencionado anteriormente ocorre preferencialmente entre 19° e 23°C.

Os insetos fitófagos alimentam-se de partes vegetais e geralmente limitam-se à redução da área foliar, o que compromete a atividade fotossintética da planta. Em relação às cortadeiras, em condições de alta infestação ou de cortes constantes, o desfolhamento não só prejudica a capacidade fotossintética, mas também passa a ser limitante para o desenvolvimento e crescimento das plantas (CANTARELLI *et al.*, 2008). As plantas cortadas frequentemente crescem menos ou não crescem, isso faz com que as plantas tentem emitir novas brotações depreciando todas as suas reservas (RIBEIRO, 2009).

Cerca de 15% das folhas cortadas em florestas da América são devido às formigas do gênero *Atta* (BOARETTO; FORTI, 1997). Se este dano ocorresse em aproximadamente 6 milhões de hectares de florestas plantadas no Brasil, os prejuízos chegariam a 6,7 bilhões de dólares (ISENRING; NEUMEISTER, 2010). Nestas florestas, os danos mais expressivos ocorrem no primeiro mês e se estendem por um a até três anos de idade, após o plantio (NICKELE *et al.*, 2012), tornando as plantas mais suscetíveis ao ataque de outros insetos e patógenos (CANTARELLI *et al.*, 2008).

2.3 MÉTODOS DE CONTROLE DE FORMIGAS CORTADEIRAS

Métodos culturais, mecânicos, físicos e biológicos vêm sendo estudados visando viabilizar o controle de formigas cortadeiras, sendo que alguns deles podem ser utilizados para o controle de colônias iniciais e são viáveis, principalmente, em pequenas propriedades. Todavia, desde os anos 50, com o

desenvolvimento dos inseticidas sintéticos, os métodos químicos têm sido efetivamente utilizados no controle destes insetos (OLIVEIRA *et al.*, 2011).

Os produtos químicos podem causar impactos econômicos (custos com mão de obra, produtos e equipamentos), sociais (na saúde do operador) e ambientais (no solo, água, fauna e flora) e são encontrados nas seguintes formulações: pós secos, líquidos, líquidos termonebulizáveis e iscas granuladas (BOARETTO; FORTI, 1997).

Existem oito princípios ativos registrados e liberados para controle de formigas no Brasil: deltametrina, permetrina, fipronil, sulfluramida, bifentrina, fenitrotiona, clorpirifós, fenitrotiona e metam-sódico (MAPA, 2022). No entanto, segundo a Agência de Defesa Agropecuária do Paraná (ADAPAR) no Estado, dentre estes oito princípios apenas quatro (deltametrina, permetrina, sulfluramida, fipronil) são liberados para uso (ADAPAR, 2022).

No Brasil, a principal forma de controle de formigas cortadeiras é baseada em iscas tóxicas. As iscas granuladas atrativas são amplamente usadas, sendo constituídas de: polpa cítrica + ingrediente ativo. O atrativo de polpa cítrica atua na camuflagem do ingrediente tóxico. Esta composição é importante pois as operárias forrageadoras necessitam transportar as iscas até o interior de suas colônias, sem perceberem o ingrediente tóxico, evitando rejeição, incorporando o produto jardim do fungo simbiote, esperando-se que ocorra a disseminação do princípio ativo entre as operárias que participam deste processo ao manipular a isca (DELLA LUCIA; VILELA, 1993).

As iscas são compostas basicamente por dois ingredientes ativos: sulfluramida ou fipronil.

Sulfluramida é amplamente utilizada, pois essa molécula tem ação lenta, por ser usada em baixas concentrações, sendo considerada a forma mais segura de controle (BRITTO *et al.*, 2016). Pertence ao grupo químico das sulfonas fluoralifáticas.

Nos insetos a sulfluramida age por ingestão, bloqueando o fluxo de elétrons da cadeia respiratória nas mitocôndrias, cessando a síntese de adenosina trifosfato (ATP). Em virtude disso, o inseto se torna lento sendo menos impactante (BRUGGER *et al.*, 2008), mas nem todas as formigas se contaminam, proporcionando maior taxa de sobrevivência. De forma indireta, mesmo uma

contaminação parcial pode favorecer a proliferação de outros fungos e a morte de alguns indivíduos, promovendo a contaminação do fungo simbionte, levando ao colapso da colônia (BARBOSA *et al.*, 2018).

A sulfluramida foi classificada como Poluente Orgânico Persistente (POPs) na Convenção de Estocolmo (UNITED NATIONS TREATY COLLECTION, 2009), sendo vetada em diversos países devido a proibição do produto perfluorooctane sulfonyl fluoride (PFOSF), intermediário na fabricação de sulfluramida, e no Brasil, ainda tem sido usada, principalmente pelo número reduzido de princípios ativos para formigas.

O fipronil pertence ao grupo químico fenil-pirazol, atua por ingestão e seu modo de ação ocorre no sistema nervoso central do inseto, inibindo o receptor do ácido gama amino-butírico (GABA), matando os insetos por hiper excitação (TOMLIN, 2000). No entanto, apresenta toxicidade significativa em sistema aquático, sendo necessário o cuidado no manejo da água de irrigação (NAKAGOME *et al.*, 2006), ou mesmo na aplicação de iscas comerciais próximo a mananciais hídricos.

A permetrina e a deltametrina pertencem ao grupo químico dos piretroides, com amplo espectro de atividade, ação rápida, eficiência em baixa dose, baixo poder residual no ambiente e baixa toxicidade para mamíferos e pássaros. Agem por contato e, em seres humanos, a principal via de absorção é a pele.

Atuam no sistema nervoso central do inseto, modulando os canais de sódio dos filamentos nervosos, ou seja, prolongam ou impedem o fechamento normal destes canais, permitindo um fluxo excessivo de Na⁺ para o interior da célula nervosa (SANTOS *et al.*, 2007; VELISEK *et al.*, 2007). Também podem ligar-se com receptores do ácido gama amino-butírico (GABA), bloqueando canais de cloro. A deltametrina é utilizada como formicida em pó e a permetrina em líquidos termonebulizáveis.

O K-Othrine 2P[®] é um inseticida piretroide à base de deltametrina 0,2%, indicado para controle de cortadeiras, na dose de 10 g do produto comercial por m² de formigueiro (ADAPAR, 2022). No entanto, esta modalidade possui algumas desvantagens como necessidade de se aplicar em solo seco e a impossibilidade do produto atingir todas as câmaras de um ninho adulto. Isto torna sua eficiência questionável, uma vez que os produtos atuam por contato, sendo mais recomendado para ninhos pequenos ou médios. Segundo Zanetti *et al.* (2003)

ninhos pequenos são aqueles de até 5m². Um dos requisitos da bula é o repasse do tratamento após 45 dias, quando se verificar o retorno da atividade, no entanto, raramente o agricultor faz este procedimento.

Os formicidas em pós são formulados em veículos sólidos e aplicados com equipamento manual denominado polvilhadeira. Apesar de muito utilizado, esse método apresenta fortes limitações de uso, como a necessidade de remoção da terra solta 24 a 48 horas antes da aplicação. A morte das formigas ocorre pelo contato direto com o produto, que é aplicado nos olheiros de forrageamento, visando atingir o interior do formigueiro (BUENO, 2013; OLIVEIRA *et al.*, 2011).

Uma outra estratégia de controle é a termonebulização para formigueiros grandes, comumente utilizado em áreas amplas de reflorestamento ou onde o uso de iscas é inviável. Além de mais eficiente, a sua aplicação pode ser feita em qualquer época do ano. No Paraná, atualmente não temos produtos comerciais liberados para esta finalidade. As limitações deste método são: elevado custo de aquisição dos termonebulizadores, manutenção do equipamento e a necessidade de profissionais capacitados para operá-lo.

Recentemente a empresa, Catec, desenvolveu um protótipo de uma polvilhadeira elétrica, com capacidade para 3kg de pó, voltada a aplicação de K-Otrhine[®] 2P, com bateria recarregável, com até 8 horas de duração. Ela possui um bico direcionador, o qual deve ser posicionado internamente ao olheiro (Figura 3).

Figura 3. Polvilhadeira elétrica, protótipo Catec.



2.3.1 Outras Estratégias de Controle de Formigas Cortadeiras

Existem alternativas para o manejo de formigas cortadeiras. Dentre estas, a ação inseticida do Nim já foi testada em mais de 500 espécies de insetos (KOUL; WAHAB, 2004), sendo a substância conhecida como Azadiractina a principal responsável por esta propriedade. Por outro lado, Souza *et al.* (2009) identificaram saúveiros forrageando plantas de nim (*Azadirachta indica*), relatando que apesar da sua ação inseticida comprovada, essa propriedade não impediu a saúva limão (*At. sexdens*) de cortar e carregar suas folhas para o saúveiro.

Uma vez que não se alimentam de vegetais, as formigas-cortadeiras provavelmente utilizam a Azadiractina para proteger sua colônia de outros agentes, seja insetos ou microrganismos. Brugger *et al.* (2008) observaram que as operárias de *Acromyrmex rugosus* (Smith, 1858) (Hymenoptera: formicidae) são mais atraídas por polpa de iscas à base extratos de Nim do que polpa cítrica, entretanto, estes autores não mencionam quais substâncias podem estar envolvidas na atratividade das formigas.

Araújo *et al.*, (2012) avaliaram a aplicação de efluentes tóxicos como a manipueira, que é um subproduto gerado no processo de prensagem da farinha, na industrialização de raízes de mandioca e concluíram ser altamente eficientes quando utilizados puro ou diluído no volume de 2 litros por olheiro.

O uso de iscas líquidas de ácido bórico mostrou ser eficiente no controle de operárias de formigas argentinas. Isso se deve ao fato de que as baixas concentrações de ácido bórico agem lentamente e não são repelidas pelas formigas, aumentando o tempo de ingestão e permitindo ampla distribuição entre os indivíduos da colônia. Entretanto, mesmo após 24 horas do tratamento com estas iscas, cerca de 16% de rainhas permaneceram vivas, sendo recomendado seu uso contínuo para obter boa taxa de mortalidade (HOOPER-BUI; RUST, 2000).

Estudos de toxicidade com ácido bórico são consistentes e relataram que quanto maior a concentração de ácido bórico menor o tempo letal (RUST *et al.* 2004). Klotz *et al.* (2000) observaram que o tempo letal de ácido bórico e bórax foi diretamente relacionado à quantidade de boro na isca. O trabalho de Hooper-Bui e Rust, (2000) em testes de colônia em laboratório, constatou que apenas 0,5% de ácido bórico propiciou mortalidade de operárias e rainhas.

Testes *in vitro* com operárias de *At. sexdens rubropilosa*, demonstraram que formigas tratadas com ácido bórico a 0,2%, tiveram vacuolização citoplasmática em seu epitélio do intestino médio. Formigas tratadas com 0,5% de ácido bórico, coletado 48 horas após o início do tratamento, verificou-se uma drástica diminuição da espessura do epitélio do intestino médio e intensa liberação de células no lúmen e, a vacuolização do citoplasma no intestino médio foi intensificada em formigas coletadas às 96 horas, concluindo-se que o intestino médio é sua principal via de ação, causando mortalidade das formigas (SUMIDA *et al.*, 2010).

Rust *et al.* (2004) demonstraram que na busca por eficiência de iscas tóxicas e possíveis candidatos a serem utilizados no controle de formigas deve-se existir um balanço entre a velocidade de ação do princípio ativo, seu efeito na alimentação, contaminação rápida entre os indivíduos e não deve ser evitado por formigas no processo de recrutamento de novas operárias.

Estudos com aplicação de calcário, via fumigação ou iscas, em condições de laboratório e campo, não demonstraram letalidade às formigas ou ao fungo simbionte, não sendo constatado nem mesmo alteração no pH do jardim do fungo (SCHOEREDER *et al.*, 2012; CARLOS *et al.*, 2011). De acordo com Semenova *et al.* (2011), as secreções expelidas pela glândula metapleural podem manter constante o pH do jardim do fungo, em torno de 5,0, o qual é favorável às

reações de degradação da matéria vegetal forrageada. Carlos *et al.* (2011), ao oferecerem iscas a base de cal, em laboratório, também não registraram mortalidade de formigas e nem do fungo.

Estudo buscando elucidar a aceitação, de iscas à base de sulfato de zinco e cloreto de zinco, *in vitro*, potencialmente viáveis para a inibição do fungo simbionte foram realizados em laboratório, para colônias de *Atta sexdens*. Concentrações de 0,25; 0,5; 1,5; 2,5 e 5,0 g/L suprimiram o desenvolvimento do fungo simbionte *L. gongylophorus*, (SILVA, 2016). Sabe-se que o zinco é elemento essencial para desenvolvimento do fungo. Apesar disso, concentrações elevadas desse metal podem ser inibitórias ou tóxicas para as atividades celulares e de crescimento, além de causar inibição da respiração e da germinação dos esporos (BABICH; STORTZKY, 1978).

2.3.1.1 Ácido salicílico em formigas

Substâncias naturalmente produzidas pelas plantas, com a intenção de promover defesas contra pragas ou doenças, podem sinalizar novas perspectivas de controle. É o caso do ácido salicílico (AS), que é conhecido como sentinela das plantas, atuando na defesa contra insetos, e sobre vários aspectos do seu crescimento e desenvolvimento, pois funciona como modulador de respostas ao estresse biótico e abiótico, ou seja, está relacionado com a indução de mecanismos de defesa que podem promover resistência, agindo como hormônio vegetal (BHATLA; LAL, 2018). Esses mecanismos de defesa têm sido usados em estudos para o controle de artrópodes praga, mediante aplicação do AS, atuando também no estabelecimento da resistência sistêmica adquirida (GAO *et al.*, 2015).

Algumas espécies de formigas produzem ácido salicílico em suas glândulas metapleurais, especialmente direcionado à defesa contra outros organismos, é o caso de *Crematogaster* sp. (Lund 1831) (Hymenoptera: Formicidae), destacando-se sua ação contra outros artrópodes (VANDER MEER, 2012). No entanto, no caso de *At. sexdens* e *Acromyrmex spp*, somente outros ácidos foram determinados na glândula metapleural, com destaque para o ácido indolacético e ácido hidroxí hexanoico (VANDER MEER, 2012).

Recentes estudos têm adicionado o ácido ascórbico, via dieta, para formigas lava-pés, *Solenopsis invicta* (Buren, 1972) (Hymenoptera: Formicidae) (NING *et al.*, 2020), com resultados promissores, em função de significativas mortalidades em laboratório, com perspectivas de uso em iscas formicidas. Sabe-se que o salicato de metila possui ação fumigante contra adultos do besouro *Callosobruchus chinensis* (Linnaeus 1758) (Coleoptera:Bruchidae) (PARK; SHINB; KIM, 2016), mas não tem ação de contato.

Fazam *et al.* (2021) em laboratório, concluíram que o ácido salicílico, quando polvilhado tanto para *At. sexdens* quanto para *Ac. crassispinus* (Forel 1909) (Hymenoptera: Formicidae), causa mortalidade de 100% das operárias nas primeiras 24 horas. Esse resultado abre uma nova perspectiva para manejo de formigas-cortadeiras, possibilita o uso de produto de baixo impacto ambiental, sinalizando uma alternativa de controle em ninhos a campo, podendo contribuir para o manejo integrado de formigas.

2.3.1.2 Terra de diatomáceas no controle de insetos

A terra de diatomáceas (TD) também vem sendo empregada no controle de pragas, especialmente de produtos armazenados. Trata-se de um pó inerte, proveniente de algas diatomáceas fossilizadas, que possui o dióxido de sílica como principal ingrediente. A sílica como inseticida, afeta o balanço hídrico do inseto, causando abrasão no tegumento e a morte por desidratação (ASSIS *et al.*, 2011) em um período variável de um a sete dias, dependendo da espécie-praga. É considerada uma prática segura para operadores e consumidores dos grãos tratados, com ação inseticida duradoura, pois não perde efeito ao longo do tempo (LORINI *et al.*, 2001).

TD é moderadamente eficaz contra a maioria dos besouros que infestam grãos (EBELING, 1971). A utilização da TD, seja na forma polvilhada ou pulverizada, em testes sobre *Diabrotica speciosa* (Germar, 1824) (Coleoptera: chrysomelidae) reduziu parcialmente a alimentação do crisomelídeo durante as primeiras 48 horas. Contudo, após 72 horas, o número de injúrias foliares foi

reduzido em, no mínimo, três vezes, com o uso da TD polvilhada (ASSIS *et al.*, 2011).

A aplicação de TD em feijão armazenado reduziu a oviposição de *Zabrotes subfasciatus* (BOH, 1833) (Coleoptera: Crysomelidae) (SOUZA; BALDIN, 2021). Antunes e Dionello (2021) verificaram que em todas as doses de TD testadas (500, 1500 e 2500 g de TD por tonelada de grão), houve controle satisfatório do gorgulho *Sitophilus zeamais* (Motschulsky, 1885) (Coleoptera: Curculionidae) em milho.

Para formigas cortadeiras (*At. sexdens*) foi verificado que TD, em doses de 1 a 50 g/ m² de terra solta, não foi capaz de reduzir a atividade de forrageamento. As taxas de inatividade dos ninhos variaram entre de 5,3 a 31,6% decorrido 7 dias da aplicação, e após 120 dias não houve diferença de forrageamento entre ninhos tratados e não tratados com TD (FERREIRA-FILHO *et al.*, 2015). Entretanto, como foi utilizada uma polvilhadeira mecânica, tais resultados podem estar subestimados, uma vez que a distribuição do produto pode ter sido comprometida, pela arquitetura dos ninhos, uma vez que o produto tem ação de contato.

Em laboratório o uso de TD foi testado em formigas *Solenopsis* spp., causando 29% de mortalidade de operárias saudáveis. Porém, após 10 dias de avaliação, o tratamento com o fungo *Beuveria bassiana* (Vuillemin, 1912) sozinho mostrou-se melhor do que quando aplicado junto com TD, não deixando claro que a ação abrasiva da TD favoreceu a ação dos conídios do entomopatógeno no exoesqueleto das formigas (BRINKMAN; GARDNER, 2001).

2.3.2 Inseticidas a Base de Fungos Entomopatogênicos no Controle de Formigas Cortadeiras

Embora o controle químico seja a estratégia mais utilizada para o controle de formigas cortadeiras, o uso do controle biológico com agentes entomopatogênicos tem sido uma busca atual, principalmente em função da maior segurança ao homem e ao ambiente. A necessidade de métodos de controle

alternativos, mais seguros e sustentáveis ao ambiente desencadeou a atenção de pesquisadores, fomentando a necessidade de novas estratégias de trabalho.

Uma delas é o controle do fungo simbiote *Leucoagaricus gongylophorus*, que é vital para a sobrevivência da colônia, através de controle biológico com outros fungos. Ensaios de antagonismo foram realizados para avaliar os efeitos de *Escovopsis* spp. e *Escovopsioides* spp. no crescimento do fungo *L. gongylophorus*, mostram que todos os fungos filamentosos afetaram negativamente o seu crescimento micelial. A linhagem *Escovopsis* spp. NL001 proporcionou a maior inibição (78%) do crescimento do fungo simbiote (HAIFIG, 2014).

Cerca de 80% das doenças ocasionadas por infecções nos insetos são atribuídas a fungos. São considerados os primeiros patógenos microbianos empregados em programas de controle biológico de insetos como agentes patogênicos, devido ao potencial de colonização e da larga gama de hospedeiros (ALVES, 1998).

Destacam-se como grupos promissores os fungos patogênicos, *Metarhizium* e *Beauveria*, *Ascomycota: Hypocreales*. Estas espécies de fungos deuteromicetos são entomopatogênicos generalistas, sendo virulentos a diversos insetos, inclusive aos sociais, se reproduzindo obrigatoriamente sobre o hospedeiro (TRAVAGLINI, 2017).

Estes fungos favorecem o controle biológico natural, principalmente por suas características. Atuam por contato e ingestão, existem em grande quantidade na natureza, sendo o solo o seu maior reservatório. Devido à sua grande variabilidade genética, dificilmente os insetos se tornam resistentes aos mesmos (ALMEIDA; BATISTA FILHO, 2006). A colonização no hospedeiro se dá via cutícula, com a produção de enzimas extracelulares proteolíticas com atividade quitinolítica (LEAL *et al.*, 1997). As etapas desta relação são classificadas como fases de: adesão, germinação, formação de apressórios, formação de grampo de penetração, penetração, colonização e ainda, reprodução e disseminação do patógeno (ALVES, 1998).

Os fungos são patógenos com alto potencial de infectar diferentes estágios de desenvolvimento dos hospedeiros: ovos, larvas, pupas e adultos de insetos, sendo uma grande vantagem do uso de fungos entomopatogênicos para o

controle biológico de pragas e com alta especificidade na penetração via tegumento do inseto (ALVES, 1998).

2.3.2.1 *Metarhizium anisopliae*

Travaglini *et al.* (2017) obtiveram sucesso em laboratório quanto a oferta de iscas encapsuladas atrativas com o fungo *Metarhizium anisopliae* (Metschn.) Sorokin (Hypocreales: Clavicipitaceae). Durante as 24 horas iniciais, todas as capsulas ofertadas foram encrustadas no fungo simbiote, revelando o sucesso de carregamento e não rejeição do entomopatógeno pelas operárias da colônia.

O primeiro sucesso do uso de *M. anisopliae* ocorreu em 1879, para controle de larva de um curculionídeo. No Brasil, o maior programa de controle à base de produtos comerciais e não comerciais, é no complexo de cigarrinhas (Hemiptera: Cercopidae), em cana-de-açúcar e pastagens (ALVES *et al.*, 2008), sendo selecionado e priorizando-se a produção de conídio em meio artificial, de alta virulência e resistência à radiação UV (TRAVAGLINI, 2017).

M. anisopliae pertence à família Moniliaceae, persistindo no solo em sua estrutura de resistência. O conídio é uninucleado e oblongo, sendo que a temperatura média de 27 ± 1 °C favorece o seu crescimento. Um ambiente com umidade superior a 80% favorece a germinação do fungo. Após completar o ciclo, apresenta uma muscardine verde, formada por micélios na superfície do cadáver do hospedeiro (ALVES, 1998).

No processo de penetração, o fungo produz proteinases, amplamente estudadas devido a correlação com a especificidade, virulência e patogenicidade do fungo. No estágio final de infecção, na hemocele do inseto, produz metabólitos secundários, que apresentam atividade inseticida, levando o hospedeiro à morte (TÉLLEZ- JURADO *et al.*, 2009).

A atividade alimentar de adultos em ninhos de *At. sexdens piriiventris* tem redução após seis dias da aplicação de *M. anisopliae* em suspensão ou em formulação em pó (SILVA; DIEHL-FLEIG, 1988).

Estudos que contemplam a identificação de isolados com ocorrência natural em formigas, identificaram a presença de *M. anisopliae*, *Beauveria bassiana* (Bals.-Criv.) Vuill (Hypocreales: Cordycipitaceae) e *Paecilomyces* sp. (Thom) Samson 1974) (Eurotiales: Trichocomaceae) em *At. sexdens* quando ocorrem, geralmente estão associados as características das colônias (ZARZUELA, 2007). *M. anisopliae* foi encontrado infestando rainhas de *At. sexdens* (ZARZUELA, 2007). Os fungos *Conidiobolus* spp (Brefeld 1884) (Entomophthorales: Ancylistaceae) e *M. anisopliae* foram detectados em 0,3 e 0,5%, respectivamente, em aproximadamente 1000 rainhas de *S. invicta* coletadas no Texas (BEXTINE; THORVILSON, 2002).

Castilho *et al.* (2010) testaram em saúvas do gênero *Atta* a ação de isolados do fungo *Metarhizium* em laboratório. Em teste de patogenicidade, quanto a capacidade de crescer nos cadáveres dos soldados, o isolado ENA04 de *M. anisopliae* mostrou maior capacidade de esporulação após 3 dias de inoculação, crescendo sobre 77,5 e 66,7% dos cadáveres de soldados de *A. bisphaerica* e *At. sexdens*, respectivamente, sendo patogênico a ambas as espécies. Em contrapartida, Loureiro e Monteiro (2005) observaram capacidade de esporulação sob cadáveres, após 15 dias de inoculação, não superior a 45% para *At. sexdens*.

Em laboratório, iscas a base de *M. anisopliae*, *Trichoderma viride* (Persoon, 1974) e a combinação de ambos, promoveram 100% de mortalidade das colônias de *A. cephalotes*. Quando testada em campo, a isca a base de *M. anisopliae* e a combinação dos dois fungos provocou o abandono dos ninhos pelas formigas, para a construção de um novo. Neste mesmo experimento, um ninho foi 100% controlado com o fungo patogênico *M. anisopliae* (LOPEZ; ORDUZ, 2003).

2.3.2.2 *Beuaveria bassiana*

O fungo *B. bassiana* foi isolado de operárias de *Atta sexdens piriventris* (DIEHL-FLEIG *et al.*, 1992) e em rainhas de *At. sexdens* (ALVES; SOSA GÓMEZ, 1983).

Em condições de laboratório, os tratamentos contendo conídios de *B. bassiana* e *Trichoderma harzianum* (RIFAI, 1969) foram eficientes no controle de *At. sexdens*, pois causaram a morte de larvas, pupas e operárias. A morte nos

diferentes estágios de desenvolvimento está provavelmente associada a efeitos tóxicos dos metabólitos secundários sintetizados por esses fungos, após penetrarem no exoesqueleto das formigas (STEFANELLI *et al.*, 2021).

Jaccoud *et al.* (1999) elencaram os principais sintomas que ocorrem nas colônias de formigas cortadeiras atacadas por fungos entomopatogênicos: inicialmente ocorre redução do forrageamento, conseqüentemente menor atividade dos ninhos, comprometimento da saúde no jardim do fungo e aumento da mortalidade, levando indiretamente a colônia ao declínio.

Combinações de fungos com inseticidas também tem sido testadas. O efeito dos fungos *B. bassiana* e *M. anisopliae* foi estudado em colônia de laboratório de *Atta sexdens*, associados à subdoses de inseticida (Imidacloprid), aplicados 24 horas antes dos fungos entomopatogênicos. No tratamento combinado (inseticida + fungo), a taxa de mortalidade de formigas foi acima de 60%, e, ao usar o fungo isoladamente, a mortalidade caiu para 40%. Na colônia, quando tratada apenas com doses subletais de inseticida, a mortalidade foi apenas de 10%, sugerindo que ao serem expostas previamente ao produto e posteriormente aos fungos, tornam-se mais suscetíveis, elevando a taxa de mortalidade (SANTOS *et al.*, 2007).

Com apelo ambiental internacional e demanda crescente por alternativas de controle biológico de pragas, diversas empresas têm produzido estes agentes com fins comerciais, como é o caso do Boveril® e do Metaril® (Koppert do Brasil). Inseticidas microbiológicos também são usados para pragas: cigarrinha das raízes, (*Mahanarva fimbriolata*, Stål 1854 Hemiptera: Cercopidae), mosca-branca (*Bemisia tabaci*, Gennadius 1889 Hemiptera: Aleyrodidae), broca-do-café (*Hypothenemus hampei*, Ferrari 1867 Coleoptera: Curculionidae), ácaro-rajado (*Tetranychus urticae*, Koch 1836 Trombidiformes: Tetranychidae), gorgulho-do-eucalipto (*Gonipterus scutellatus*, Gyllengal 1883 Coleoptera: Curculionidae), estando liberados para serem aplicados em todas as culturas, em que estas pragas ocorrem.

No caso das formigas cortadeiras, o comportamento de limpeza do corpo (“grooming”) dificulta a entrada destes agentes no ninho. Walker e Hugues (2009) identificaram a existência de imunidade social em formigas cortadeiras, definido como sendo a expressão de um conjunto de defesa em nível de grupo,

relacionado ao comportamento, tais como limpeza individual e mútua (CAMARGO *et al.*, 2017).

O grooming, ou lambedura, que corresponde à remoção de partículas da superfície do próprio corpo ou do corpo de um companheiro de ninho, é importante na proteção do jardim de fungo contra eventuais parasitas ou competidores e na proteção das formigas contra patógenos (MARINHO *et al.*, 2006).

Além deste aspecto, a organização social, com divisão em castas e alto potencial biótico, também são fatores a serem considerados no controle de formigas. São várias as estratégias adotadas pelas colônias para defender a população dos inimigos naturais. Estas pragas desenvolveram uma glândula (metapleural), capaz de anular a ação patogênica de inúmeros microrganismos do meio em que habitam. Ou seja, através das secreções produzidas por estas glândulas, impedem a germinação de fungos, que poderiam se aderir ao tegumento das operárias (VIEIRA *et al.*, 2012; TRAVAGLINI *et al.*, 2017b).

2.3.2.3 Iscas granuladas à base de fungos entomopatogênicos

Considerando-se a atual realidade das iscas granuladas, algumas pesquisas têm sido direcionadas a buscar materiais que possam ser adicionados a matriz das iscas a fim de aumentar a sua atratividade (RAMOS *et al.*, 2006), o que possibilita encrustar outros modos de ação, que tornem as iscas uma alternativa de controle.

Sob condições experimentais, os fungos entomopatogênicos têm sido ofertados às formigas isoladamente ou em iscas de polpa cítrica (JACCOUD *et al.*, 1999), iscas formuladas com farelo de trigo e como atrativo suco de laranja (LOPEZ; ORDUZ, 2003). Vale destacar que existe uma grande dificuldade em relação a novas formulações, no que diz respeito a mistura do ingrediente ativo, do fungo, com outros compostos que visem a estabilização, manutenção e proteção deste agente de controle biológico, a fatores de degradação ambiental (MICHEREFF FILHO *et al.*, 2009). Assim, no desenvolvimento de uma isca microinseticida para formigas cortadeiras, é preciso que a isca seja muito atrativa, e os esporos sejam preservados da ação ultravioleta e da umidade (SILVA, 2016).

Maior rapidez no carregamento de iscas implica em sua menor exposição às condições climáticas adversas, roedores, aves, insetos benéficos e outros animais presentes na área, podendo-se aumentar sua eficiência de controle (LIMA *et al.*, 2003).

Diehl-Fleig *et al.* (1992) formularam iscas tóxicas com diferentes atrativos e esporos de fungos entomopatogênicos. Isto permitiu a aplicação do controle biológico, evitando a percepção do fungo patogênico pelas operárias de formigas, contornando o mecanismo de defesa coletivo. Esse tipo de controle é efetivo, porém necessita de um período prolongado, para que a colônia seja contaminada (LOPEZ; ORDUZ, 2003).

Brito (2018) formulou iscas formicidas, sendo que aquelas à base de casca de aveia, foi melhor aceita pelas operárias de *Atta sexdens*. O processo de revestimento com os fungos entomopatogênicos *B. bassiana* e *M. anisopliae* demonstrou-se viável, pela estabilidade dos fungos e pela sua capacidade de frutificar-se sobre o *pellet* e infectar os insetos-alvo.

Travaglini *et al.* (2017) em laboratório, obtiveram sucesso ao encapsular o fungo *M. anisopliae* em iscas, para controle de formigas cortadeiras. As cápsulas foram confeccionadas de gelatina, incrustadas com polpa cítrica atrativa e, em seu interior acondicionado o produto comercial à base do fungo.

Silva (2016) encrustou o fungo *T. harzianun* em iscas à base de farelo de trigo e suco de laranja como atrativo, e ofereceu para colônias de laboratório de *At. sexdens*, concluindo que as iscas possuíram boa aceitação pelas formigas, sendo carregadas para os ninhos. Ao final de 30 dias constatou-se redução de 30% do fungo simbiote, com maior mortalidade dos indivíduos da colônia.

Em colônias de *A. cephalotes* foi verificada a aceitação e o carregamento de iscas formuladas à base de *M. anisopliae* e *Trichoderma viride* (Pers. 1794) (Hypocreales: Hypocreaceae). Com a combinação destes fungos, observou-se que nas duas semanas iniciais das aplicações houve redução de forrageamento, observando que não houve rejeição das iscas pelas formigas (LOPEZ; ORDUZ, 2003).

Na confecção de iscas formicidas, diversos parâmetros devem ser considerados para se obter um produto de qualidade e que não gere rejeição pelos

membros da colônia, tais como a aparência, cheiro, consistência, cor, resistência à umidade, sinergismo com os adjuvantes de fabricação ou o inseticida, tamanho dos grânulos e sua textura (DELABIE *et al.*, 2000).

3 ARTIGO A: MORTALIDADE E ATIVIDADE DE FORRAGEAMENTO DE FORMIGAS CORTADEIRAS SUBMETIDAS AO ÁCIDO SALICÍLICO EM PÓ

RESUMO

Objetivou-se avaliar a mortalidade de formigas cortadeiras dos gêneros *Atta* e *Acromyrmex*, submetidas à aplicação direta com pós secos, em laboratório, e avaliar o fluxo de forrageamento, após aplicação com pós secos, via polvilhadeira elétrica, em olheiros de alimentação e no interior do murundum. Em laboratório para *Atta* e *Acromyrmex*, foi utilizado delineamento inteiramente casualizado, com 5 repetições e 10 operárias por Gerbox®, as quais foram polvilhadas e mantidas a $25 \pm 2^\circ\text{C}$ e a mortalidade acumulada foi observada a cada 24 horas, durante 7 dias. Utilizou-se como tratamentos: um talco comercial (talco G®), ácido salicílico, enxofre, ácido bórico, óxido de zinco, um talco inerte (Quimidrol®) e uma testemunha. No campo, os tratamentos para *Atta sexdens*, foram realizados em olheiros de alimentação e olheiros no murundum, os tratamentos foram: deltametrina, ácido salicílico e Quimidrol®. Em laboratório, observou-se que tanto para operárias de *At. sexdens* e *Ac. crassispinus*, em 24 horas, o ácido salicílico, causou mortalidade de 100%. No campo, o ácido salicílico, reduziu o ritmo de forrageamento, por até 60 dias após a aplicação, sendo semelhante a deltametrina. Esses resultados abrem uma nova perspectiva de manejo de formigas cortadeiras com o uso de um produto de baixo impacto ambiental, merecendo mais estudos complementares sobre doses e misturas compatíveis para reduzir custos.

Palavras-chave: *Atta sexdens*. *Acromyrmex crassispinus*. Manejo de insetos eussociais.

ABSTRACT

The objective was to evaluate the mortality of leaf-cutting ants of the genera *Atta* and *Acromyrmex*, submitted to direct application with dry powders, in the laboratory, and to evaluate the foraging flow, after application with dry powders, with electric powder applicator, in the nests. In the laboratory for *Atta* and *Acromyrmex*, a completely randomized design was used, with 5 replications and 10 workers per Gerbox[®], which were sprinkled and kept at $25 \pm 2^\circ\text{C}$ and the accumulated mortality was observed every 24 hours for 7 days. The following treatments were used: a commercial talc (talc G[®]), salicylic acid, sulfur, boric acid, zinc oxide, an inert talc (Quimidrol[®]) and a control. In the field, the treatments for *Atta sexdens* were carried out in feeding scouts and scouts in the murundum, the treatments were: deltamethrin, salicylic acid and Quimidrol[®]. In the laboratory, it was observed that for both workers of *At. sexdens* and *Ac. crassispinus*, in 24 hours, salicylic acid caused 100% mortality. In the field, salicylic acid reduced the foraging rate for up to 60 days after application, being similar to deltamethrin. These results open a new perspective of leaf-cutting ant management with the use of a product with low environmental impact, deserving more complementary studies on compatible doses and mixtures to reduce costs.

Key words: *Atta sexdens*. *Acromyrmex crassispinus*. Management of eusocial insects.

3.1 INTRODUÇÃO

As formigas cortadeiras causam sérios impactos econômicos, devido ao hábito de cortar material vegetal, ocasionando danos diretos à produção. Elas representam cerca de 25% de toda a herbívora nos ecossistemas florestais neotropicais (SWANSON *et al.*, 2019).

Estes insetos possuem organização social e estrutura complexa dos ninhos, o que dificulta o seu manejo (DELLA LUCIA; GANDRA; GUEDES, 2014). Seu controle tem sido feito predominantemente por inseticidas químicos sintéticos, através de iscas granuladas, pulverizações ou polvilhamentos.

Na maioria das iscas formicidas os princípios ativos têm sido o fipronil e a sulfluramida, os quais têm apresentado crescente questionamento devido ao impacto ambiental, aliados à retomada da atividade de corte ou mesmo à rejeição do forrageamento (RIDLEY, HOWSE, JACKSON, 1996). Tais aspectos têm motivado a busca por alternativas de controle, seja por novas substâncias atrativas derivadas de extratos vegetais, à base de amido, e ainda adicionando-se fungos entomopatogênicos às iscas (BRITO, 2018; TRAVAGLINI *et al.*, 2017).

Substâncias naturalmente produzidas pelas plantas, com a intenção de promover defesas contra pragas ou doenças, podem sinalizar novas perspectivas de controle. É o caso do ácido salicílico (AS), que é conhecido como sentinela das plantas, na defesa estresse biótico e abiótico, agindo como hormônio vegetal (BHATLA; LAL, 2018). A indução de resistência em plantas, com aplicações exógenas de AS têm sido usados em estudos para o controle de artrópodes praga (GAO *et al.*, 2015).

Outras substâncias também têm sido pesquisadas para o controle de formigas cortadeiras, como o ácido bórico, em dieta artificial para *Atta sexdens*, com efeitos no epitélio do intestino médio (SUMIDA *et al.*, 2010), bem como para outras pragas, o enxofre (RHEINHEIMER *et al.*, 2012) e o zinco (JAMEEL *et al.*, 2020). No entanto, aplicação direta do AS sobre insetos não tem sido reportada na literatura, para estudar possível ação por contato.

Neste sentido, com a aplicação direta de pós secos sobre as formigas cortadeiras, do gênero *Atta* e *Acromyrmex* teve-se por objetivo avaliar: a mortalidade destas pragas, em laboratório, bem como, o fluxo de forrageamento de

ninhos, em campo. Em laboratório como tratamentos: o talco comercial (talco G[®]), ácido salicílico, enxofre, ácido bórico, óxido de zinco, um talco inerte (Quimidrol[®]) e uma testemunha. No campo, com o auxílio de uma polvilhadeira elétrica foi inoculado nos ninhos em olheiros de forrageamento e no murundum os tratamentos: deltametrina, ácido salicílico e Quimidrol[®].

3.2 MATERIAL E MÉTODOS

Experimento em condições de laboratório

Foram realizados três bioensaios (Tabela 3.1), no laboratório de Entomologia da Universidade Estadual de Londrina, Londrina – PR. As formigas foram coletadas em ninhos de saúva limão (*Atta sexdens*) e quenquém-de-cisco (*Acromyrmex crassispinus*), onde se verificava intensa atividade de forrageamento.

Os resultados dos dois bioensaios com *At. sexdens* inspiraram os testes em *Ac. Crassispinus*. As operárias de formigas cortadeiras foram coletadas, com o auxílio de uma pinça, e armazenadas em tubos falcon (100 mL).

Os produtos à base de pó foram polvilhados (frasco tipo saleiro) uniformemente sobre as formigas, agrupadas de 10 em 10 em caixas de poliestireno cristal transparente (tipo Gerbox[®]) (12,0 x 12,0 cm), forrados com papel filtro e contendo uma tampa plástica de 5,0 cm de diâmetro, com algodão hidrófilo, levemente umedecido (1mL de água). Houve reposição de umidade a cada 24 horas. Os produtos foram pesados em balança de precisão, 1,5 g (0,15 g do produto/ formiga/ repetição).

Previamente ao polvilhamento, as formigas foram mantidas em geladeira ($\pm 10^{\circ}\text{C}$), durante 2 minutos, a fim de se reduzir sua atividade, evitar fugas e facilitar as aplicações dos pós. Para cada tratamento, foram utilizadas cinco repetições, com dez formigas, mantidas a $25 \pm 2^{\circ}\text{C}$.

A mortalidade acumulada foi avaliada a cada 24 horas após aplicação dos produtos, até a mortalidade da testemunha em todos os bioensaios. Considerou-se formigas mortas aquelas que não conseguiam manter a posição

natural do corpo, ou seja, mesmo formigas moribundas foram consideradas mortas, quando não exibiam reação, ao serem tocadas por um pincel.

Os valores de mortalidade acumulada foram submetidos à análise de normalidade dos resíduos, e homogeneidade das variâncias não atingindo os pressupostos da análise de variância, os dados foram submetidos a análise não paramétrica, pelo teste de sobrevivência de Kaplan-Meier e o modelo de riscos proporcionais de COX utilizando-se o programa R®.

Tabela 3.1- Tratamentos em pó aplicados com frasco tipo saleiro em formigas cortadeiras no laboratório de entomologia da Universidade Estadual de Londrina.

| Bioensaio 1: Tratamentos | |
|---------------------------------|----------|
| <i>Atta sexdens</i> | |
| Produto polvilhado | dose (g) |
| 1 Talco G® ¹ | 1,5 |
| 2 Quimidrol® ² | 1,5 |
| 3 Testemunha | — |
| Bioensaio 2: Tratamentos | |
| <i>Atta sexdens</i> | |
| Produto polvilhado | dose (g) |
| 1 Ácido salicílico | 1,5 |
| 2 Ácido bórico | 1,5 |
| 3 Óxido de zinco | 1,5 |
| 4 Enxofre | 1,5 |
| 5 Testemunha | - |
| Bioensaio 3: Tratamentos | |
| <i>Acromyrmex crassispinus</i> | |
| Produto polvilhado | dose (g) |
| 1 Talco G® | 1,5 |
| 2 Quimidrol® | 1,5 |
| 3 Ácido salicílico | 1,5 |
| 4 Ácido bórico | 1,5 |
| 5 Óxido de zinco | 1,5 |
| 6 Enxofre | 1,5 |
| 7 Testemunha | — |

¹Talco polvilho antisséptico comercial talco G (Granado®), de composição/g: Ácido Salicílico 0,352g, Enxofre 17,602g, Ácido Bórico 3,0g, Óxido de zinco 11,735g, Amido 23,47g, Talco qsp 100g. ² referente ao mineral talco puro, Mg₃(Si₂O₅)₂(OH)₂, correspondente à composição química teórica: MgO: 31,7%, SiO₂: 63,5%, H₂O: 4,8%. ³ Isenta de produtos em pó.

Experimento em condições de campo

Foram conduzidos dois experimentos para aplicação de produtos à base de pó localizados no campus da Universidade Estadual de Londrina-PR. O tipo de solo predominante é o latossolo-roxo, profundo de alta fertilidade. Segundo a classificação de Köppen, o clima é do tipo Cfa, ou seja, clima subtropical úmido, com chuvas em todas as estações, podendo ocorrer secas no período de inverno (Dos SANTOS *et al.*, 2018).

A atividade dos ninhos foi previamente confirmada pela presença de formigas, trilhas de forrageamento limpas, fragmentos de material vegetal perto dos olheiros e, pela presença de terra solta, recém-revolvida (grânulos com tons mais avermelhados/ escuros).

A avaliação do ritmo de atividade de forrageamento de *At. sexdens* foi adaptado da metodologia de Giesel *et al.* (2013). As avaliações foram realizadas a 30 cm da entrada principal do olheiro, fazendo-se a contagem após definir um ponto fixo na trilha por dois minutos, registrando-se o número de formigas com e sem material vegetal, com o auxílio de um contador manual. Definiu-se uma avaliação prévia, antes de iniciar a aplicação dos tratamentos, considerando-se posteriormente: 1 dia após a aplicação (DAP), 7, 15, 30, 45, 60 DAP. Concentrando as aplicações e as avaliações após às 19:00 horas. Foi utilizada uma polvilhadeira elétrica (protótipo Catec) (Aplicador k-flex), com capacidade para 3kg, bivolt, bateria com autonomia para 8 h de trabalho, para a aplicação de pós secos. A polvilhadeira possui um bico direcionador, o qual foi direcionado internamente a um olheiro de alimentação com alta atividade, durante 5 minutos para a saturação do olheiro.

Para os ensaios de campo, foi delimitado dentro do campus Universitário, diferentes setores com intensa atividade de forrageamento, os quais receberam um tipo de tratamento (um produto a base de pó), perfazendo uma repetição.

Os valores do ritmo de forrageamento foram submetidos à análise de normalidade dos resíduos, e homogeneidade das variâncias não atingindo os pressupostos da análise de variância, os dados foram submetidos à análise do modelo linear generalizado Quasi-Poisson. Os dados foram submetidos à análise

deviance, e as médias comparadas pelo teste Tukey ($\alpha \leq 0,05$), utilizando-se o programa R.

Ensaio 1: Os tratamentos (Tabela 3.2) foram direcionados em quatro setores composto por quatro ninhos (repetições) em cada setor e quatro olheiros de forrageamento, as aplicações foram realizadas em olheiros de forrageamento, próximos ao murundum.

Ensaio 2: Os tratamentos (Tabela 3.2) foram direcionados em três setores composto por três ninhos (repetições) em cada setor e três olheiros de forrageamento, as aplicações foram realizadas em olheiros rígidos (com estrutura mais compactada para receber o bico aplicador da máquina) no murundum.

Tabela 3.2- Tratamentos em pó aplicados com polvilhadeira elétrica em ninhos de formiga *Atta sexdens* para avaliação da atividade de forrageamento. Londrina-PR.

| Ensaio 1: Tratamentos | |
|------------------------------|------------------|
| olheiro de forrageamento | |
| Produto polvilhado | dose (g)/ 5 min. |
| 1 Deltametrina ¹ | 55,5 |
| 2 Quimidrol [®] | 385 |
| 3 Ácido salicílico | 56,5 |
| 4 Testemunha ² | - |
| Ensaio 2: Tratamentos | |
| olheiro no murundum | |
| Produto polvilhado | dose (g) |
| 1 Deltametrina | 55,5 |
| 2 Ácido salicílico | 56,5 |
| 3 Testemunha | - |

¹ K-Othrine[®] 2P. ² Isenta de produtos em pó.

3.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

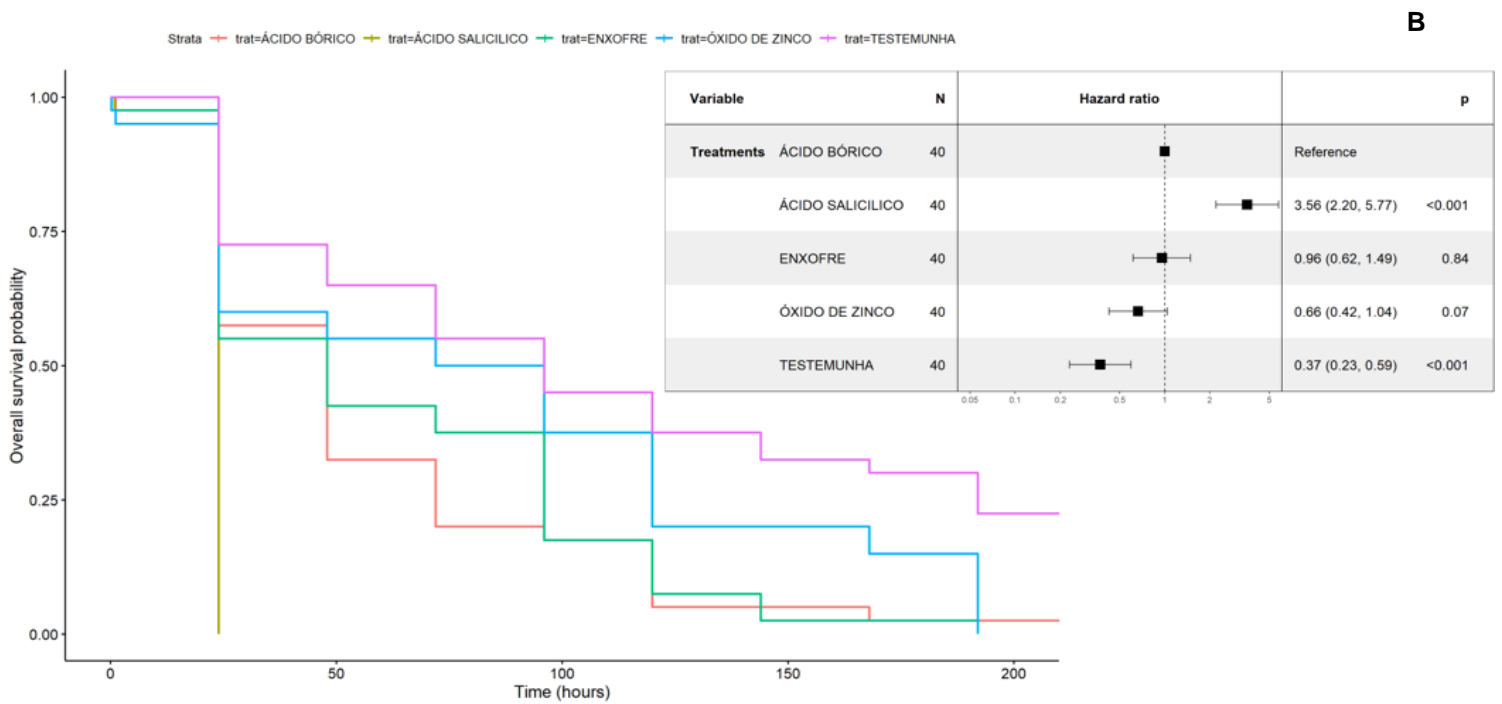
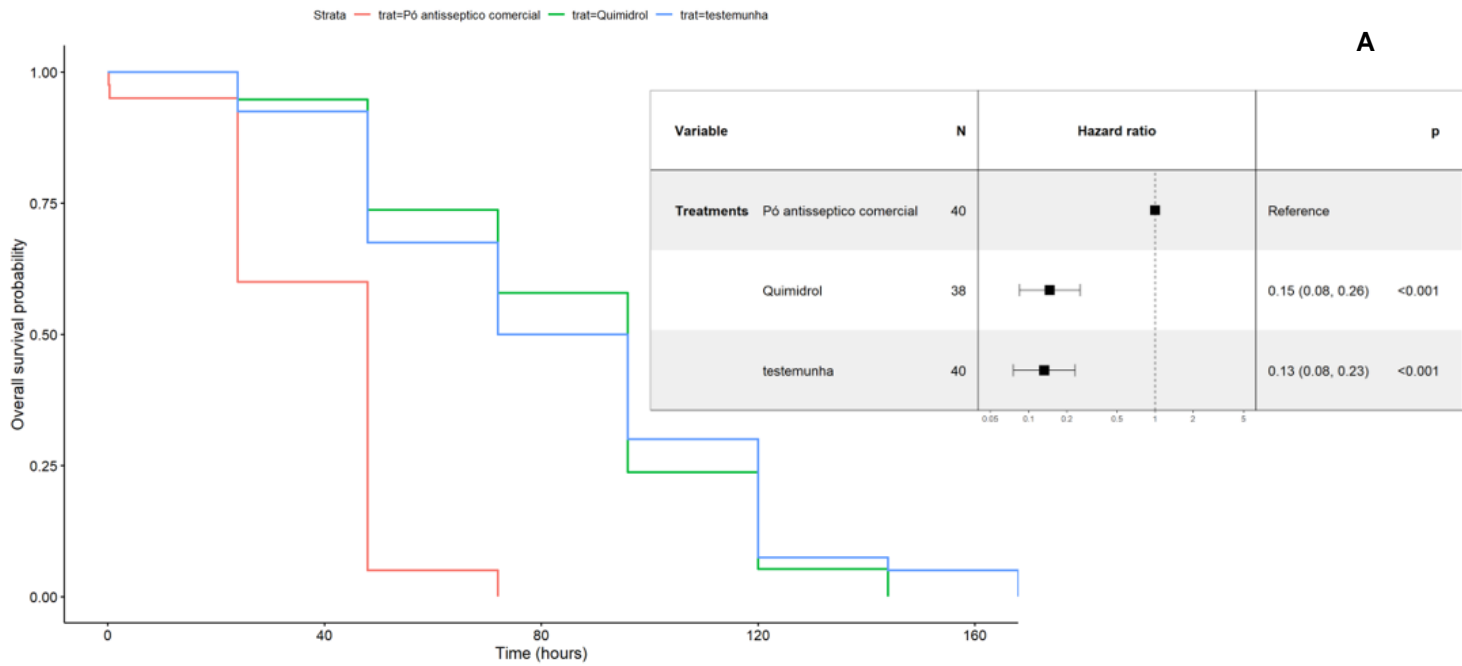
A aplicação do talco polvilho antisséptico comercial (G[®]) refletiu em mortalidade de 40%, em 24 horas, nas operárias de saúva limão e 100%, após 72 horas, resultando em menor tempo médio de sobrevivência em laboratório (Figura 3.1a).

Imaginou-se que o efeito da mortalidade dos insetos com o talco G[®] fosse devido à presença do ácido bórico, ingrediente ativo já reconhecido como inseticida, e que possui ação formicida para a saúva limão (SUMIDA *et al.*, 2010).

Isclas à base de ácido bórico têm sido estudadas para o controle de formigas *Anoplolepis tenella* (Santschi 1911) (Hymenoptera: Formicidae) em cultura de mandioca, com resultados promissores (HANNA *et al.*, 2015). Embora o mecanismo de toxicidade do borato não tenha sido totalmente elucidado, existe variabilidade de aceitação deste princípio ativo na isca, de acordo com a espécie estudada, sendo comumente usado nos E.U.A., para o controle de formigas em áreas urbanas (SOLA; FALIBENE; JOSENS, 2013). Sabe-se que sua ação como formicida é considerada lenta. Tais resultados corroboram com os desse trabalho, uma vez que o efeito foi mais acentuado 3 dias após a aplicação tópica.

No entanto, no presente trabalho, quando as operárias foram submetidas ao contato com os seus componentes individualizados, constatou-se que o ácido salicílico apresentou maior controle das formigas cortadeiras, com 100% de mortalidade acumulada, após 24 horas (Figura 3.1b).

Figura 3.1- Curva de sobrevivência de operárias de saúva limão *Atta sexdens*, submetidas a tratamentos químicos com pó seco. **A:** talco G[®], talco inerte quimidrol[®] testemunha. **B:** componentes químicos (isolados) do talco polvilho antisséptico comercial (talco G[®]), estimada pelo método de Kaplan-Meier. Londrina-PR, 2019.

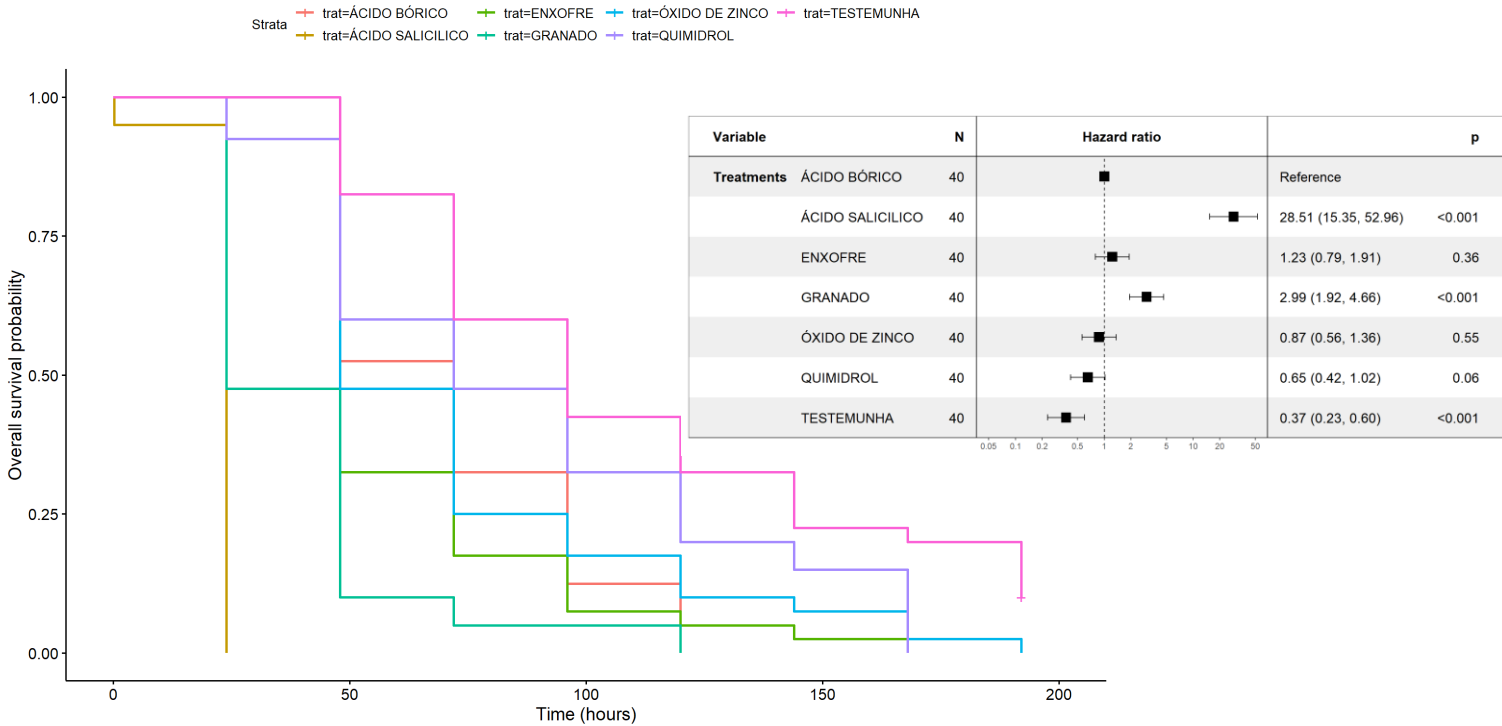


O talco G[®] proporcionou mortalidade de 90% para *Ac. crassispinus*, após 48 horas. Destaca-se que a aplicação do AS, em 24 horas, resultou em 100% de mortalidade acumulada (Figura 3.2).

Não foram encontrados trabalhos referentes ao uso do ácido salicílico para controle de formigas cortadeiras, via aplicação direta sobre os insetos. Algumas espécies de formigas produzem ácido salicílico em suas glândulas metapleurais, especialmente direcionado a defesa contra outros organismos, como ocorre em *Crematogaster* sp. destacando-se sua ação contra outros artrópodes (VANDER MEER, 2012). No entanto, em *Atta sexdens* e *Acromyrmex* sp, outros ácidos foram determinados na glândula metapleural, com destaque para o ácido indolacético e ácido hidroxí hexanoico (VANDER MEER, 2012).

Recentes estudos têm adicionado o ácido ascórbico, via dieta, para formigas lava-pés, *Solenopsis invicta* Buren (NING *et al.*, 2020), com resultados promissores, em função de significativas mortalidades em laboratório, com perspectivas de uso em iscas formicidas.

Figura 3.2- Modelo de riscos proporcionais de COX, com risco relativo e intervalo de confiança para mortalidade de operárias de quenquém de cisco *Acromyrmex crassispinus*, submetidas a tratamentos químicos em pó seco. Londrina-PR, 2019.



Para ambas as espécies de formigas cortadeiras, a mortalidade no tratamento com talco inerte, Quimidrol®, foi semelhante à testemunha, confirmado quando polvilhado no interior do ninho (olheiros de alimentação). Dessa forma não necessário repetir o mesmo produto dentro do murundum, refutando-se a hipótese inicial da influência física das partículas de pó sobre as formigas, seja por ação abrasiva nos intersegmentos ou por vedação dos espiráculos. Em sua ficha técnica, cabe destacar que o talco Quimidrol®, silicato de magnésio hidratado, é utilizado na indústria de agrotóxicos, devido a sua característica inerte e diluente, comumente veiculando ingredientes ativos.

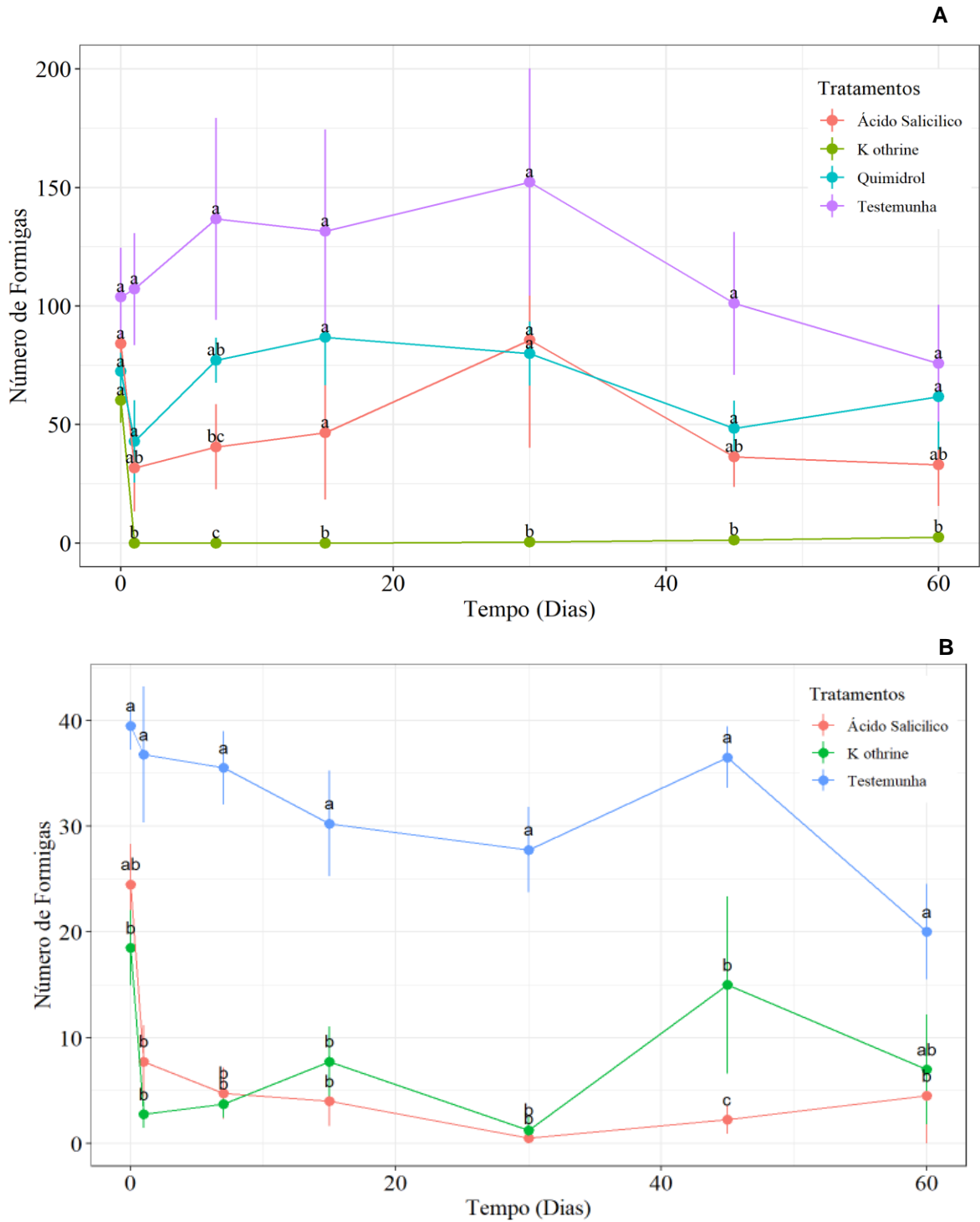
Quando aplicado somente em olheiros de forrageamento, o ácido salicílico se comporta semelhantemente à testemunha e ao Quimidrol®, com pouca redução no forrageamento, ao longo do período avaliado. Ao ser aplicado no murundum, observou-se que a deltametrina (recomendada para controle de cortadeiras, tem efeito na redução do forrageamento nos olheiros avaliados) e o

ácido salicílico possuem comportamento semelhante, ao longo dos 60 DAP, promovendo redução de forrageamento e com discreto aumento em ambos os tratamentos, próximo aos 45 DAP (Figura 3.3). A justificativa para a maior eficiência do controle em aplicações diretamente no murundum pode ser devido aos produtos atingirem a chamada “zona ativa” (painelas com fungo, com ovos, larvas e pupas), causando mortalidade em maior número de indivíduos.

De modo geral, os ninhos de *At. sexdens*, *A. laevigata*, *A. vollenweideri* e *A. bisphaerica* apresentam apenas um monte de terra solta e as câmaras de fungo localizam-se sob esse (MARICONI, 1970; MOREIRA *et al.*, 2004). A determinação do local onde se encontra a maior concentração de câmaras de fungo é um fator relevante na aplicação de medidas de controle de espécies de *Atta*, visto que quando o limite da área de terra solta coincide com a área de maior concentração de câmaras, a aplicação do formicida pode ser feita nos orifícios localizados acima do monte de terra, o que facilita o seu controle (MOREIRA *et al.*, 2007).

Neste sentido, a hipótese é devida ao local de aplicação, ser mais próximo da região ativa do ninho, o que aumenta a chance dos pós atingirem mais insetos, sejam adultos, larvas ou mesmo pupas, reduzindo o forrageamento, o que possibilita o colapso da ninho, além de proporcionar o desenvolvimento de fungos oportunistas nestas câmaras e expor muitos insetos a outros inimigos naturais, como moscas Phoridae, formigas carnívoras, etc.

Figura 3.3. Produtos à base de pós polvilhados, via polvilhadeira elétrica, em ninhos de *Atta sexdens*. **A:** Polvilhados em olheiros de forrageamento. **B:** polvilhados em olheiros no murundum. Londrina-PR, 2019.



Sabe-se que o salicato de metila possui ação fumigante e de contato contra adultos do besouro *Callosobruchus chinensis* (Linnaeus 1758) (Coleoptera: Bruchidae) (PARK; SHINB; KIM, 2016). No caso do AS, não existem, até o momento, estudos sobre seu modo de ação sobre formigas ou mesmo outros insetos.

O fato de algumas plantas produzirem o ácido salicílico, visando a proteção contra insetos e doenças, bem como a estratégia de formigas que produzem o salicílico para se protegerem de outros artrópodes, respaldam os resultados obtidos nesta pesquisa, do seu potencial inseticida.

3.4 CONCLUSÕES

O ácido salicílico possui potencial formicida e quando aplicado diretamente sobre *Atta sexdens* e *Acromyrmex crassispinus* causa mortalidade acumulada superior a 90 %, em 24 horas.

O ácido salicílico aplicado no murundum é mais eficiente na redução do forrageamento de *Atta sexdens*, quando comparado às aplicações nos olheiros de forrageamento, tendo eficiência semelhante à deltametrina.

REFERÊNCIAS

BHATLA, S. C.; LAL, M. A. **Plant physiology, development and metabolism**. Springer, 2018.

BRITO, R. M. **Desenvolvimento de iscas contendo fungos entomopatogênicos para o controle da saúva limão (*Atta sexdens*)**. (2018). Tese (Doutorado em Ciência de Alimentos). Universidade Estadual de Londrina, Londrina, PR.

DELLA LUCIA, T. M. C.; GANDRA, L. C.; GUEDES, R. N. C. Managing leaf-cutting ants: peculiarities; trends and challenges. **Pest management science**. v. 70, n. 1, p. 14-23. 2014.

DOS SANTOS, H. G. *et al.* **Sistema brasileiro de classificação de solos**. Brasília, DF: Embrapa, 2018., 2018.

GAO, Q. M. *et al.* Signal regulators of systemic acquired resistance. **Frontiers in Plant Science**. v. 6, p. 228, 2015.

GIESEL, A.; BOFF, M. I. C.; BOFF, P. Seasonal activity and foraging preferences of the leaf-cutting ant *Atta sexdens piriventris* (Santschi) (Hymenoptera: Formicidae). **Neotropical Entomology**, v. 42, n. 6, p. 552-557, 2013.

HANNA, R. *et al.* Boric acid for suppression of the ant *Anoplolepis tenella* and effects on an associated scale insect pest *Stictococcus vayssierei* in cassava fields in the Congo Basin. **Crop Protection**, v.74, p. 131-137. 2015.

RIDLEY, P.; HOWSE, P. E.; JACKSON, C. W. Control of the behaviour of leaf-cutting ants by their 'symbiotic' fungus. **Experientia**, v. 52, n. 6, p. 631-635, 1996.

JAMEEL, M. *et al.* Enhanced insecticidal activity of thiamethoxam by zinc oxide nanoparticles: A novel nanotechnology approach for pest control. **ACS Omega**, v. 5, n. 3, p. 1607-1615. 2020.

MARICONI, F. A. M. **As saúvas**. São Paulo: Ceres, 167p., 1970.

MOREIRA, A. A. *et al.* Mesa redonda arquitetura dos ninhos das formigas cortadeiras de gramíneas. **Biológico**, v. 69, n. suplemento 2, p. 83-85, 2007.

MOREIRA, A. A. *et al.* Nest architecture of *Atta laevigata* (F. Smith, 1858) (Hymenoptera: Formicidae). **Studies Neotropical Fauna Environment**, v.39, n.2, p.109-116, 2004.

NING, D. *et al.* L-ascorbic acid provides a highly effective and environmentally sustainable method to control red imported fire ants. **Journal of Pest Science**, v. 93, n. 2, p. 879-891. 2020.

PARK, C. G.; SHIN, E.; KIM, J. Insecticidal activities of essential oils, *Gaultheria fragrantissima* and *Illicium verum*, their components and analogs against *Callosobruchus chinensis* adults. **Journal of Asia-Pacific Entomology**, v. 19, n. 2, p. 269-273. 2016.

RHEINHEIMER, A. R. *et al.* Produtos fitossanitários alternativos no controle da mosca-branca (*Bemisia tuberculata*) (Matile-Ferrero), na mandioca. **Semina: Ciências Agrárias**, v. 33, n. 4, p. 14-19. 2012.

SOLA, F.; FALIBENE, A.; JOSENS, R. A resposta comportamental assimétrica a dois tóxicos do boro depende das espécies de formigas (Hymenoptera: Formicidae). **Jornal de Entomologia Econômica**, v. 106, n. 2, p. 929-938. 2013.

SUMIDA, S. *et al.* Toxicological and histopathological effects of boric acid on *Atta sexdens rubropilosa* (Hymenoptera: Formicidae) workers. **Journal of Economic Entomology**, v. 103, n. 3, p. 676-690. 2010.

SWANSON, A. C. *et al.* Welcome to the Atta world: A framework for understanding the effects of leaf cutter ants on ecosystem functions. **Functional Ecology**, v. 33, n.8, p. 1386-1399. 2019.

TRAVAGLINI, R. V. *et al.* Isca encapsulada atrativa visando controle microbiano de formigas cortadeiras. **Tekhne e Logos**, v. 8, n.3, p.100-111. 2017.

VANDER MEER, R. Ant interactions with soil organisms and associated semiochemicals. **Journal of Chemical Ecology**, 38(6), 728-745. 2012.

4 ARTIGO B: MORTALIDADE E REDUÇÃO DO FORRAGEAMENTO DA SAÚVA LIMÃO POR AGENTES ENTOMOPATOGÊNICOS EM PÓS

RESUMO

Objetivou-se avaliar a mortalidade de operárias de *Atta sexdens*, polvilhadas com: *Beuveria bassiana*, *Metarhizium anisopliae*, *Trichoderma harzianum*, ácido salicílico e terra de diatomáceas em laboratório, avaliando-se a atividade de forrageamento de ninhos dessas formigas cortadeiras, quando tratados com os referidos produtos. Tanto o ácido salicílico (AS) quanto terra de diatomáceas (TD), foram utilizados isoladamente ou misturados em diferentes proporções com os referidos entomopatogénos. Em laboratório, o delineamento utilizado foi DIC. Para cada tratamento foram seis repetições, com 10 operárias de formigas, acondicionadas em Gerbox[®], as quais foram polvilhadas manualmente. As formigas foram mantidas em $25 \pm 2^\circ\text{C}$ e a mortalidade acumulada foi avaliada a cada 24 horas, durante 7 dias. No campus da Universidade, diferentes ninhos receberam os tratamentos, via polvilhadeira elétrica. Observou-se que, em laboratório, *Beuveria bassiana*, puro na dosagem de 0,1015 g/ Gerbox[®], ou mesmo em $\frac{1}{4}$ misturado com terra de diatomáceas apresentaram efeito formicida. Efeito formicida também foi observado para os tratamentos *Trichoderma harzianum* e o terra de diatomáceas. A campo, em todos os tratamentos aplicados observou-se a redução do fluxo de forrageamento por 60 dias, com destaque para a mistura de *Beuveria bassiana* com terra de diatomáceas, mantendo-se semelhante ao tratamento com deltametrina (produto comercial K-Othrine[®] 2P).

Palavras-chave: *Beuveria bassiana*. Terra de diatomácea. Controle Biológico. Fungos entomopatogênicos.

ABSTRACT

The objective was to evaluate the mortality of *Atta sexdens* workers, with powder applicator in the laboratory, and the behavior of nests of these leaf-cutting ants, evaluating the foraging activity, when treated with: *Beuveria bassiana*, *Metarhizium anisopliae* and *Trichoderma harzianum*. Both salicylic acid (AS) and diatomaceous earth (TD) were used alone or mixed in different proportions with entomopathogenic fungi. In the laboratory, was DIC. For each treatment, there were six replications, with 10 ant workers, conditioned in Gerbox®, which were manually sprinkled. Ants were kept at $25 \pm 2^\circ\text{C}$ and accumulated mortality was assessed every 24 hours for 7 days. On the University campus, different nests received the treatments, via an electric duster. It was observed that, in the laboratory, *Beuveria bassiana*, pure at the dosage of 0.1015 g/Gerbox®, or even in $\frac{1}{4}$ mixed with diatomaceous earth, showed a formicidal effect. Formicidal effect was also observed for the treatments *Trichoderma harzianum* and diatomaceous earth. In the field, in all treatments applied, a reduction in foraging flow was observed for 60 days, with emphasis on the mixture of *Beuveria bassiana* with diatomaceous earth, remaining similar to the treatment with deltamethrin (commercial product K-Othrine® 2P).

Key words: *Beuveria bassiana*. Diatomaceous earth. Biological control. Entomopathogenic fungi.

4.1 INTRODUÇÃO

As formigas-cortadeiras são seletivas, de modo que algumas espécies de vegetais não são forrageadas, e existem algumas hipóteses para explicar a preferência ou rejeição de algumas plantas pelas mesmas (KOST, TREMMEL, WIRTH, 2011). Na seleção do hospedeiro, para o forrageamento, as saúvas, aparentemente, são influenciadas pela presença de repelentes químicos (tóxicos), de compostos tanínicos, que reduzem a digestibilidade, ou pelo valor nutricional relativo a proteínas, carboidratos e lipídios e pelas propriedades físicas das plantas (SIMAS *et al.*, 2003), associadas às flutuações de temperatura (GIESEL *et al.*, 2013).

Tais formigas produzem substâncias antibióticas em glândulas específicas, permitindo a comunicação química e aprendizagem, assim como uma alta sensibilidade olfativa e seletividade, atributos que auxiliam na prevenção contra a ação de substâncias tóxicas prejudiciais ao fungo e aos membros da colônia (MARINHO *et al.*, 2006). Sabe-se que as formigas aprendem a rejeitar substrato vegetal que contém substâncias químicas prejudiciais ao fungo (RIDLEY, HOWSE, JACKSON, 1996), motivando busca por alternativas, que possam ser adicionadas a matriz cítrica das iscas, para aumentar sua atratividade, principalmente derivados de extratos vegetais (RAMOS *et al.*, 2006, BRITO *et al.*, 2016), ou mesmo polvilhados/pulverizados nos ninhos, ampliando a busca por novas alternativas para seu controle.

O desafio de obter um controle eficiente do controle para formigas cortadeiras tem despertado o interesse de algumas empresas pela fabricação de polvilhadeiras elétricas, que viabilizem uma melhor distribuição dos produtos à base de pó, cujo uso e eficiência estava limitada a ninhos pequenos ou médios. O apelo da sociedade por substâncias mais seguras tem incentivado novas formulações de produtos biológicos. Atualmente existem mais de 300 produtos biológicos registrados no Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento (MAPA, 2022).

O controle biológico com fungos entomopatogênicos como *Beauveria bassiana* (Vuillemin, 1912) e *Metarhizium anisopliae* (Metsch.) tem causado a morte de operárias nas colônias, e até mesmo o uso de *Trichoderma harzianum* (Rifai, 1969) como um antagonista do fungo simbiote, têm se

apresentado como alternativa sustentável ao controle dessas formigas (VERMA *et al.*, 2007).

Entretanto, o controle com fungos é limitado, pois as formigas possuem mecanismos capazes de inibir esses entomopatogênicos. Com o processo de evolução, desenvolveram defesas imunológicas coletivas contra patógenos, ou seja, de interações individuais para combater riscos de transmissão da convivência em colônias (WALKER, HUGHES, 2009).

O 'grooming', que corresponde à remoção de partículas da superfície do próprio corpo ou do corpo de um companheiro de ninho, é fundamental na proteção do jardim de fungo contra eventuais parasitoides ou competidores e na proteção das formigas contra patógenos (MARINHO *et al.*, 2006). Este comportamento de limpeza se mostrou mais eficaz na remoção de *M. anisopliae* das cutículas destes insetos (HUGHES, EOLENBERG, BOOMSMA, 2002). Sabe-se também que a densidade de formigas contaminadas, em um grupo de formigas saudáveis, influencia na disseminação de patógenos na colônia (HUGHES, EOLENBERG, BOOMSMA, 2002). Conhecer os mecanismos de resistência individual e grupal das formigas cortadeiras é essencial, quando a intenção é implementar métodos seguros e eficientes de controle microbiano (RIBEIRO *et al.*, 2012).

A presente pesquisa objetivou: avaliar, após aplicação de produtos em pó e fungos entomopatogênicos a mortalidade de operárias de *Atta sexdens*, polvilhadas manualmente, via contato corporal, em laboratório, bem como avaliando-se a campo a atividade de forrageamento de ninhos de saúva limão, aplicados com polvilhadeira elétrica. Foram usados os inseticidas microbiológicos Boveril® WP PL63 (*Beuaveria bassiana*), Metarril® WP E9 (*Metarhizium anisopliae*) e o biofungicida Natucontrol® (*Trichoderma harzianum*). O ácido salicílico (AS) foi utilizado, de forma pura e misturado com os entomopatogênicos. Para veicular os inseticidas microbiológicos utilizou-se o inseticida Insecto®, composto por Terra de Diatomáceas (TD).

4.2 MATERIAL E MÉTODOS

Experimento em condições de laboratório

Foram realizados 4 bioensaios no laboratório de Entomologia da Universidade Estadual de Londrina, Londrina – PR.

As formigas foram coletadas em ninhos de saúva limão (*Atta sexdens*) onde se verificava intensa atividade de forrageamento. As operárias de formigas cortadeiras foram coletadas, com o auxílio de uma pinça, e armazenadas em tubos falcon (100 mL).

Os produtos à base de pó foram polvilhados (talqueiro pump) uniformemente sobre as formigas, agrupadas de 10 em 10 em caixas de poliestireno cristal transparente (Tipo Gerbox) (12,0 x 12,0cm), forrados com papel filtro e contendo uma pequena tampa plástica de 5,0 cm de diâmetro, com algodão hidrófilo, levemente umedecido (1mL de água). Houve reposição de umidade a cada 24 horas, adicionando-se grânulos de pólen comercial comestível, coletados por *Apis melífera* adquiridos em casa de produtos naturais. Para cada tratamento foram utilizadas seis repetições. Sabe-se que as formigas ingerem água, sendo que a adição também de pólen, resultou de observações preliminares em laboratório, ou seja, do interesse das operárias por esta substância, aliado ao respaldo da literatura, que menciona o interesse por substâncias presentes no pólen, como carboidratos, dentre outros (SILVA *et al.*, 2003).

Previamente ao polvilhamento, as formigas foram mantidas em geladeira ($\pm 10^{\circ}\text{C}$), durante 2 minutos, reduzindo parcialmente sua atividade, para facilitar o manuseio e as aplicações.

Utilizou-se o inseticida microbiológico Boveril® WP PL63, que é recomendado em polvilhamento para o gorgulho-do-eucalipto (*Gonipterus scutellatus*), sendo originalmente coletado de rainhas de *Atta spp* infectadas (JORDAN *et al.*, 2021).

Utilizou-se o inseticida microbiológico Metarril WP E9®, comumente recomendado, via pulverização, para cigarrinha das raízes da cana, *Mahanarva fimbriolata*. *M. anisopliae* também já foi usado com sucesso, via seca, visando estudos da mortalidade da saúva limão, em laboratório (JACCOUD *et al.*, 1999).

Também se utilizou o biofungicida Natucontrol[®], composto pela cepa exclusiva de *Trichoderma harzianum* (BK-Th001), comumente recomendado via pulverização para fungos de plantas, embora possa exercer mortalidade de larvas e pupas da saúva limão (STEPHANELLI *et al.* 2021).

Foram testados diferentes fungos entomopatogênicos sozinhos ou em mistura com ácido salicílico (Tabela 4.1), para avaliar a mortalidade sobre a saúva limão. Com o fungo entomopatogênico de maior destaque do bioensaio 1 *B. bassiana* (Boveril[®] WP PL63), (maior mortalidade no menor tempo de avaliação), foram feitas diluições no bioensaio 2 da dose inicial em talco inerte Quimidrol[®], verificando-se o limiar de dose para aplicação a campo. Os tratamentos foram: 100% de *B. bassiana* 0,1015 grama/ gerbox/ repetição, e as diluições em talco para aplicar 75, 50 e 25% da dose/ gerbox/ repetição e uma testemunha, isenta do fungo. Este resultado foi respaldado pela bula do Boveril[®] WP PL63 (*B. bassiana*), cuja formulação também é recomendada para polvilhamentos.

No bioensaio 3 para veicular os fungos a campo e reduzir custos utilizou-se como veículo a Terra de Diatomáceas (TD) (Insecto[®]) optou-se em utilizar Metarril[®] WP E9 (*Metarhizium anisopliae*) (Tabela 4.2) devido ao seu menor efeito na mortalidade acumulada de formigas no bioensaio 1, embora seja caracterizada como inerte, a TD tem ação inseticida comprovada, especialmente para pragas de grãos armazenados (LORINI *et al.*, 2001), bem como tem ação de extrair umidade do corpo dos insetos, o que poderia potencializar a ação do fungo.

Por fim, para o bioensaio 4 numa eventual recomendação a campo buscou-se verificar a compatibilidade do fungo *Beauveria bassiana* com ácido salicílico em meio de cultura.

Tabela 4.1- Tratamentos em pó aplicados com talqueiro pump em operárias de formiga *Atta sexdens* para avaliação da mortalidade acumulada em laboratório. Londrina-PR.

| Bioensaio 1 | | | |
|--------------------|------------------------------------|------------------------------|---------|
| Tratamento | Nome Comercial | dose/ g/ gerbox® | |
| 1 | Ácido Salicílico (AS) | Synth® PA | 0,1047 |
| 2 | <i>Beauveria bassiana</i> (BB) | Boveril® WP PL63 | 0,1015 |
| 3 | <i>Trichoderma harzianum</i> (TH) | Natucontrol® | 0,0980 |
| 4 | <i>Matarhizium anisopliae</i> (MA) | Metarril® WP E09 | 0,1381 |
| 5 | AS + BB | Synth® PA + Boveril® WP PL63 | 0,1555 |
| 6 | AS + TH | Synth® PA + Natucontrol® | 0,1504 |
| 7 | AS + MA | Synth® PA + Metarril® WP E09 | 0,1738 |
| 8 | Testemunha | — | — |
| Bioensaio 3 | | | |
| 1 | Terra de diatomáceas (TD) | Insecto® | 0,0961 |
| 2 | <i>Matarhizium anisopliae</i> (MA) | Metarril® WP E09 | 0,1381 |
| 3 | MA + TD | Metarril® WP E09 + Insecto® | 0,18615 |
| 4 | Testemunha | — | — |

Numa eventual recomendação a campo buscou-se verificar a compatibilidade do fungo *B. bassiana* com ácido salicílico, sendo preparados 400mL de meio de cultura BDA (batata-dextrose-ágar). O ácido salicílico (na concentração de 10g/m²) foi incorporado ao meio de cultura após a autoclavagem, na temperatura de 45° C, antes da solidificação do ágar na placa de Petri. A testemunha foi o meio de cultura BDA sem o ácido salicílico. Os tratamentos foram vertidos em placas de Petri. Ao solidificar, o fungo foi inoculado em um ponto no centro da placa de Petri na concentração de 1x10⁸ conídios, sendo utilizadas três repetições (modificada de ALMEIDA *et al.*, 2003). As placas inoculadas foram mantidas em câmara para germinação (BOD) a 26°C±1°C para fungos e umidade relativa (UR) de 70%, com fotoperíodo de 12 horas.

Após 16 horas foi feita a contagem de conídios, sendo considerados germinados, aqueles que apresentaram tubo germinativo maior ou igual o diâmetro do tubo (metodologia de ALBONETI *et al.*, 2020).

Decorridos sete dias da inoculação, realizou-se medidas do tamanho da colônia formada nas placas, com um paquímetro digital para avaliação de crescimento vegetativo, medindo-as em dois sentidos ortogonais e retirando-se a média das duas medidas (NASCIMENTO *et al.*, 2013).

As colônias formadas nas placas de Petri, após as avaliações, foram picotadas com auxílio de uma tesoura e transferidas individualmente para tubos de fundo de vidro chato e adicionando-se 10mL de água destilada autoclavada, com solução de Tween 80 (0,01%), agitando para ocorrer o desprendimento dos conídios. Com uma pipeta foi coletada uma alíquota de 0,5mL de conídios e adicionados em uma câmara de Neubauer. Com auxílio de microscópio ótico, foi realizada a contagem de conídios.

Para avaliar as Unidades Formadoras de Colônia (UFC) foram inoculados 100µL de suspensão na concentração de 1×10^3 conídios/mL, em placas de Petri contendo BDA e BDA + ácido salicílico, que foram mantidas por cinco dias em laboratório $26^\circ\text{C} \pm 1^\circ\text{C}$ e umidade relativa (UR) de 70%, com fotoperíodo de 12/12 horas, segundo metodologia de Alboneti *et al.* (2020), modificada.

As médias do crescimento micelial, germinação de conídios, UFC e produção de conídios foram submetidas à análise de variância e comparadas pelo teste de Tukey ($\alpha \leq 0,05$), utilizando-se o programa R.

Para o cálculo de compatibilidade foi utilizado a fórmula de Índice Biológico (IB) (ROSSI-ZALAF *et al.*, 2008).

$$IB = \frac{47[CV] + 43[ESP] + 10[GER]}{100}$$

IB = índice biológico; CV = porcentagem de crescimento vegetativo da colônia após sete dias, em relação à testemunha; ESP = porcentagem de esporulação após sete dias, em relação à testemunha; GER = porcentagem de germinação dos conídios após 16 horas, em relação à testemunha. Os valores do IB ($p=0,05$) para a classificação de substâncias são: 0 a 41 é considerado tóxico, 42 a 66 para moderadamente tóxico e maior que 66 é compatível.

A mortalidade acumulada foi avaliada a cada 24 horas, após aplicação dos produtos, até a morte dos insetos nos tratamentos em todos os bioensaios. Considerou-se formigas mortas aquelas que não conseguiam manter a posição natural do corpo, ou seja, mesmo formigas moribundas foram consideradas mortas, quando não exibiam reação, ao serem tocadas por um pincel.

Os valores de mortalidade acumulada foram submetidos à análise de normalidade dos resíduos, e homogeneidade das variâncias. Os dados foram submetidos a análise não paramétrica, ao não atingirem os pressupostos da ANOVA. O teste de sobrevivência de Kaplan-Meier foi usado para calcular a função de sobrevivência. O teste Log-rank, ou Mantel Haenszel, empregado para testar a hipótese de inexistência das diferenças nas funções de sobrevivência entre os tratamentos. Os valores de p foram ajustados pelo método de Benjamini e Hochberg, que controla a taxa de descoberta falsa (a proporção esperada de descobertas falsas entre as hipóteses rejeitadas). Os dados foram submetidos ao software R, versão 4.0.0.

Experimento em condições de campo

Foram conduzidos dois experimentos para aplicação de produtos à base de pó localizados no campus da Universidade Estadual de Londrina-PR. O tipo de solo predominante é o latossolo-roxo, profundo de alta fertilidade. Segundo a classificação de Köppen, o clima é do tipo Cfa, ou seja, clima subtropical úmido, com chuvas em todas as estações, podendo ocorrer secas no período de inverno (Dos SANTOS *et al.*, 2018).

A atividade dos ninhos foi previamente confirmada pela presença de formigas, trilhas de forrageamento limpas, fragmentos de material vegetal perto dos olheiros e, pela presença de terra solta, recém-revolvida (grânulos com tons mais avermelhados/ escuros).

A avaliação do ritmo de atividade de forrageamento de *At. sexdens* foi adaptado da metodologia de Giesel *et al.* (2013). As avaliações foram realizadas a 30 cm da entrada principal do olheiro, fazendo-se a contagem após definir um ponto fixo na trilha por dois minutos, registrando-se o número de formigas com e sem material vegetal, com o auxílio de um contador manual. Definiu-se uma

avaliação prévia, antes de iniciar a aplicação dos tratamentos, considerando-se posteriormente: 1 dia após a aplicação (DAP), 8, 15, 30, e 60 DAP. Concentrando as aplicações e as avaliações após às 19:00 horas. Foi utilizada uma polvilhadeira elétrica (protótipo Catec) (Aplicador k-flex), com capacidade para 3kg, bivolt, bateria com autonomia para 8 h de trabalho, para a aplicação de pós secos. A polvilhadeira possui um bico direcionador, o qual foi direcionado internamente a um olheiro de alimentação com alta atividade, durante 5 minutos para a saturação do olheiro.

Para os ensaios de campo, foi delimitado dentro do campus Universitário, diferentes setores com intensa atividade de forrageamento, os quais receberam um tipo de tratamento (um produto a base de pó), perfazendo uma repetição. Foram definidos sete setores dentro do campus (sete tratamentos) Tabela 4.2. As aplicações foram realizadas em um olheiro no murundum e em outros dois olheiros mais ativos de forrageamento. Para viabilizar as misturas a campo foi utilizado 1:1 (1 grama para 1 grama), por exemplo: na mistura ácido salicílico + Terra de diatomáceas + *Beuaveria bassiana* foi feita a mistura de 1 kg de cada produto e adicionados a máquina para aplicação.

Os valores do ritmo de forrageamento foram submetidos à análise de normalidade dos resíduos, e homogeneidade das variâncias não atingindo os pressupostos da análise de variância, os dados foram submetidos à análise do modelo linear generalizado Quasi-Poisson. Os dados foram submetidos à análise deviance, e as médias comparadas pelo teste Tukey ($\alpha \leq 0,05$), utilizando-se o programa R.

Tabela 4.2- Tratamentos em pó utilizados com polvilhadeira elétrica aplicados em olheiros de forrageamento e no murundum no campus da Universidade Estadual de Londrina, para controle de saúva limão, *Atta sexdens*.

| | Tratamento | Nome Comercial | dose/ g/ 5 min |
|---|--|--|----------------|
| 1 | Terra de diatomácea (TD) | Insecto [®] | 40,4195 |
| 2 | TD + <i>Beuveria bassiana</i> (B) | Insecto [®] + Boveril [®] WP PL63 | 38,8225 |
| 3 | Ácido Salicílico (AS) + TD+ BSynth [®] PA + Insecto [®] + Boveril [®] WP PL63 | | 42,8645 |
| 4 | AS + B | Synth [®] PA + Boveril [®] WP PL63 | 42,1495 |
| 5 | AS + TD | Synth [®] PA + Insecto [®] | 41,1710 |
| 6 | Deltametrina | Kothrine [®] Bayer | 52,3740 |
| 7 | Testemunha | — | — |

4.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

O AS, embora seja consagrado como fungicida e bactericida, apresentou potencial formicida, em laboratório como já relatado no artigo A, ou seja, exerce influência sob a mortalidade acumulada das formigas cortadeiras.

Na busca por respostas de recomendação destes produtos para uso no controle de formigas cortadeiras, avaliou-se a compatibilidade do fungo *Beauveria bassiana* com ácido salicílico em meio de cultura, evidenciando-se que o AS inibe a atividade de Boveril[®] WP PL63. Porém, a hipótese de que o AS pode causar um efeito deletério no fungo simbiote das formigas dentro da colônia, merece estudos futuros (Tabela 4.3.1).

Tabela 4.3.1- Crescimento vegetativo, Unidades Formadoras de Colônia (UFC), germinação de conídios, produção de conídios, Índice Biológico (IB) de *Beauveria bassiana*, quando misturados com ácido salicílico.

| | Ácido salicílico | Testemunha | CV% |
|--|------------------|------------|-------|
| Crescimento Micelial (mm) | 0b ¹ | 20,54a | 2,11 |
| Produção de conídios (x10 ⁶) | 0b | 49,63a | 3,73 |
| Germinação (%) | 0b | 94,00a | 3,01 |
| Unidade formadora de colônia | 0b | 497,33a | 14,40 |
| Índice Biológico (IB) | 0b | - | - |

¹Médias seguidas pela mesma letra na linha, não diferem entre si pelo teste Tukey à 5% de significância; ²Coefficiente de Variação em %.

Quando aplicado em laboratório, via contato corporal, o Metarril® WP E9 não diferiu estatisticamente do ácido salicílico (AS). Entre às misturas de AS + fungos comerciais (Boveril® WP PL63 e Metarril® WP E9) também não se verificou diferenças estatísticas (Figura 4.1), indicando que o AS não potencializa a mortalidade, via contato, na mistura com esses fungos.

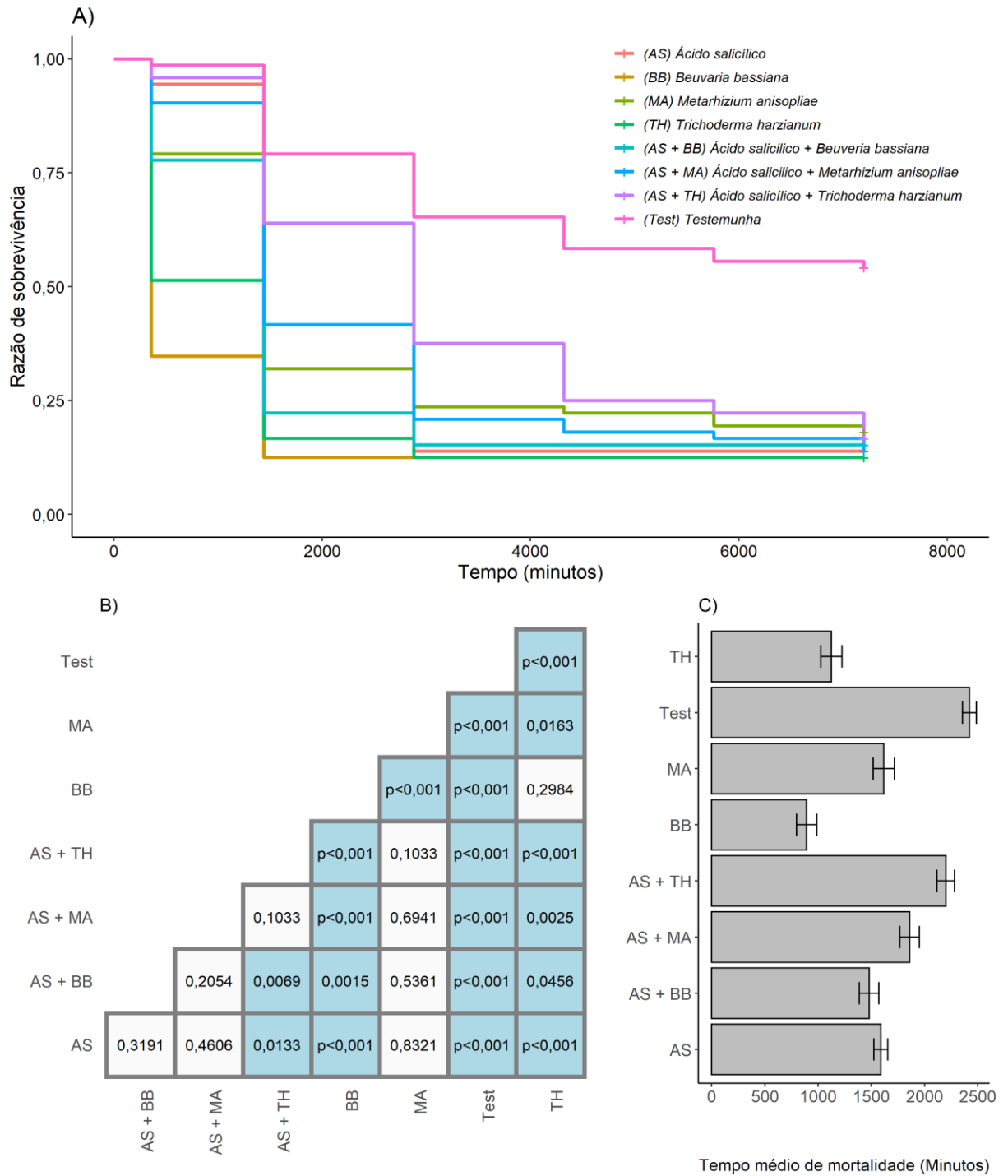
T. harzianum (Natucontrol®), utilizado puro ou em mistura com AS apresentou ação formicida, via contato corporal, comportando-se semelhante a *B. bassiana* (Boveril® WP PL63) (Figura 4.1).

Estudo avaliando se o imunossupressor Sandimmun Neoral favorece a atividade de *M. anisopliae* contra a formiga cortadeira *At. sexdens*, concluiu que operárias tratadas com tal mistura apresentaram uma mortalidade de 80%, em seis dias. Destacou que houve um aumento da atividade patogênica de *M. anisopliae* nas operárias (DORNELAS *et al.*, 2017).

Podemos destacar que as formigas, mesmo isoladas de seus ninhos podem praticar o processo de limpeza umas nas outras, reduzindo a eficácia dos produtos. As formigas cortadeiras, do gênero *Acromyrmex*, utilizam os antibióticos produzidos por ectossimbiontes (Actinobacteria) para suprimir o crescimento de *Escovopsis* spp., que são parasitas especializados em jardins de fungo. Bioensaios de mortalidade, conduzidos em operárias de sete colônias de laboratório de *Acromyrmex subterraneus subterraneus* (Emery, 1890), confirmaram que os actinomicetos protegem as operárias contra *M. anisopliae* (COUCEIRO *et al.*, 2016).

Estudo sobre o aumento da defesa imunológica de formigas cortadeiras do gênero *Acromyrmex*, com o fungo entomopatogênico *Metarhizium anisopliae*, demonstrou que a secreção de compostos antibióticos pode reduzir a viabilidade dos esporos, enquanto a autolimpeza e o 'grooming' podem reduzir o número e, possivelmente, a viabilidade dos esporos do fungo na cutícula dos insetos (HUGHES; EOLENBERG; BOOMSMA, 2002).

Figura 4.1. Mortalidade acumulada de *Atta sexdens* com fungos entomopatogênicos e ácido salicílico, aplicados via contato corporal, em laboratório. Londrina- PR. 2020.



Considerando-se a reconhecida importância de *B. bassiana* no controle de insetos e o seu desempenho como formicida aplicado em pó, bem como vislumbrando-se aplicações a campo, tornou-se necessária à sua diluição em outro produto à base de pó, garantindo a mesma eficiência do seu uso puro, e reduzindo os custos do mesmo. Desta forma, ensaios preliminares demonstraram que quando uma parte do fungo *B. bassiana* (25%) foi adicionada à três partes de talco inerte, a mortalidade acumulada nos primeiros 30 minutos e ao decorrer de todo período avaliado foi semelhante as demais diluições, assegurando a possibilidade de sua diluição, com a mesma eficácia da dose pura utilizada neste trabalho (Figura 4.2).

Stefanelli *et al.*, (2021) observaram, em laboratório, que os tratamentos contendo conídios de *B. bassiana* e *T. harzianum* foram eficientes no controle de *At. sexdens*, causando a morte de larvas, pupas e operárias. A morte nos respectivos estágios de desenvolvimento está provavelmente associada a efeitos tóxicos dos metabólitos secundários, sintetizados por esses fungos, após penetrarem no exoesqueleto das formigas.

Durante 60 dias, ninhos de *A. cephalotes* que foram submetidos ao tratamento com formulação contendo conídios de *B. bassiana* e *Trichoderma lignorum* (Harz, 1871) apresentaram atividade inseticida, podendo ser considerada uma alternativa para o controle desta praga agrícola (FERNÁNDEZ-DAZA *et al.*, 2019b). A patogenicidade de *T. lignorum* está associada ao seu papel antagonista sobre o fungo simbiote *L. gongylophorus* (VERMA *et al.*, 2007; ANDREADIS *et al.*, 2016). Em formulações em que existe a mistura de fungos entomopatogênicos, como no caso do estudo de Fernández-Daza *et al.* (2019 a/b) os esporos dessas duas espécies de fungos misturados permitem um efeito sinérgico no controle de formigas, pois atua tanto nos indivíduos como no fungo simbiote (LUGO *et al.*, 2013).

O fungo entomopatogênico *B. bassiana*, tem comprovada ação de controle para diferentes artrópodes pragas (ANDREADIS *et al.*, 2016; ULLAH; LIM, 2017) e seu mecanismo de ação se dá pela infecção, advinda da adesão dos conídios ao exoesqueleto do inseto, progredindo para a degradação da cutícula. No decorrer da colonização, invade o sistema imunológico, onde secreta toxinas e se alimenta da hemolinfa, até causar a morte do hospedeiro, (VALERO-JIMÉNEZ *et al.*, 2016).

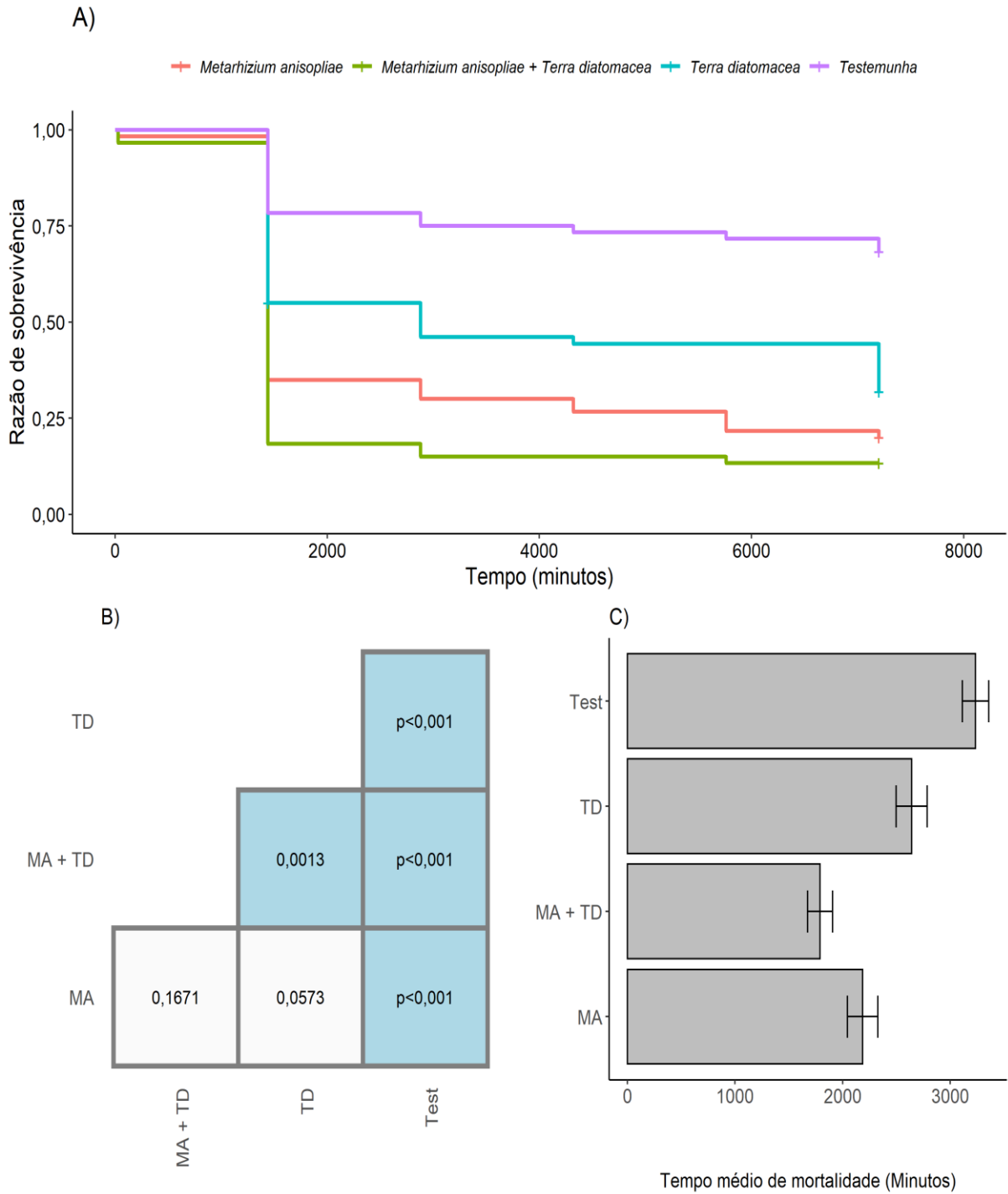
Sabe-se que a utilização de conídios de *B. bassiana* e *T. lignorum*, apresentam atividade inseticida para *Atta cephalotes*, podendo ser considerado como estratégia de controle desta espécie. Quando ambos são combinados na proporção 1:1 (1 grama + 1 grama), o tempo de mortalidade dos indivíduos é menor, potencializando a sua ação inseticida (FERNANDEZ-DAZA *et al.*, 2019a).

Figura 4.2. Mortalidade acumulada pela diluição do entomopatógeno *Beuveria bassiana* (marca comercial Boveril® WP PL63), em Quimidrol® (polvilhado) sob formigas cortadeiras em laboratório. Londrina- PR. 2020.



Terra de Diatomáceas, em laboratório, confirmou sua ação inseticida contra formigas cortadeiras. A sua mistura com *M. anisopliae* evidencia o efeito formicida no decorrer do tempo, avaliando-se a mortalidade acumulada de formigas cortadeiras via contato corporal, podendo ser utilizado como um veículo de fungos entomopatogênicos a campo (Figura 4.3).

Figura 4.3. Mortalidade acumulada de *Atta sexdens* com terra de diatomáceas isolada (Insecto®) ou em mistura com *Metarhizium anisopliae* (*Metarri® WP E9*) polvilhados em laboratório. Londrina- PR. 2020.



Em laboratório, TD foi testada em formigas de fogo, *Solenopsis* spp., causando 29% de mortalidade de operárias. Entretanto, em formigas previamente contaminadas por fungos, ocasionou mortalidade de 89%. Quando as formigas foram submetidas à *B. bassiana* sozinha, a mortalidade foi inferior à sua combinação com TD, até oito dias após a aplicação. Porém, após 10 dias de avaliação, *B. bassiana* sozinha mostrou-se melhor, não deixando claro que a ação abrasiva da TD favoreceu a ação dos conídios do entomopatógeno no exoesqueleto das formigas (BRINKMAN; GARDNER, 2001).

Em contrapartida, a combinação de *B. bassiana* e terra de diatomáceas proporcionou um melhor manejo, a longo prazo, de *Tribolium castaneum* (Herbest, 1797). Ambas as substâncias tiveram um efeito letal e um efeito supressor na produção de progênes da praga (RIZWAN *et al.*, 2019).

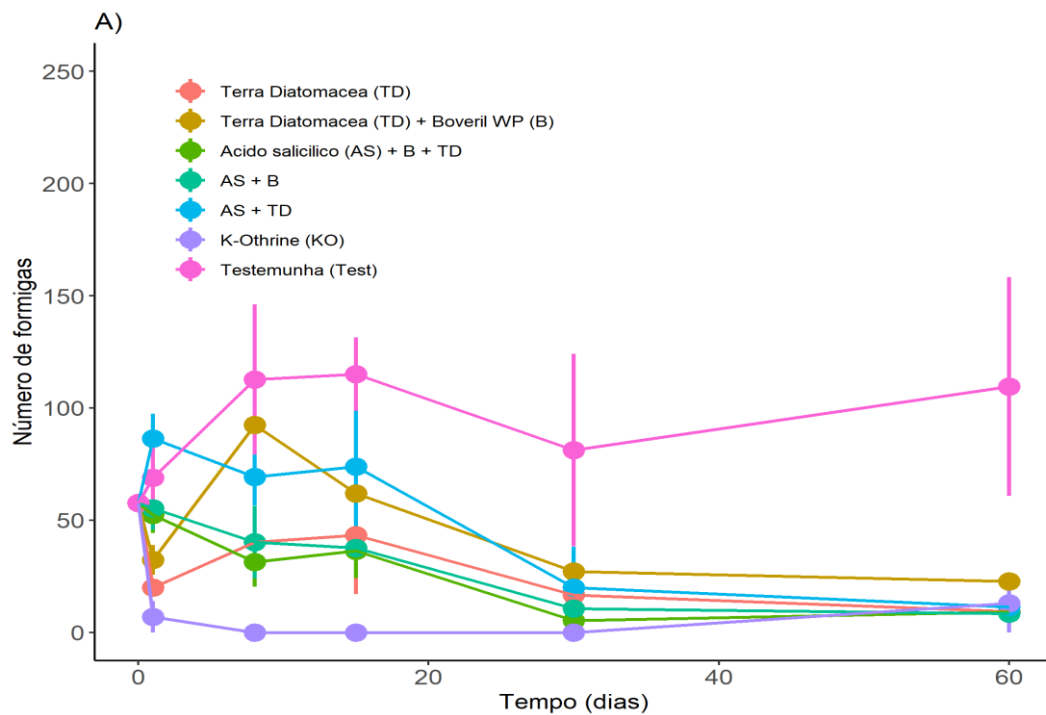
A utilização da TD, seja na forma polvilhada ou pulverizada, reduziu a alimentação de *Diabrotica speciosa*, durante as primeiras 48 horas. A ação inseticida de TD foi verificada após 72 horas, sendo que o número de injúrias foliares foi reduzido em, no mínimo, três vezes, com o uso da TD polvilhada. Possivelmente, a aplicação de TD, por meio de um pulverizador permitiu uma cobertura mais homogênea das plantas em relação ao seu polvilhamento com peneira plástica, o que pode ter reduzido a alimentação do inseto (ASSIS *et al.*, 2011).

Ferreira-Filho *et al.* (2015) testaram doses de TD em colônias de *At. sexdens*. A TD exerceu um baixo impacto em todas as doses (1, 10, 25 e 50 g/ m² de terra solta), com inatividade dos ninhos variando de 5,26 a 31,57% após sete dias da aplicação, e valores semelhantes aos do controle no final das avaliações (120 dias). Entretanto, como foi utilizada uma polvilhadeira mecânica, possivelmente a distribuição da TD tenha sido comprometida, subestimando os resultados que merecem comparações com outras polvilhadeiras com maior pressão.

A campo, utilizando-se como testemunha positiva a deltametrina, observou-se redução do fluxo de atividade de forrageamento um dia após a aplicação (DAP). Com comportamento semelhante, tal resultado foi evidenciado no tratamento Insecto® (terra de diatomáceas), usado de forma isolada e na sua mistura com Boveril® WP PL63. Observa-se que com 30 DAP o fluxo de forrageamento dos ninhos tratados com pós apresenta redução, permanecendo seu efeito por mais 30 dias (Figura 4.4).

Podemos destacar que o tempo para redução do forrageamento pode estar relacionado à formulação dos entomopatógenos. Quando a formulação Mycotrol, composta por conídios de *B. bassiana*, foi testada a campo, para *A. cephalotes*, observou-se redução do fluxo de forrageamento, sendo proporcional a natureza entomopatogênica do fungo e a infecção progressiva dos indivíduos do ninho (FERNÁNDEZ-DAZA *et al.*, 2019).

Figura 4.4. Fluxo de forrageamento da formiga saúva limão em ninhos polvilhados com produtos em pó, com polvilhadeira elétrica em olheiros de forrageamento e no murundum de formigueiros localizados em Londrina-PR. 2021.



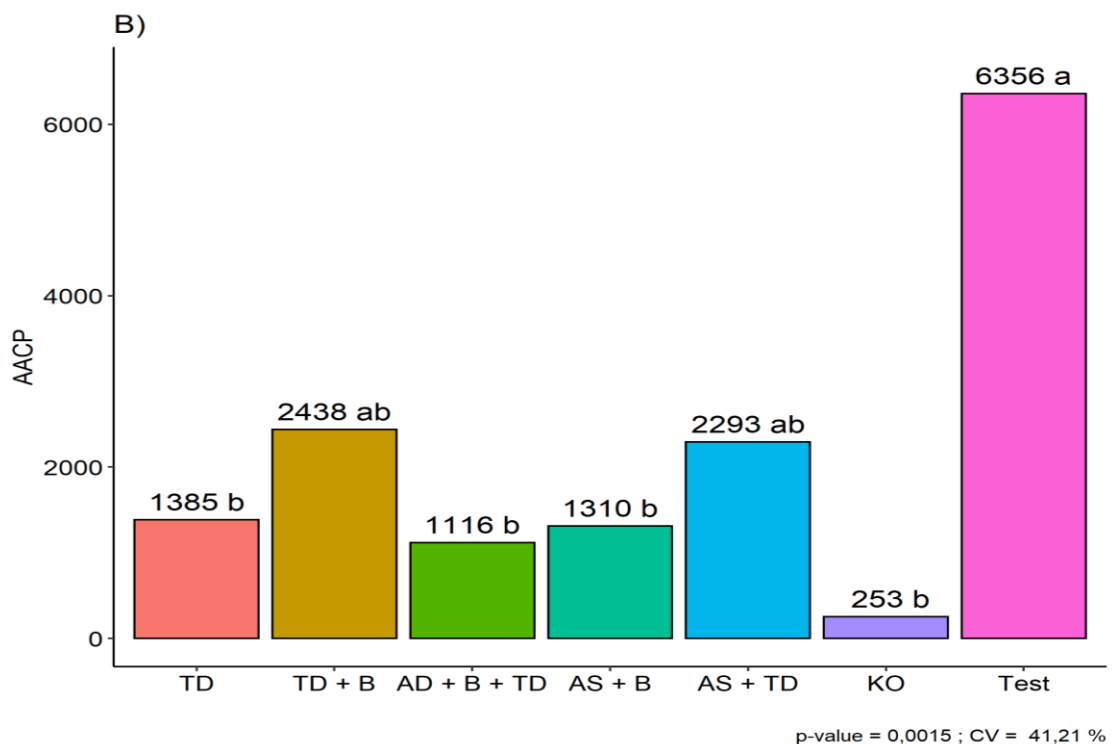
Não se observou erradicação de nenhum dos ninhos tratados, mesmo com deltametrina (86% de redução do forrageamento aos 60 DAP). Em todos os ninhos, constatou-se a presença de formigas carnívoras, a retirada de formigas cortadeiras mortas, a presença de cabeças próximas das entradas dos olheiros, o crescimento da vegetação espontânea adjacente e a presença de Phoridae, a presença de formigas mínimas nas trilhas e, a redução numérica da população de soldados. Houve redução do fluxo de forrageamento por 60 dias, em todos os tratamentos (Tabela 4.2.3), sendo que Insecto® (81%), AS+ Boveril® WP

PL63 (82%) e AS + Boveril® WP PL63 + Insecto® (88%) comportaram-se, estatisticamente, tão eficientes quanto deltametrina (Tabela 4.3.2 e Figura 4.5). Os resultados deste trabalho corroboram com estudos de Fernández-Daza et al. (2019b), que destacaram que, mesmo com a redução do fluxo de formigas forrageando (86 a 89%), não se constata a eliminação do formigueiro, sugerindo que não houve infecção da rainha.

Tabela 4.3.2- Percentual de redução de forrageamento da saúva limão, em ninhos tratados com diferentes substâncias em pó, 60 dias após a aplicação (DAP).

| Tratamento | 15 DAP | 30 DAP | 60 DAP |
|---------------------------------|--------|--------|--------|
| Insecto® | 46% | 84% | 81% |
| Insecto® + Boveril® WP PL63 | 2% | 61% | 68% |
| AS+ Insecto® + Boveril® WP PL63 | 45% | 94% | 88% |
| AS+ Boveril® WP PL63 | 23% | 84% | 82% |
| AS + Insecto® | 10% | 71% | 75% |
| Deltametrina | 100% | 100% | 86% |

Figura 4.5. Número de formigas ativas por tratamento, forrageando nos olheiros de avaliação ao final de 60 dias após receberem produtos em pó, com polvilhadeira elétrica, em olheiros de forrageamento e no murudum. Londrina-PR. 2021.



Em formulações combinadas de *B. bassiana* (Mycotrol) e *T. lignorum* (Mycobac), inoculando-se 10 mL/m² de ninho por duas, sete e 11 semanas, observou-se diferença na eficácia dos produtos em relação ao tamanho dos ninhos. A erradicação de ninhos ≥ 10 m² foi alcançada em média em quatro semanas (30 dias), enquanto a erradicação de outros de tamanho próximo foi alcançada em 8 semanas (60 dias), dependendo da localização de cada ninho (FERNÁNDEZ-DAZA *et al.*, 2019b).

Em contrapartida, mesmo não havendo a erradicação de ninhos, a redução do fluxo de forrageamento por dois meses, está ligada às estratégias adotadas pelas formigas para inibir a ação dos entomopatogénos, como a remoção de indivíduos infectados (ORTIZ-URQUIZA; KEYHANI, 2013). Além disso, destaca-se que em setembro e outubro de 2021 registrou-se um acumulado de 266,5 mm de

chuvas na região de Londrina (IDR, 2021/ Apêndice 1). Sabe-se que com o excesso de chuvas, reduz-se a contaminação dos ninhos, pois os esporos são removidos das câmaras por formigas operárias (MIGHELL *et al.*, 2016; FERNÁNDEZ-DAZA *et al.*, 2019).

Mighell *et al.* (2016) observaram uma grande variação na taxa de remoção de microfungos pelas formigas do jardim de fungos. Incluindo as, dos gêneros *Trichoderma*, *Escovopsis* e *Xylaria*, foram removidas em taxas mais elevadas do que outras. Esses resultados sugerem que as formigas operárias podem modular seu comportamento para uma determinada forma específica da espécie de fungo entomopatogênico, ao invés de ser um comportamento generalizado (MIGHELL *et al.*, 2016).

No presente trabalho, havia uma expectativa maior em relação ao tratamento AS, aplicado a campo, devido aos resultados preliminares em laboratório. Mesmo tendo sido evidenciado o efeito antagonista no laboratório, destaca-se que a mistura foi realizada em meio líquido. Porém, nos experimentos a campo, não se evidenciou este efeito antagônico, possivelmente porque na mistura via seca, os fatores adversos podem ser diminuídos, merecendo estudos futuros. Em experimentos com solos, da Espanha, sob diferentes incubações com AS, as condições revelaram que o ácido foi rapidamente degradado na maioria dos tratamentos (sem esterilização do solo), apresentando alta dissipação. Os tratamentos com esterilização do solo aumentaram a sua persistência. Os fatores abióticos como temperatura, umidade do solo e pH também afetaram a degradação e maiores quantidades de AS foram extraídas quando o solo foi incubado a 4°C, e quando o solo estava acidificado (pH = 3,5-5,3), comparado ao controle (20 °C, pH = 7,7) (GÁMIZ, FACENDA, CELIS, 2019).

4.4 CONCLUSÕES

Terra de diatomáceas (Insecto®), *Trichoderma harziaum* (Natucontrol®) e *Beauveria bassiana* (Boveril® WP PL63), quando aplicados via seca, têm efeito formicida, causando alta mortalidade de operárias de *Atta sexdens*.

Beauveria bassiana (Boveril® WP PL63) pode ser diluída em talco inerte, mantendo sua eficiência na mortalidade da saúva limão.

As misturas de AS+ Insecto® e Insecto® + Boveril® WP PL63 mantiveram-se superiores, ou seja, com menor redução do fluxo de forrageamento nos ninhos avaliados, no 8º e 15º DAP. Nos referidos tratamentos, observou-se redução do fluxo de forrageamento, por até 60 dias.

Ácido salicílico inibe a atividade do fungo *Beauveria* em meio de cultura (BDA), porém a campo, com aplicação via seca, este efeito não é tão evidenciado.

REFERÊNCIAS

ALBONETI, A. L. *et al.* Efeito de produtos fitossanitários utilizados na cultura da mandioca sobre aspectos biológicos de fungos entomopatogênicos. **Research, Society and Development**, v. 9, n. 9, 2020.

ALMEIDA, J. E. M. *et al.* Avaliação da compatibilidade de defensivos agrícolas na conservação de microrganismos entomopatogênicos no manejo de pragas do cafeeiro. **Arquivos do Instituto Biológico**, v. 70, n. 1, p. 79-84, 2003.

ANDREADIS, S. S. *et al.* Efficacy of *Beauveria bassiana* formulations against the fungus gnat *Lycoriella ingenua*. **Biological Control**, v. 103, p. 165-171, 2016.

ASSIS, F. A. *et al.* Efeitos da terra diatomácea sobre *Diabrotica speciosa* (Germar, 1824) (Coleoptera: Chrysomelidae) em batata inglesa. **Ciência e Agrotecnologia**, v. 35, p. 482-486, 2011.

BRINKMAN, M. A.; GARDNER, W. A. Use of diatomaceous earth and entomopathogen combinations against the red imported fire ant (Hymenoptera: Formicidae). **Florida Entomologist**, p. 740-740, 2001.

BRITTO, J.S. *et al.* Use of alternatives to PFOS, its salts and PFOSF for the control of leaf-cutting ants *Atta* and *Acromyrmex*. **International Journal of Research in Environmental Studies**, v. 3, n. 2, p. 11-96, 2016.

COUCEIRO, J. da C. *et al.* Effects of entomopathogenic fungi on the mortality and immune system of the leaf-cutting ant *Acromyrmex subterraneus subterraneus*. **Entomologia Experimentalis et Applicata**, v. 161, n. 2, p. 152-159, 2016.

DORNELAS, A. S. P. *et al.* Susceptibility of *Atta sexdens* worker ants treated with the immunosuppressant Sandimmun Neoral to *Metarhizium anisopliae*. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 52, p. 133-136, 2017.

Environmental Protection Agency, EPA (2016). **Guidance on exposure and effects testing for assessing risks to bees.** United States Environmental Protection Agency. Disponível em: www.epa.gov/sites/production/files/2016-07/documents/guidance-exposure-effects-testing-assessing-risks-bees.pdf. Acesso em: 01 nov. 2021.

FERNÁNDEZ-DAZA, F. F. *et al.* Bioformulado de *Beauveria bassiana* (ATCC MYA-4886) y *Trichoderma lignorum* (ATCC-8751) como biocontrolador de *Atta cephalotes*. **Entramado**, v. 15, n. 1, p. 288-296, 2019.a

FERNANDEZ-DAZA, F. F. *et al.* Spores of *Beauveria bassiana* and *Trichoderma lignorum* as a bioinsecticide for the control of *Atta cephalotes*. **Biological Research**, v. 52, 2019.b

FERREIRA-FILHO, P. J. *et al.* Does diatomaceous earth control leaf-cutter ants (Hymenoptera: Formicidae) in the Eucalyptus plantations? **Journal of Economic Entomology**, v. 108, n. 3, p. 1124-1128, 2015.

GAD, H. A. *et al.* Efficacy of low-dose combinations of diatomaceous earth, spinosad and *Trichoderma harzianum* for the control of *Callosobruchus maculatus* and *Callosobruchus chinensis* on stored cowpea seeds. **Journal of Stored Products Research**, v. 91, p. 101778, 2021.

GÁMIZ, B.; FACENDA, G.; CELIS, R. Modulating the persistence and bioactivity of allelochemicals in the rhizosphere: salicylic acid, a case of study. **Archives of Agronomy and Soil Science**, v. 65, n. 5, p. 581-595, 2019.

GIESEL, A.; BOFF, M. I. C.; BOFF, P. Seasonal Activity and Foraging Preferences of the Leaf-Cutting Ant *Atta sexdens piriventris* (Santschi) (Hymenoptera: Formicidae). **Neotropical Entomology**, v. 42, n. 6, p. 552–557, 2013.

HUGHES, W. O. H; EILENBERG, J.; BOOMSMA, J. J. Trade-offs in group living: transmission and disease resistance in leaf-cutting ants. **Proceedings of the Royal**

Society of London. Series B: Biological Sciences, v. 269, n. 1502, p. 1811-1819, 2002.

JACCOUD, D. J.; HUGHES, W. O. H.; JACKSON, C. W. The epizootiology of a *Metarhizium* infection in mini-nests of the leafcutting ant *Atta sexdens rubropilosa*. **Entomologia Experimentalis et Applicata**, v. 93, n. 1, p. 51-61, 1999.

JORDAN, Carolina et al. Entomopathogenic fungi as the microbial frontline against the alien Eucalyptus pest *Gonipterus platensis* in Brazil. **Scientific Reports**, v. 11, n. 1, p. 1-13, 2021.

KOST, C.; TREMMEL, M.; WIRTH, R. Do leaf cutting ants cut undetected? Testing the effect of ant-induced plant defences on foraging decisions in *Atta colombica*. **PLoS One**, v. 6, n. 7, p. e22340, 2011.

LUGO, Mónica Alejandra et al. Hongos asociados con dos poblaciones de *Acromyrmex lobicornis* (Formicidae) de San Luis, Argentina. 2013.

MAPA. Ministério da Agricultura e Pecuária. 2019. Disponível em: <<https://www.in.gov.br/web/dou/-/ato-n-58-de-27-de-agosto-de-2019-213474289>>. Acessado em 20 out.2021.

MAPA. Ministério da Agricultura e Pecuária. 2020. Disponível em: <<https://www.gov.br/agricultura/pt-br/assuntos/noticias/Mapa-registra-recorde-de-95-defensivos-biologicos-em-2020>>. Acessado em 20 out.2021.

MAPA. Ministério da Agricultura e Pecuária. 2020. Disponível em: <<https://www.in.gov.br/en/web/dou/-/instrucao-normativa-n-17-de-15-de-abril-de-2020-253343569>>. Acessado em 20 out.2021.

MARINHO, C. G. S.; DELLA LUCIA, T. M. C.; PICANÇO, M. C. Fatores que dificultam o controle das formigas cortadeiras. **Bahia Agrícola**, v. 7, n. 2, p. 18-21, 2006.

MIGHELL, K.; VAN BAEL, S. A. Selective elimination of microfungi in leaf-cutting ant gardens. **Fungal Ecology**, v. 24, p. 15-20, 2016.

NASCIMENTO, J. M. *et al.* Inibição do crescimento micelial de *Cercospora calendulae* Sacc. por extratos de plantas medicinais. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v. 15, n.4, p.751-756, 2013.

ORTIZ-URQUIZA, A.; KEYHANI, N. O. Action on the surface: entomopathogenic fungi versus the insect cuticle. **Insects**, v. 4, n. 3, p. 357-374, 2013.

RAMOS, V. M. *et al.* Atratividade de iscas de polpa cítrica pulverizadas com extrato de capim jaraguá (*Hyparrhenia rufa* Nees) para a formiga cortadeira de gramíneas *Atta capiguara*. **Pasturas Tropicais**, v. 28, n. 3, p. 1-10. 2006.

RIBEIRO, M. M. R. *et al.* Diversity of fungi associated with *Atta bisphaerica* (Hymenoptera: Formicidae): the activity of *Aspergillus ochraceus* and *Beauveria bassiana*. **Psyche**, v. 2012, 2012.

RIDLEY, P.; HOWSE, P. E.; JACKSON, C. W. Control of the behaviour of leaf-cutting ants by their 'symbiotic' fungus. **Experientia**, v. 52, n. 6, p. 631-635, 1996.

RIZWAN, M. *et al.* Effect of the entomopathogenic fungus, *Beauveria bassiana*, combined with diatomaceous earth on the red flour beetle, *Tribolium castaneum* (Herbst) (Tenebrionidae: Coleoptera). **Egyptian Journal of Biological Pest Control**, v. 29, n. 1, p. 1-6, 2019.

ROSSI-ZALAF, L. S. *et al.* Interação de microrganismos com outros agentes de controle de pragas e doenças, In: Alves, S. B.; Lopes, R. B. (Ed.). **Controle microbiano de pragas na América Latina: avanços e desafios**. Piracicaba: FEALQ, p. 279-302, 2008.

SIMAS, V. R.; COSTA, E. C.; SIMAS, C. A. Principais espécies vegetais herbáceas em locais forrageados e não forrageados por *Atta vollenweideri* Forel, 1893 (Hymenoptera: Formicidae). **Revista da FZVA**, v. 10, n. 1, 2003.

SOUZA, E. S.; BALDIN, E. L. L. Efeito de pós de origem vegetal e de terra diatomácea sobre aspectos da biologia de *Zabrotes subfasciatus* (BOH., 1833) em feijão armazenado. **Arquivos do Instituto Biológico**, v. 76, p. 401-408, 2021.

STEFANELLI, L. E. P. *et al.* Effects of entomopathogenic fungi on individuals as well as groups of workers and immatures of *Atta sexdens rubropilosa* leaf-cutting ants. **Insects**, v. 12, n. 1, p. 10, 2021.

ULLAH, M. S.; LIM, U. T. Laboratory evaluation of the effect of *Beauveria bassiana* on the predatory mite *Phytoseiulus persimilis* (Acari: Phytoseiidae). **Journal of Invertebrate Pathology**, v. 148, p. 102-109, 2017.

VALERO-JIMÉNEZ, C. A. *et al.* Genes involved in virulence of the entomopathogenic fungus *Beauveria bassiana*. **Journal of Invertebrate Pathology**, v. 133, p. 41-49, 2016.

VERMA, M. *et al.* Antagonistic fungi, *Trichoderma* spp.: panoply of biological control. **Biochemical Engineering Journal**, v. 37, n. 1, p. 1-20, 2007.a

WALKER, T. N.; HUGHES, W. O. H. Adaptive social immunity in leaf-cutting ants. **Biology Letters**, v. 5, n. 4, p. 446-448, 2009.

5 ARTIGO C: FORMIGAS PREDADORAS ASSOCIADAS A NINHOS DE SAÚVA LIMÃO EM LONDRINA-PR

RESUMO

Poucas espécies de formigas se tornam pragas nos agroecossistemas, sendo que a maioria delas tem relevante papel ecológico, como o caso das formigas predadoras. Sabe-se que ninhos fragilizados de formigas cortadeiras, seja por causas naturais ou por alguma estratégia de controle, pode favorecer inimigos naturais ou mesmo formigas predadoras. Neste sentido, objetivou-se avaliar a fauna de formigas predadoras associadas aos ninhos de saúva limão, tratados com produtos à base de pó, referentes ao artigo 1 e artigo 2 desta tese. O experimento foi realizado no campus da Universidade Estadual de Londrina-PR, sendo as formigas coletadas com auxílio de pinças e acondicionadas em tubos Falcon (100mL) e posteriormente transferidas para álcool 70%. Foram coletados 7 gêneros de formigas carnívoras. *Camponotus*, *Odontomachus*, *Pachycondyla*, *Brachymyrmex*, *Ectatomma*, *Neoponera*, *Pheidole*, com destaque para as espécies *C. ager*, *C. renggeri*, *C. melanoticus*, *N. laevigata*, *N. verenae*, *P. oxyops* e *P. triconstricta*, que não possuem registro para a Região de Londrina-Paraná.

Palavras-Chave: Controle biológico. Inimigos naturais. Ninhos fragilizados.

ABSTRACT

Few ant species become pests in agroecosystems, and most of them have a relevant ecological role, as in the case of predatory ants. It is known that fragile leaf-cutting ant nests, either by natural causes or by some control strategy, can favor natural enemies or even predatory ants. In this sense, the objective was to evaluate the fauna of predatory ants associated with *Atta sexdens* nests, treated with powder-based products, referring to article 1 and article 2 of this thesis. The experiment was carried out on the campus of the Universidade Estadual de Londrina-PR, the ants were collected with tweezers and placed in Falcon tubes (100mL) and later transferred to 70% alcohol.. Seven genera of carnivorous ants were collected. *Camponotus*, *Odontomachus*, *Pachycondyla*, *Brachymyrmex*, *Ectatomma*, *Neoponera*, *Pheidole*, with emphasis on the species *C. ager*, *C. renggeri*, *C. melanoticus*, *N. laevigata*, *N. verenae*, *P. oxyops* e *P. triconstricta*,, which do not have registration for the Londrina-Paraná.

Keywords: Biological control. Natural enemies. Fragile nests.

5.1 INTRODUÇÃO

Diversos organismos podem estar associados a ninhos de formigas cortadeiras, com poucos estudos relativos a estas interações (FOWLER, 1980). Cabe destacar o fungo simbiote *Leucoagaricus gongylophorus*, além de outros microrganismos associados ao corpo das formigas e ao jardim do fungo, como os fungos dos gêneros *Escovopsis* e *Escovopsioides* (CURIE *et al.*, 1999), outros fungos filamentosos, leveduras, bactérias (MARFETÁN; ROMERO; FOLGARAIT, 2015.; PAGNOCCA; MASIULIONIS; RODRIGUES, 2012), ácaros (SILVA *et al.*, 2020b), aracnídeos (SILVA *et al.*, 2016), bem como outras espécies de formigas, comumente com ação predadora.

Destaca-se que a maioria dos predadores evita as formigas pelo seu hábito agressivo (SILVA *et al.*, 2016). Algumas espécies de formigas somente adentram aos ninhos de saúvas ou mesmo nas suas trilhas, quando ele está sobre algum colapso natural ou se fragiliza, por alguma forma de controle aplicado.

O controle biológico é o componente fundamental do equilíbrio da natureza, cuja essência está baseada no mecanismo de densidade recíproca, isto é, com o aumento da densidade populacional da presa, ou hospedeiro, os predadores, ou os parasitos, tendo maior quantidade de alimento disponível, também aumentam em número. Neste contexto, em ninhos tratados de formigas cortadeiras existem fatores que estão relacionados a potenciais limitadores do reestabelecimento das colônias, destacando a presença, ao longo das trilhas de forrageamento e de ninhos enfraquecidos, de formigas carnívoras. Este comportamento predatório para a região de Londrina-PR é pouco conhecido.

A ação de formigas predadoras, associada à formigas que causam danos, mantendo suas populações em baixa densidade populacional é algo que pode ser considerado positivo para o controle biológico natural, uma vez que a atividade das formigas predadoras contribui para reduzir a ação da praga (CONCEIÇÃO *et al.*, 2018).

Ectatomma tuberculatum (Olivier 1792) (Formicidae: Ectatomma), comum nos cacauais do Centro de Pesquisas do Cacau (CEPEC), é conhecida por caçar as operárias de *A. cephalotes* e outras formigas (DELABIE,

1999; DELABIE; MARIANO, 2001), podendo considerá-las relevantes no controle biológico de formigas cortadeiras.

É notório que a isca, comumente usada para as formigas cortadeiras (*Atta* spp. e *Acromyrmex* spp.), atrai diversas outras espécies de formigas. Estudo realizado para verificar o impacto de iscas formicidas granulados sobre a mirmecofauna não-alvo em eucaliptais, demonstrou que a distribuição das iscas no terreno, na forma do controle sistemático, afetou o número de espécies de formigas por amostra, mais do que sua distribuição sobre os saúveiros (RAMOS *et al.*, 2003).

Neste contexto o objetivo deste estudo foi identificar algumas espécies de formigas carnívoras associadas a ninhos de saúva limão, impactados por diferentes tratamentos a base de pós, em Londrina-PR.

5.2 MATERIAL E METODOS

As formigas foram coletadas em ninhos de saúva limão (*Atta sexdens*), impactados por tratamentos com produtos à base de pó, *Beauveria bassiana*, terra de diatomáceas e ácido salicílico, por ocasião das avaliações e observações do artigo 2 desta tese, otimizando-se assim o esforço amostral.

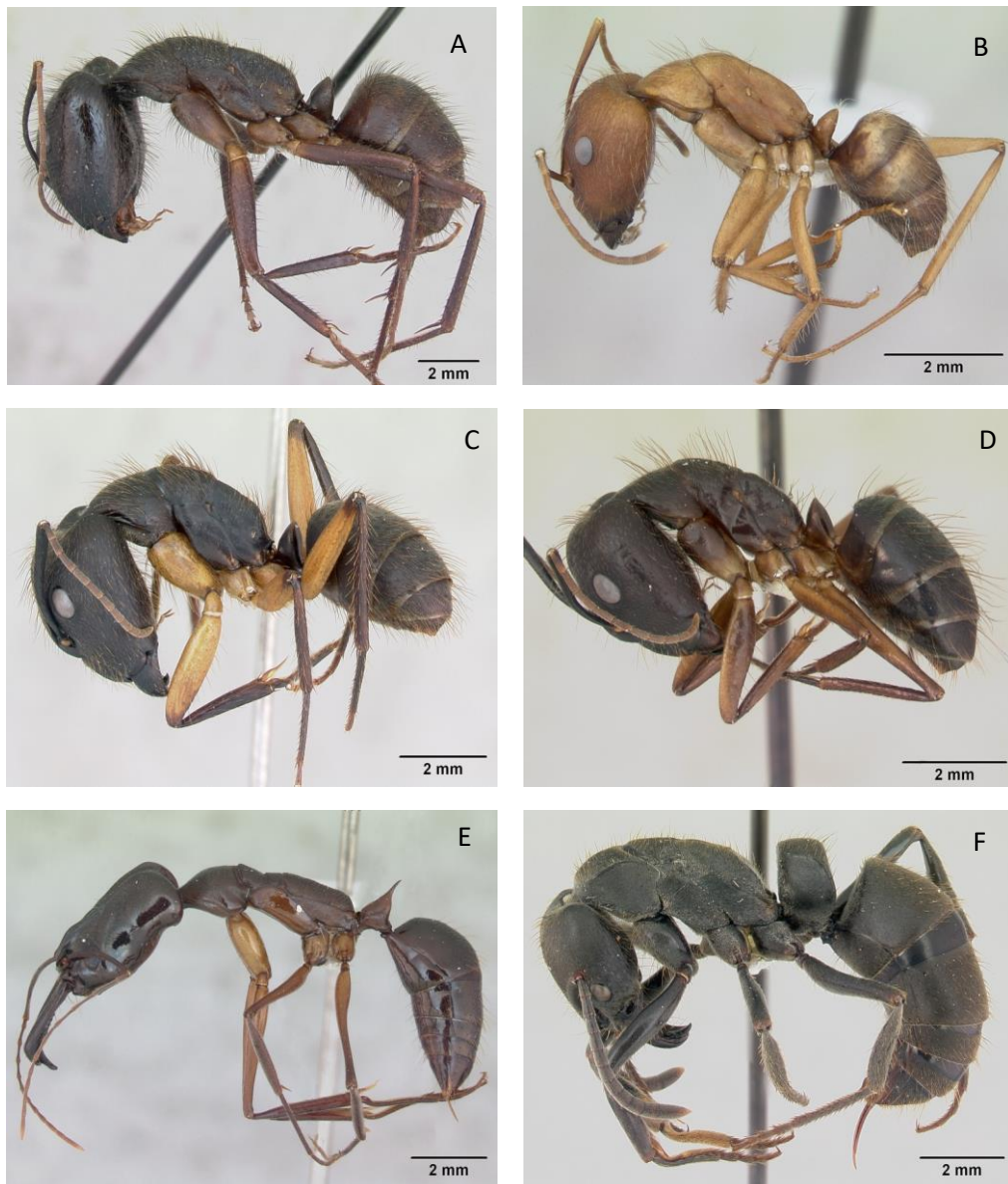
As formigas localizadas próximo as trilhas ou a entrada dos olheiros dos ninhos tratados, foram coletadas após as 19 horas, com o auxílio de uma pinça, e luvas, armazenadas em tubos falcon (100 mL). E depois transferidas para frascos entomológicos com álcool 70%, encaminhadas para a Universidade Federal do Paraná, no Departamento de Zoologia Campus Curitiba, PR, foram identificadas com o auxílio de microscópio estereoscópico, com base em Forel (1899, 1912)

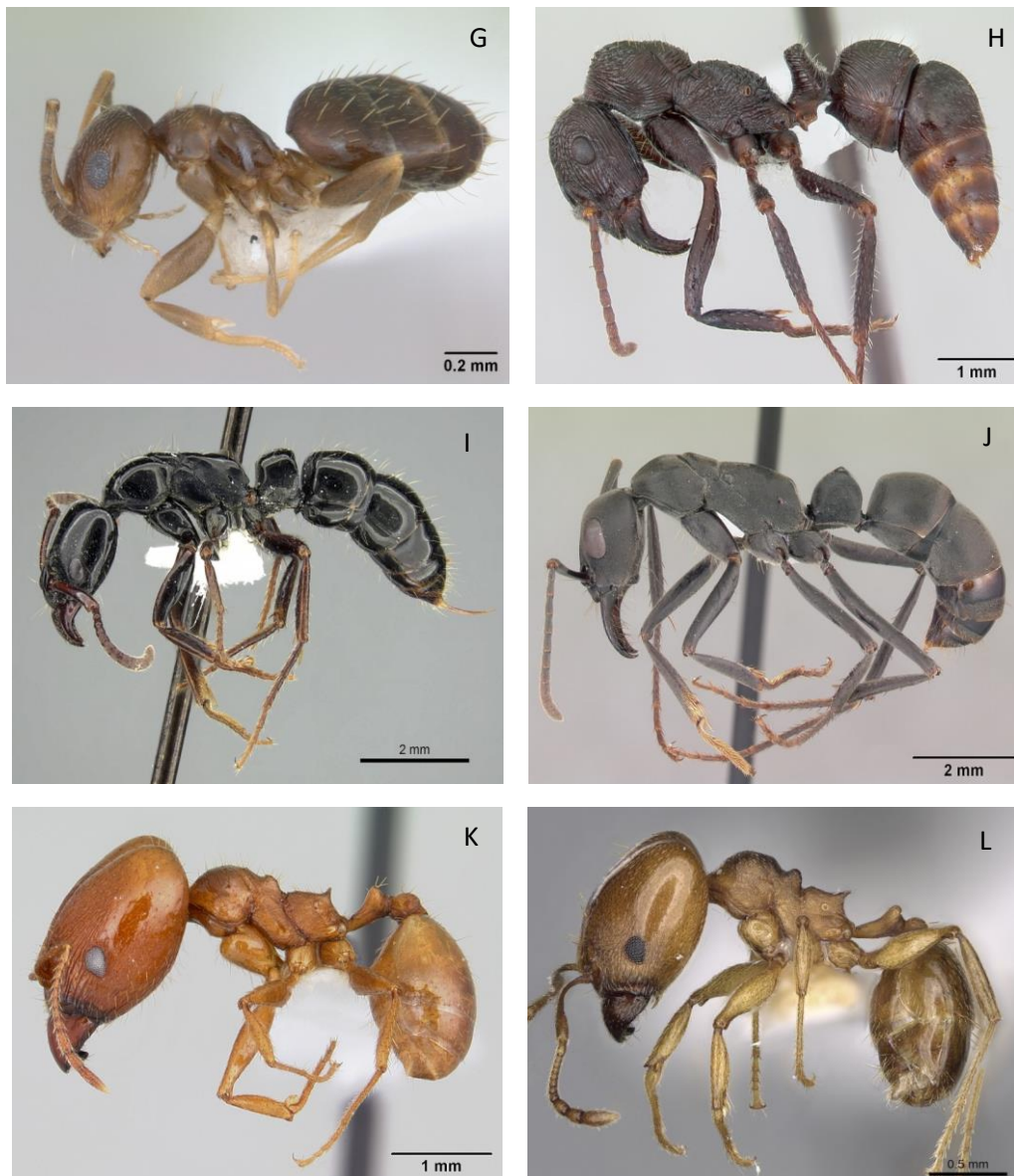
5.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Foram registradas as seguintes espécies: *Camponotus ager* (Smith 1858), *C. cingulatus* (Mayr 1862), *C. renggeri* (Emery 1894), *C. melanoticus* (Emery 1894), *Odontomachus chelifer* (Latreille, 1802), *Pachycondyla striata* (Smith 1858), *Brachymyrmex* sp. (Mayr 1868), *Ectatomma edentatum* (Roger 1863), *Neoponera*

laevigata (Traniello 1981), *N. verenae* (Forel 1922), *Pheidole oxyops* (Forel 1908), *P. triconstricta* (Forel 1886) (Hymenoptera: Formicidae) (Figura 5.1).

Figura 5.1. Espécimes de formigas carnívoras, com ocorrência em ninhos de saúva limão, submetidos a tratamentos com pós, em Londrina, PR, em 2021. (A) *Camponotus ager*, (B) *C. cingulatus*, (C) *C. renggeri*, (D) *C. melanoticus*, (E) *Odontomachus chelifer*, (F) *Pachycondyla striata*, (G) *Brachymyrmex* sp, (H) *Ectatomma edentatum*, (I) *Neoponera laevigata*, (J) *N. verenae*, (K) *Pheidole oxyops*, (L) *P. triconstricta*.





FONTE:antwiki.org

As espécies: *Camponotus ager*, *C. renggeri*, *C. melanoticus*, *Neoponera laevigata*, *N. verenae*, *Pheidole oxyops* e *P. triconstricta* não possuem registro para a região de Londrina-PR.

Formigas do gênero *Camponotus* são consideradas oportunistas e generalistas, em relação aos seus hábitos de nidificação e recursos alimentares (BLÜTHGEN; FELDHAAR, 2010). O padrão de atividade varia bastante entre espécies, havendo espécies exclusivamente diurnas ou exclusivamente noturnas, além daquelas que apresentam atividade em ambos os turnos (YAMAMOTO; DEL-CLARO, 2008). São formigas que podem forragear áreas extensas, variando com a

temperatura. Operárias de *C. rufipes* podem explorar desde áreas pequenas de 1,2m² (estação fria/seca) até áreas grandes de 12,6m² (estação quente/chuvosa). Operárias de *C. renggeri* também utilizaram diferentes áreas para forragear, sendo a menor área 0,8 m² (estação fria/seca) e a maior área 8,9m² (estação quente/chuvosa) (RONQUE, 2018). A espécie *C. cingulatus* (Mayr, 1862), dotada de alta velocidade e agressividade, alimenta-se de nectários extraflorais, além de preda pequenos artrópodes (NASCIMENTO; DEL CLARO, 2005).

Odontomachus chelifer é carnívora, sendo uma das formigas predadoras mais frequentes nas regiões do México e da Argentina, de mandíbulas hiperdesenvolvidas, tornando-a um predador agressivo (ÁVILA NÚÑEZ, 2011). As escassas informações sobre sua biologia concentram-se em seus hábitos solitários de caça às presas na serapilheira (FOWLER, 1980). Recentemente, Raimundo, Freitas e Oliveira (2009) relataram que *O. chelifer* apresentou dieta oportunista, incluindo uma ampla diversidade de itens alimentares, em uma reserva florestal no Brasil, exibindo atividade noturna de forrageamento, com poucas operárias, sendo observadas fora de seus ninhos durante o dia (RAIMUNDO; FREITAS; OLIVEIRA, 2009).

Pachycondyla striata é uma espécie comum nas regiões Sudeste e Sul do Brasil e endêmica da América do Sul. Também é encontrada na Argentina, Uruguai, Paraguai e Bolívia (MACKAY; MACKAY, 2010). É relativamente grande, predadora, exibe mandíbulas e aparato do ferrão bem desenvolvidos. Apresenta hábito diurno, ninhos simples e pouco elaborados, com câmaras e túneis horizontais, distribuídos próximos a superfície do solo (SILVA-MELO; GIANNOTTI, 2012).

Silvestre e Silva (2001) agruparam formigas do gênero *Ectatomma* em guildas predadoras, sendo caracterizadas, por espécies predadoras, necrófagas, de colônias pequenas, sendo ágeis, agressivas e patrulheiras solitárias. *E. opaciventri* tem um padrão de forrageamento exclusivo de cupins e formigas cortadeiras, não se alimentando de substâncias açucaradas como outras formigas do mesmo gênero (PIE, 2004).

Pheidole é um gênero hiperdiverso e cosmopolita, com cerca de 900 espécies conhecidas. No Brasil, este gênero está amplamente distribuído em todas as regiões. *Pheidole oxyops* é uma espécie que ocorre em GO, MG, SP e MT e

pertence ao grupo dos diligens (86 espécies conhecidas), composto exclusivamente por espécies predatórias ou necrófagas (WILSON, 2003).

A entrada do ninho de *P. oxyops* é notável por sua ampla abertura, atuando como uma armadilha (*pitfall*) para capturar presas vivas, complementando a dieta com insetos mortos ou feridos, o que aumenta a importância dessa espécie como predadora (FORTI *et al.*, 2007).

Ponerinae é um dos grupos mais diversos da subfamília Neoponera e o segundo gênero mais comum na Região Neotropical (depois de *Leptogenys*) com 57 espécies (SCHMIDT; SHATTUCK, 2014). No Brasil 35 espécies de *Neoponera* foram registradas (FEITOSA, 2015), comumente em florestas úmidas, ao nível do solo ou em árvores, mas também em florestas secas com chuvas sazonais (LATTKE, 2015). Se alimentam de pequenos artrópodes, embora também possam atuar como necrófagos (WILD, 2005). Muitas espécies desse gênero são especializadas na predação de cupins (LEAL; OLIVEIRA, 1995), embora existam também espécies mais generalistas em relação ao tipo de presa.

As formigas do gênero *Neoponera* geralmente são mais frequentes em áreas conservadas, do que em terras antropizadas (CAMPIOLO *et al.*, 2015). *Neoponera verenae* (Forel) pode ser encontrada do Sul do México ao Paraguai, ocupando uma variedade de habitats, desde florestas tropicais a campos e pastagens (WILD, 2005). No entanto, quase todas as informações da literatura aparecem sob *N. obscuricornis* (Emery) (WILD, 2005), o que há algum tempo tem gerado algumas incertezas sobre as características dessas espécies, principalmente na América Central e do Sul (MOLEIRO; SILVA MELO; GIANNOTTI; 2021). Esse fato sugere fortemente que um conjunto de informações sobre a distribuição desse grupo pode auxiliar no monitoramento da qualidade do ambiente (SILVA *et al.*, 2020a).

5.4 CONCLUSÃO

O registro de espécies de formigas predadoras, associadas a ninhos de saúvas em Londrina-PR, abre perspectivas de trabalhos relativos à sua

conservação e aumento nos ambientes impactados pela praga, no sentido de reduzir naturalmente a população crescente da saúva limão em nossa região.

REFERÊNCIAS

- ÁVILA NÚÑEZ, J. L. *et al.* Behaviour of *Odontomachus chelifer* (Latreille) (Formicidae: Ponerinae) feeding on sugary liquids. **Journal of Insect Behavior**, v. 24, n. 3, p. 220-229, 2011.
- BLÜTHGEN, N.; FELDHAAR, H. Food and shelter: how resources influence ant ecology. **Ant Ecology**, p. 115-136, 2010.
- CONCEIÇÃO, E. S. *et al.* Avaliação do controle biológico por formigas (hymenoptera: formicidae) numa cronossequência de cacauais do sudeste da Bahia. **Agrotropica**, v. 30, n.3, p. 215 - 226. 2018.
- CAMPIOLO, S. *et al.* (2015). Conservação de Poneromorfas no Brasil. In: Delabie, J. H. C.; Feitosa, R.; Serrão, J. E.; Mariano, C. S. F.; Majer, J. D. (org.). **As formigas Poneromorfas do Brasil**. (pp. 447-462). Editus, Ilhéus–BA, Brasil.
- CURRIE, C. R.; MUELLER, U. G.; MALLOCH, D. The agricultural pathology of ant fungus gardens. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 96, n. 14, p. 7998-8002, 1999.
- DELABIE, J. H. C. Aspectos da mirmecofagia na Região Neotropical. **Naturalia**, v. 24, p. 225-231, 1999.
- DELABIE, J. H. C.; MARIANO, C. S. F. Papel das formigas (Insecta: Hymenoptera: Formicidae) no controle biológico natural das pragas do cacauero na Bahia: síntese e limitações. In: XIII International Cocoa Research Conference. 2001.
- FEITOSA, R. (2015). Lista das formigas poneromorfas do Brasil. In: Delabie, J.H.C., Feitosa, R., Serrão, J.E., Mariano, C.S.F. & Majer, J. **As Formigas Poneromorfas do Brasil** (pp. 95-101). Editus, Ilhéus - BA, Brasil.

FORTI, L. C. *et al.* The nest architecture of the ant, *Pheidole oxyops* Forel, 1908 (Hymenoptera: Formicidae). **Insect science**, v. 14, n. 5, p. 437-442, 2007.

FOWLER, H. G. Populations, prey capture and sharing, and foraging of the Paraguayan ponerine *Odontomachus chelifer* Latreille. **Journal of Natural History**, v. 14, n. 1, p. 79-84, 1980.

LATTKE, J. E. (2015). Estado da arte sobre a taxonomia e filogenia de Ponerinae do Brasil. In: Delabie, J.H.C., Feitosa, R., Serrão, J.E., Mariano, C.S.F. & Majer, J. **As Formigas Poneromorfas do Brasil** (pp. 55-73). Editus, Ilhéus - BA, Brasil.

LEAL, I. R.; OLIVEIRA, P. S. Behavioral ecology of the neotropical termite-hunting ant *Pachycondyla* (= *Termitopone*) *marginata*: colony founding, group-raiding and migratory patterns. **Behavioral ecology and sociobiology**, v. 37, n. 6, p. 373-383, 1995.

MACKAY, W. P.; MACKAY, E. E. **The systematic and biology of the New World ants of the genus *Pachycondyla* (Hymenoptera:Formicidae)**. Edwin Mellen Press. Lewiston, New York. 2010, p.642.

MARFETÁN, J. A.; ROMERO, A. I.; FOLGARAIT, P. J. Pathogenic interaction between *Escovopsis weberi* and *Leucoagaricus* sp.: mechanisms involved and virulence levels. **Fungal Ecology**, v. 17, p. 52-61, 2015.

MOLEIRO, H. R.; DA SILVA-MELO, A.; GIANNOTTI, E. Nest architecture and Animals associated with *Neoponera verenae* (Forel)(Formicidae, Ponerinae). **Sociobiology**, v. 68, n. 3, p. e6246-e6246, 2021.

NASCIMENTO, E. A.; DEL-CLARO, K. Ant visitation to extrafloral nectaries decreases herbivory and increases fruit set in *Chamaecrista debilis* (Fabaceae) in a Neotropical savanna. **Flora, Regensburg**, v.205, p.754-756, 2010.

PAGNOCCA, F. C.; MASIULIONIS, V. E.; RODRIGUES, A. Specialized fungal parasites and opportunistic fungi in gardens of attine ants. **Psyche**, v. 2012, 2012.

PIE, M. R. Foraging ecology and behaviour of the ponerine ant *Ectatomma opaciventre* Roger in a Brazilian savannah. **Journal of Natural History**, v. 38, n. 6, p. 717-729, 2004.

RAIMUNDO, R. L. G.; FREITAS, A. V.L; OLIVEIRA, P. S. Seasonal patterns in activity rhythm and foraging ecology in the neotropical forest-dwelling ant, *Odontomachus chelifer* (Formicidae: Ponerinae). **Annals of the Entomological Society of America**, v. 102, n. 6, p. 1151-1157, 2009.

RAMOS, L. de S. *et al.* Impacto de iscas formicidas granuladas sobre a mirmecofauna não-alvo em eucaliptais segundo duas formas de aplicação. **Neotropical Entomology**, v. 32, p. 231-237, 2003.

RONQUE, M. U.V.; FOURCASSIÉ, V.; OLIVEIRA, P. S. Ecology and field biology of two dominant Camponotus ants (Hymenoptera: Formicidae) in the Brazilian savannah. **Journal of Natural History**, v. 52, n. 3-4, p. 237-252, 2018.

SCHMIDT, C. A.; SHATTUCK, S. O. The higher classification of the ant subfamily Ponerinae (Hymenoptera: Formicidae), with a review of ponerine ecology and behavior. **Zootaxa**, v. 3817, n. 1, p. 1-242, 2014.

SILVA, A. F. *et al.* *Rhizoglyphus echinopus* (Acari: Acaridae) associated with *Atta sexdens* (Insecta: Formicidae). **Arquivos do Instituto Biológico**, v. 87, 2020b.

SILVA, P. S. *et al.* Diversity of the Ant Genus *Neoponera* Emery, 1901 (Formicidae: Ponerinae) in the North of the Brazilian Atlantic Forest, with New Records of Occurrence. **Sociobiology**, v. 67, n. 3, p. 343-357, 2020a.

SILVA, A. F. da.; DE CARVALHO, Y. C.; BRUGIOLO, S. S. S. Parece, mas não é: uma aranha disfarçada de formiga no Jardim Botânico da Universidade Federal de Juiz de Fora. **Revista Brasileira de Zociências**, v. 17, n. 2, 2016.

SILVA-MELO, A. da.; GIANNOTTI, E. Division of Labor in *Pachycondyla striata* Fr. Smith, 1858 (Hymenoptera: Formicidae: Ponerinae). **Psyche**, v. 2012, 2012.

SILVESTRE, R.; DA SILVA, R. R. Guildas de formigas da Estação Ecológica Jataí, Luiz Antônio-SP-sugestões para aplicação do modelo de guildas como bio-indicadores ambientais. **Biotemas**, v. 14, n. 1, p. 37-69, 2001.

WILD, ALEXANDER L. Taxonomic revision of the *Pachycondyla apicalis* species complex (Hymenoptera: Formicidae). **Zootaxa**, v. 834, n. 1, p. 1-25, 2005.

WILSON, Edward O. **Pheidole in the New World: a dominant, hyperdiverse ant genus**. Harvard University Press, 2003.

YAMAMOTO, M.; DEL-CLARO, K. Natural history and foraging behavior of the carpenter ant *Camponotus sericeiventris* Guérin, 1838 (Formicinae, Camponotini) in the Brazilian tropical savanna. **Acta Ethologica**, v. 11, n. 2, p. 55-65, 2008

6 CONSIDERAÇÕES FINAIS

No desafio do controle de formigas cortadeiras é relevante destacar a característica da sociedade organizada, que protege a rainha no solo, em galerias profundas, além de aspectos da limpeza corporal e riqueza dos feromônios, que agregam valores à defesa delas e busca por recursos.

Historicamente, muitos formicidas já foram produzidos e comercializados para o controle das saúvas, mas as mesmas conseguiram se defender das situações adversas e retomaram a atividade de forrageamento em novas áreas ou em áreas infestadas.

Sabe-se que qualquer tentativa de controle com uma estratégia única, seja química ou biológica, raramente terá sucesso. Neste caso, o manejo das formigas cortadeiras, agregando diversas estratégias é o caminho a ser seguido, objetivando-se a manutenção da diversidade de inimigos naturais, visando a retomada do equilíbrio nas áreas infestadas.

O grupo de pesquisas do Departamento de Agronomia da UEL já registrou as espécies de plantas mais forrageadas no referido Campus, bem como de espécies de moscas Phoridae, parasitas de formigas cortadeiras, além das formigas predadoras, no presente trabalho.

A estratégia do controle, via seca (com pós), de certa forma foi abandonada, especialmente pela justificativa do aumento da mão de obra e riscos de intoxicações ao aplicador. Neste caso, máquinas e equipamentos mais adequados devem ser buscados, como o caso da polvilhadeira elétrica ou mesmo produtos mais seguros ao homem, como o AS e os fungos entomopatogênicos, levando-se em consideração os EPIs exigidos pela legislação.

Na presente tese de doutorado, tanto a descoberta do efeito formicida do ácido salicílico, quanto a viabilização do uso de *Beauveria bassiana*, via polvilhamento com terra de diatomáceas, abre perspectivas de soluções mais ecológicas, não somente para saúvas, mas também para as quenquéns, bem como de outras formigas, como é o caso das formigas lava-pés, considerada praga relevante em outros países, merecendo estudos complementares.

REFERÊNCIAS GERAIS

ABRAISCA- ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DAS EMPRESAS FABRICANTES DE ISCAS INSETICIDAS. 2015. Disponível em: <<http://www.abraisca.org.br/>>. Acessado em: 13 de jul. 2021.

ADAPAR- AGÊNCIA DE DEFESA AGROPECUÁRIA DO PARANÁ. 2022. Disponível em: < <http://celepar07web.pr.gov.br/agrotoxicos/pesquisar.asp> > Acesso em: 14 fev. 2021.

ALMEIDA, J. E. M.; BATISTA FILHO, A. **Controle biológico da cigarrinha-da-raiz da canade- açúcar com o fungo *Metarhizium anisopliae***. Boletim Técnico do Instituto Biológico, São Paulo, 19p., 2006.

ALVES, S. B. **Fungos entomopatogênicos**. In: ALVES, S. B. (Ed.). Controle Microbiano de Insetos. 2. ed. Piracicaba: FEALQ, 1998. p. 289-381.

ALVES, S. B.; SOSA GÓMEZ, D. R. Virulência do *Metarhizium anisopliae* (Metsch.) Sorok e *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuill. para duas castas de *Atta sexdens rubropilosa* (Forel, 1968). **Poliagro**, v.5, n.1, p.1-9. 1983.

ANTUNES, L. E. G.; DIONELLO, R. G. Avaliação do uso de terra de diatomácea para controle de *Sitophilus zeamais* em grãos de arroz com casca. **Revista Eletrônica Científica Da UERGS**, v. 7, n. 1, p. 142-151, 2021.

ARAÚJO, N. C. *et al.* Controle de formigas cortadeiras, utilizando-se efluente líquido de casas de farinha. **Revista Verde de Agroecologia e Desenvolvimento Sustentável**, v. 6, n. 4, p. 11-15, 2012.

ASSIS, F. A. *et al.* Efeitos da terra diatomácea sobre *Diabrotica speciosa* (Germar, 1824) (Coleoptera: Chrysomelidae) em batata inglesa. **Ciência e Agrotecnologia**, v. 35, p. 482-486, 2011.

BABICH, H.; STOTZKY, G. Toxicity of zinc to fungi, bacteria and coliphages: Influence of chloride ions. **Applied and Environmental Microbiology**, v.36, p. 906-914, 1978.

BARBOSA, S. M. *et al.* Lack correlation between micro fungi species and chemical control method of *Atta* treated with toxic baits. **Ciência Rural**, v. 48, n. 5, 2018.

BEXTINE, B. R.; THORVILSON, H. G. Field applications of baitformulated *Beauveria bassiana* alginato pellets for biological control of the red imported fire ant (Hymenoptera: Formicidae). **Biological Control**, v. 31, n. 2, p.746-752, 2002.

BHATLA, S. C.; LAL, M. A. **Plant physiology, development and metabolism**. Springer, 2018.

BOARETTO, M. A. C.; FORTI, L. C. Perspectivas no controle de formigas cortadeiras. **Série técnica IPEF**, v. 11, n. 30, p. 31-46, 1997.

BOLTON, B. 2016. An online catalog of the ants of the world. Disponível em: <<https://www.antweb.org/world.jsp>> Acesso: 28 mai. 2021.

BOULOGNE, I.; OZIER-LAFONTAINE, H.; LORANGER-MERCIRIS, G. Leaf-Cutting Ants; Biology and Control. In: **Sustainable Agriculture Reviews**. Springer; Cham; 2014. p. 1-17.

BRANDÃO, C. R. F.; MAYHE-NUNES, A. J.; SANHUDO, C. E. D. Taxonomia e filogenia das formigas cortadeiras. In: DELLA LUCIA, T. M. C. (Ed). **Formigas cortadeiras: Da bioecologia ao manejo**. Viçosa: UFV; 2011. P 27-48.

BRINKMAN, M. A.; GARDNER, W. A. Use of diatomaceous earth and entomopathogen combinations against the red imported fire ant (Hymenoptera: Formicidae). **Florida Entomologist**, p. 740-740, 2001.

BRITO, R. M. **Desenvolvimento de iscas contendo fungos entomopatogênicos para o controle da saúva limão (*Atta sexdens*)**. 2018. Tese (Doutorado em Ciência de Alimentos). Universidade Estadual de Londrina, Londrina-PR.

BRITTO, J. S. *et al.* Use of alternatives to PFOS; its salts and PFOSF for the control of leaf-cutting ants *Atta* and *Acromyrmex*. **International Journal of Research in Environmental Studies**, v. 3, n. 1, p. 11-92, 2016.

BRUGGER, M. S. *et al.* Avaliação dos efeitos tóxicos de extrato hexânico de *Azadirachta indica* (A. Juss) em colônias de *Acromyrmex rugosus* (Smith, 1858) (Formicidae, *Attini*). **Revista Brasileira de Zoociências**, v.10, n.3, p.233-238, 2008.

BUENO, F. C. **Seleção de ingredientes ativos para o desenvolvimento de iscas tóxicas para o controle de formigas cortadeiras (Hymenoptera: Formicidae)**. 2013. Tese (Doutorado em Biologia) Universidade Estadual Paulista- SP.

BUZZI, Z. J. Entomologia didática. In: **Entomologia didática**. UFPR 2010.

CAMARGO, R. S. *et al.* Behaviors in Fungus Garden Cultivation: Routes of Contamination of Leaf Cutting Ant Workers with Fat-Soluble Tracer Dye. **International Journal of Agriculture Innovations and Research**, v. 5, n.4, p. 2319-1473. 2017.

CANTARELLI, B. E. *et al.* Quantificação das perdas no desenvolvimento de *Pinus taeda* após o ataque de formigas cortadeiras. **Ciência Florestal**, v. 18, n. 1, p. 34-45, 2008.

CARLOS, A. A. *et al.* Filamentous fungi found in *Atta sexdens rubropilosa* colonies after treatment with different toxic bait formulations. **Journal of Applied Entomology**, v. 135, n. 4, p. 326-331, 2011.

CARMO, D. V. **Descrição da atividade de forrageamento em *Atta sexdens rubropilosa*: transferência de informação e seleção de tarefas**. 2014. Dissertação (Mestrado em Fisiologia Geral) - Universidade de São Paulo-SP.

CASTILHO, A. M. C. *et al.* Seleção de isolados de *Metarhizium anisopliae* e *Beauveria bassiana* patogênicos a soldados de *Atta bisphaerica* e *Atta sexdens rubropilosa* em condições de laboratório. **Ciência Rural**, v. 40, n. 6, p. 1243-1249, 2010.

CERQUEIRA, M. V. **Avaliação do período diário e sazonal da atividade de *Atta sexdens* L. (Hymenoptera: Formicidae) em florestas cultivadas**. 2012. Dissertação (Mestrado em Entomologia)- Universidade Federal de Lavras-MG.

CHALADZE, G. Climate-based model of spatial pattern of the species richness of ants in Georgia. **Journal of Insect Conservation**, v. 16, n. 5, p. 791-800, 2012.

COSTA, A. N. *et al.* Do herbivores exert top-down effects in Neotropical savannas? Estimates of biomass consumption by leaf-cutter ants. **Journal of Vegetation Science**, v. 19, n. 6, p. 849-854, 2008.

CRISTIANO, M. P. *et al.* *Amoimyrmex* Cristiano, Cardoso & Sandoval, gen. nov.(Hymenoptera: Formicidae): a new genus of leaf-cutting ants revealed by multilocus molecular phylogenetic and morphological analyses. **Austral Entomology**, v. 59, n. 4, p. 643-676, 2020.

CZACZKES, T. J.; GRÜTER, C.; RATNIEKS, F. L. W. Trail pheromones: an integrative view of their role in social insect colony organization. **Annual Review of Entomology**; v. 60; p. 581-599; 2015.

DELABIE, J. H. C. *et al.* Biogeografia das formigas cortadeiras (Hymenoptera; Formicidae; Myrmicinae; *Attini*) de importância econômica no leste da Bahia e nas regiões periféricas dos estados vizinhos. **Agrotropica**, v. 9, n. 2, p. 49-58, 1997.

DELABIE, J. H. C.; DELLA LUCIA, T. M. C; PASTRE, L. Protocolo de experimentação para avaliar a atratividade de novas formulações de iscas granuladas utilizadas no controle das formigas cortadeiras *Acromyrmex* spp. e *Atta* spp. (Hymenoptera: Formicidae: Myrmicinae: *Attini*) no Campo. **Anais Sociedade Entomológica do Brasil**, v. 29, n. 4, p. 843-848. 2000.

DELLA LUCIA, T. M. C.; GANDRA, L. C.; GUEDES, R. N. C. Managing leaf-cutting ants: peculiarities; trends and challenges. **Pest Management Science**, v. 70, n. 1, p. 14-23, 2014.

DELLA LUCIA, T. M. C.; OLIVEIRA, M. A de. Forrageamento. In: Della Lucia; T. M. C. (Ed.). **Formigas Cortadeiras**. Viçosa-MG; Editora da Universidade Federal de Viçosa, p. 84-105, 1993.

DELLA LUCIA, T. M. C.; VILELA, E. F. (1993). Métodos atuais de controle e perspectivas; p. 163-190. In: Della Lucia; T. M. C. (Ed.). **As formigas Cortadeiras**. Viçosa: Folha de Viçosa; 1993; 262p.

DIEHL-FLEIG, E. *et al.* Ocorrência natural de *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuill. no Rio Grande do Sul. **Acta Biologica Leopoldensia**, v. 14, n. 1, p. 99-104. 1992.

EBELING, Walter. Sorptive dusts for pest control. **Annual review of entomology**, v. 16, n. 1, p. 123-158, 1971

FAZAM, J. C. *et al.* Mortality of leaf-cutting ants with salicylic acid. **Semina: Ciências Agrárias**, v. 42, n. 4, p. 2599-2606, 2021.

FERREIRA-FILHO, P. J. *et al.* Does diatomaceous earth control leaf-cutter ants (Hymenoptera: Formicidae) in the Eucalyptus plantations? **Journal of Economic Entomology**, v. 108, n. 3, p. 1124-1128, 2015.

FORTI, L. C. **Ecologia da saúva *Atta capiguara* Gonçalves, 1944 (Hymenoptera, Formicidae) em pastagem.** 1985. 234p.

FOWLER, H. G.; ROBINSON, S. W. Foraging by *Atta sexdens* (Formicidae: Attini): seasonal patterns, caste and efficiency. **Ecological Entomology**, v. 4, n. 3, p. 239-247, 1979.

GAO, Q. M. *et al.* Signal regulators of systemic acquired resistance. **Frontiers in Plant Science**. v. 6, p. 228, 2015.

GIESEL, A.; BOFF, M. I. C.; BOFF, P. Seasonal activity and foraging preferences of the leaf-cutting ant *Atta sexdens piriventris* (Santschi) (Hymenoptera: Formicidae). **Neotropical entomology**, v. 42, n. 6, p. 552-557, 2013.

GILS, H. V.; VANDERWOUDE, C. Leafcutter ant (*Atta sexdens*) (Hymenoptera: formicidae) nest distribution responds to canopy removal and changes in microclimate in the southern colombian amazon. **Florida Entomologist**, v. 95, n. 4, p. 914-921, 2012.

HAIFIG, S. S. V. **Natureza do parasitismo de *Escovopsis* e *Escovopsioides* sobre *Leucoagaricus gongylophorus*, fungos associados aos jardins de formigas cortadeiras.** (2014). Dissertação (Ciências Biológicas: Microbiologia Aplicada) - Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho" - SP.

HERVEY, A.; ROGERSON, C. T.; LEONG, I. Studies on fungi cultivated by ants. **Brittonia**, v. 29, n. 2, p. 226-236, 1977.

HÖLLDOBLER, B.; WILSON, E. O. **The superorganism: the beauty; elegance; and strangeness of insect societies.** WW Norton Company; 2009.

HOOPER-BUI, L. M.; RUST, M. K. Oral toxicity of abamectin, boric acid, fipronil, and hydramethylnon to laboratory colonies of Argentine ants (Hymenoptera: Formicidae). **Journal of Economic Entomology**, v. 93, n. 3, p. 858-864, 2000.

JACCOUD, D. J.; HUGHES, W. O. H.; JACKSON, C. W. The epizootiology of a *Metarhizium* infection in mini-nests of the leafcutting ant *Atta sexdens rubropilosa*. **Entomologia Experimentalis et Applicata**, v. 93, n. 1, p. 51-61, 1999.

KLOTZ, J. H. *et al.* Toxicity and repellency of borate-sucrose water baits to Argentine ants (Hymenoptera: Formicidae). **Journal of Economic Entomology**, v. 93, n. 4, p. 1256-1258, 2000.

KOUL, O.; WAHAB, S. *Neem: today and in the New Millennium*. Dordrecht: Kluwer, 2004. 296p.

LEAL, S. C. M. *et al.* Amplification and restriction endonuclease digestion of the Pr1 gene for the detection and characterization of *Metarhizium* strains. **Mycological Research**, v. 101, n. 3, p. 257-265, 1997.

LEWIS, T.; POLLARD, G. V.; DIBLEY, G. C. Micro-environmental factors affecting diel patterns of foraging in the leaf-cutting ant *Atta cephalotes* (L.) (Formicidae: Attini). **The Journal of Animal Ecology**, p. 143-153, 1974.

LIMA, C. A. *et al.* Desenvolvimento de iscas granuladas com atraentes alternativos para *Atta bisphaerica* Forel, (Hymenoptera: Formicidae) e sua aceitação pelas operárias. **Neotropical Entomology**, v. 32, n. 3, p. 497-501. 2003.

LOPEZ, E.; ORDUZ, S. *Metarhizium anisopliae* and *Trichoderma viride* for control of nest of the fungus-growing ant, *Atta cephalotes*. **Biological Control**, v. 27 p. 194-200, 2003.

LORINI, I. *et al.* Terra de diatomáceas como alternativa no controle de pragas de milho armazenado em propriedade familiar. **Agroecologia e Desenvolvimento Rural Sustentável**, v.2, p.32-36, 2001.

LOUREIRO, E. S.; MONTEIRO, A. C. Patogenicidade de isolados de três fungos entomopatogênicos a soldados de *Atta sexdens sexdens* (Linnaeus, 1758) (Hymenoptera: Formicidae). **Revista Árvore**, v. 29, n. 4, p. 553-561, 2005.

MAPA- MINISTERIO DA AGRICULTURA, PECUARIA E ABASTECIMENTO. 2022. Disponível em: <http://agrofit.agricultura.gov.br/agrofit_cons/principal_agrofit_cons>. Acesso em: 14 fev. 2022.

MARICONI, F. A. **As saúvas**. São Paulo: Agronômica Ceres. 1970.

MARINHO, C. G. S.; DELLA LUCIA, T. M. C.; PICANÇO, M. C. Fatores que dificultam o controle das formigas cortadeiras. **Bahia Agrícola**, v. 7, n. 2, p. 18-21, 2006.

MARTIN, M. M.; WEBER, N. A. The cellulose-utilizing capability of the fungus cultured by the attine ant *Atta colombica tonsipes*. **Annals of the Entomological Society of America**, v. 62, n. 6, p. 1386-1387, 1969.

MEHDIABADI, N. J.; SCHULTZ, T. R. Natural history and phylogeny of the fungus-farming ants (Hymenoptera: Formicidae: Myrmicinae: Attini). **Myrmecological News**, v. 13, p. 37-55, 2010.

MICHEREFF FILHO, M. *et al.* Micoinseticidas e micoacaricidas no Brasil: como estamos após quatro décadas? **Arquivos do Instituto Biológico**, v. 76, n. 4, p. 769-779. 2009.

MOREIRA, A. A. *et al.* Mesa redonda arquitetura dos ninhos das formigas cortadeiras de gramíneas. **Biológico**, v. 69, n. suplemento 2, p. 83-85, 2007.

MOREIRA, A. A. *et al.* Nest architecture of *Atta laevigata* (F. Smith, 1858) (Hymenoptera: Formicidae). **Studies Neotropical Fauna Environment**, v.39, n.2, p.109-116, 2004.

NAGAMOTO, N. S. **Estudos toxicológicos de princípios ativos utilizando como modelo *Atta sexdens rubropilosa* (Hymenoptera; formicidae)**. 2003. Tese (Doutorado em Agronomia)- Universidade Estadual Paulista-SP.

NAKAGOME, F. K.; NOLDIN, J. A.; RESGALLA JR, C. Toxicidade aguda e análise de risco de herbicidas e inseticidas utilizados na lavoura do arroz irrigado sobre o cladóceros *Daphnia magna*. **Pesticidas: Revista de Ecotoxicologia e Meio Ambiente**, v. 16, n. 1, p. 93-100, 2006.

NICKELE, M. A. **Dinâmica populacional e ecologia do forrageamento de *Acromyrmex Mayr*, 1865 (Hymenoptera: Formicidae)**. 2013. Tese (Doutorado em Entomologia) - Universidade Federal de Curitiba- PR.

NICKELE, M. A. *et al.* Leaf-cutting ant attack in initial pine plantations and growth of defoliated plants. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 47, n. 7, p. 892-899, 2012.

NING, D. *et al.* L-ascorbic acid provides a highly effective and environmentally sustainable method to control red imported fire ants. **Journal of Pest Science**, v. 93, n. 2, p. 879-891. 2020.

OLIVEIRA, M.A; ARAÚJO, M.S.; MARINHO, C.G.S.; RIBEIRO, M.M.R.; DELLA LUCIA, T.M.C. Manejo de formigas cortadeiras. In: DELLA LUCIA, T.M.C. (Ed.). **Formigas cortadeiras: da biologia ao manejo**. Viçosa: UFV, 2011. p. 400-419.

PARK, C. G.; SHIN, E.; KIM, J. Insecticidal activities of essential oils, *Gaultheria fragrantissima* and *Illicium verum*, their components and analogs against *Callosobruchus chinensis* adults. **Journal of Asia-Pacific Entomology**, v. 19, n. 2, p. 269-273. 2016.

PRETTO, D. R. **Arquitetura dos túneis de forrageamento e do ninho de *Atta sexdens rubropilosa* Forel, 1908 (Hymenoptera-Formicidae), dispersão de substrato e dinâmica do inseticida na colônia**. 1996.

RAMOS, V. M. *et al.* Atratividade de iscas de polpa cítrica pulverizadas com extrato de capim jaraguá (*Hyparrhenia rufa* Nees) para a formiga cortadeira de gramíneas *Atta capiguara*. **Pasturas Tropicales**, v. 28, n. 3, p. 1-10. 2006.

RANDO, J. S. S. **Ocorrência de espécies de *Atta* Fabricius, 1804 e *Acromyrmex* Mayr, 1865 em algumas regiões do Brasil**. 2002. Tese (Doutorado em proteção de plantas) – Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho” - SP.

RIBEIRO, F. M. M. 2009. **Efeito da herbívora por saúvas sobre a fenologia, sobrevivência, crescimento e conteúdo nutricional de árvores do Cerrado**. Dissertação (Mestrado em Ecologia e Conservação de Recursos Naturais). Universidade Federal de Uberlândia. Uberlândia-MG. 56p.

RIBEIRO, M. M. R.; MARINHO, C. G. S. Seleção e forrageamento em formigas cortadeiras. In: DELLA LUCIA; T. M. C. (Ed). **Formigas cortadeiras: Da bioecologia ao manejo**. Viçosa: UFV, 2011, p. 189-203.

RUST, M. K.; REIERSON, D. A.; KLOTZ, J. H. Delayed toxicity as a critical factor in the efficacy of aqueous baits for controlling Argentine ants (Hymenoptera: Formicidae). **Journal of Economic Entomology**, v. 97, n. 3, p. 1017-1024, 2004.

SANTOS, A. V.; DE OLIVEIRA, B. L.; SAMUELS, R. I. Selection of entomopathogenic fungi for use in combination with sub-lethal doses of imidacloprid:

perspectives for the control of the leaf-cutting ant *Atta sexdens rubropilosa* Forel (Hymenoptera: Formicidae). **Mycopathologia**, v. 163, n. 4, p. 233-240, 2007.

SCHOEREDER, J. H. *et al.* Proposed limestone treatment as pest control fails for the leaf-cutting ant *Atta sexdens rubropilosa*. **Crop Protection**, v. 42, p. 79-82, 2012.

SEMENOVA, T. A. *et al.* Evolutionary patterns of proteinase activity in attine ant fungus gardens. **BMC Microbiology**, v. 11, n. 1, p. 15, 2011.

SILVA, D. G. da. **Efeito do fungo *Trichoderma harzianum* e do zinco em colônias de *Atta sexdens***. 2016. Dissertação (Mestrado em Ciências Florestais e Ambientais) – Universidade Federal do Tocantins-TO.

SILVA, M. E. da.; DIEHL-FLEIG, E. Avaliação de diferentes linhagens de fungos entonopatogênicos para controle da formiga *Atta sexdens piriventris* (Santschi, 1919) (Hymenoptera: Formicidae). **Anais Da Sociedade Entomológica Do Brasil**, v. 17, n. 2, 263-269, 1988.

SIMAS, V. R.; COSTA, E. C.; SIMAS, C. A. Principais espécies vegetais herbáceas em locais forrageados e não forrageados por *Atta vollenweideri* Forel, 1893 (Hymenoptera: Formicidae). **Revista da FZVA**, v. 10, n. 1, 2003.

SOUZA, E. S.; BALDIN, E. L. L. Efeito de pós de origem vegetal e de terra diatomácea sobre aspectos da biologia de *Zabrotes subfasciatus* (BOH., 1833) em feijão armazenado. **Arquivos do Instituto Biológico**, v. 76, p. 401-408, 2021.

SOUZA, R. M. *et al.* Primeiro registro de *Atta sexdens rubropilosa* Forel atacando árvores de nim *Azadirachta indica* a. Jus.. **Arquivos do Instituto Biológico**, v. 76, p. 729-733, 2009.

STEFANELLI, L. E. P. *et al.* Effects of entomopathogenic fungi on individuals as well as groups of workers and immatures of *Atta sexdens rubropilosa* leaf-cutting ants. **Insects**, v. 12, n. 1, p. 10, 2021.

SUMIDA, S. *et al.* Toxicological and histopathological effects of boric acid on *Atta sexdens rubropilosa* (Hymenoptera: Formicidae) workers. **Journal of Economic Entomology**, v. 103, n. 3, p. 676-690, 2010.

SVOBODOVÁ, Z. *et al.* Effect of deltamethrin on haematological indices of common carp (*Cyprinus carpio* L.). **Acta Veterinaria Brno**, v. 72, n. 1, p. 79-85, 2003.

TÉLLEZ- JURADO, A. *et al.* Mecanismos de acción y respuesta en la relación de hongos entomopatógenos e insectos. **Revista mexicana de micología**, v.30, p.73-80, 2009.

TOMLIN, C. D. S. *et al.* **The pesticide manual: A world compendium**. British Crop Production Council, 2009. 1250p.

TONHASCA, A.; LIMA-BRAGANÇA, M. A. Forager size of the leaf-cutting ant *Atta sexdens* (Hymenoptera: Formicidae) in a mature eucalyptus forest in Brazil. **Revista de Biologia Tropical**, v. 48, n. 4, p. 983-988, 2000.

TRAVAGLINI, R. V. **Bases para o controle microbiano de formigas cortadeiras**. 2017b. Tese (Doutorado em proteção de plantas) – Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho” - SP.

TRAVAGLINI, R. V. *et al.* Isca encapsulada atrativa visando controle microbiano de formigas cortadeiras. **Tekhne e Logos**, v. 8, n.3, p.100-111. 2017.

UNITED NATIONSTREATY COLLECTION. Stockholm convention on persistent organic pollutants. 2009. Disponível em:
<http://www.wipo.int/edocs/lexdocs/treaties/en/unep-pop/trt_unep_pop_2.pdf>
Acessado em: 13 jul. 2021.

VANDER MEER, R. Ant interactions with soil organisms and associated semiochemicals. **Journal of Chemical Ecology**, 38(6), 728-745. 2012.

VASCONCELOS, H. L. *et al.* Roads Alter the Colonization Dynamics of a Keystone Herbivore in Neotropical Savannas. **Biotropica**, v. 38, n. 5, p. 661-665, 2006.

VELISEK, J. *et al.* Effects of deltamethrin on rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). **Environmental Toxicology and Pharmacology**, v. 23, n. 3, p. 297-301, 2007.

VIANA, L. R. *et al.* Foraging patterns of the leaf-cutter ant *Atta laevigata* (Smith) (Myrmicinae: Attini) in an area of cerrado vegetation. **Neotropical Entomology**, v. 33, n. 3, p. 391-393, 2004.

VIEIRA, A. S.; *et al.* Chemical composition of metapleural gland secretions of fungus growing and non-fungus-growing ants. **Journal of Chemical Ecology**, v. 38, n. 10, p. 1289-1297. 2012.

WALKER, T. N.; HUGHES, W. O. H. Adaptive social immunity in leaf-cutting ants. **Biology Letters**, v. 5, n. 4, p. 446-448, 2009.

WARD, P. S. *et al.* The evolution of myrmicine ants: phylogeny and biogeography of a hyperdiverse ant clade (hymenoptera: Formicidae). **Systematic Entomology**, v. 40, n. 1, p. 61-81, 2015.

WEBER, N. A. The fungus-culturing behavior of ants. **American Zoologist**, v. 12, n. 3, p. 577-587, 1972.

WILSON, E. O. Caste and division of labor in leaf-cutter ants (Hymenoptera: Formicidae: *Atta*). **Behavioral Ecology and Sociobiology**, v. 7, n. 2, p. 157-165, 1980.

ZANETTI, R. *et al.* Level of economic damage for leaf-cutting ants (Hymenoptera: Formicidae) in Eucalyptus plantations in Brazil. **Sociobiology**, v. 42, n. 2, p. 433-442, 2003.

ZARZUELA, M. F. M. Utilização de entomopatógenos para o controle de formigas. **Biológico**, v. 69, n. 2, p.157-160. 2007.

APÊNDICE 1: TEMPERATURA MÉDIA MENSAL E PRECIPITAÇÃO PLUVIOMÉTRICA DE JANEIRO DE 2020 A 18 DE NOVEMBRO DE 2021 EM LONDRINA-PR.

| | Temp. (°C) média mensal | Temp. (°C) mínima | Temp. (°C) máxima | Precipitação acumulada (mm) |
|--------|-------------------------|-------------------|-------------------|-----------------------------|
| jan/20 | 23,8 | 16,7 | 33,8 | 102,9 |
| fev/20 | 23,3 | 15,5 | 34,8 | 89,9 |
| mar/20 | 23,6 | 15,2 | 35,2 | 83,5 |
| abr/20 | 21,0 | 9,2 | 33,6 | 43,1 |
| mai/20 | 17,7 | 5,7 | 31,1 | 72,6 |
| jun/20 | 18,7 | 8,2 | 29,1 | 97,3 |
| jul/20 | 17,6 | 4,6 | 29,3 | 8,9 |
| ago/20 | 18,0 | 4,2 | 33,8 | 143,9 |
| set/20 | 23,9 | 12,3 | 39,3 | 12,2 |
| out/20 | 23,9 | 13,6 | 40,0 | 62,9 |
| nov/20 | 23,7 | 11,9 | 36,8 | 83,8 |
| dez/20 | 23,4 | 15,9 | 33,2 | 133,6 |
| jan/21 | 23,4 | 17,3 | 34,0 | 221,6 |
| fev/21 | 23,2 | 15,2 | 34,9 | 97,7 |
| mar/21 | 23,4 | 14,8 | 34,8 | 240,7 |
| abr/21 | 21,0 | 10,4 | 32,3 | 1,2 |
| mai/21 | 18,7 | 6,3 | 31,2 | 132,4 |
| jun/21 | 16,2 | 0,2 | 28,7 | 40,6 |
| jul/21 | 14,8 | -0,3 | 29,0 | 31,3 |
| ago/21 | 14,8 | 6,8 | 34,9 | 17,8 |
| set/21 | 23,2 | 11,5 | 38,3 | 50,9 |
| out/21 | 20,1 | 11,4 | 32,5 | 215,6 |
| nov/21 | 34,9 | 13,1 | 22,9 | 12,4 |

Dados da estação meteorológica de Londrina cedidos pelo IDR , Londrina, PR - 2021