



UNIVERSIDADE  
ESTADUAL DE LONDRINA

---

JOAN BRIGO FERNANDES

**REDUÇÃO DO FORRAGEAMENTO DA SAÚVA  
LIMÃO E DO CRESCIMENTO DE SEU FUNGO  
*Leucoagaricus gongylophorus* COM FUNGOS  
UTILIZADOS NO CONTROLE BIOLÓGICO**

---

Londrina  
2023

JOAN BRIGO FERNANDES

**REDUÇÃO DO FORRAGEAMENTO DA SAÚVA  
LIMÃO E DO CRESCIMENTO DE SEU FUNGO  
*Leucoagaricus gongylophorus* COM FUNGOS  
UTILIZADOS NO CONTROLE BIOLÓGICO**

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  
2023

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

F363r Fernandes, Joan Brigo.  
Redução do forrageamento da saúva limão e do crescimento de seu fungo *Leucoagaricus gongylophorus* com fungos utilizados no controle biológico / Joan Brigo Fernandes. - Londrina, 2023.  
63 f. : il.

Orientador: Amarildo Pasini.  
Tese (Doutorado em Agronomia) - Universidade Estadual de Londrina, Centro de Ciências Agrárias, Programa de Pós-Graduação em Agronomia, 2023.  
Inclui bibliografia.

1. Controle biológico de formigas cortadeiras - Tese. 2. Manejo integrado de saúvas - Tese. 3. *Atta sexdens* - Tese. 4. *Acromyrmex* sp. - Tese. I. Pasini, Amarildo . II. Universidade Estadual de Londrina. Centro de Ciências Agrárias. Programa de Pós-Graduação em Agronomia. III. Título.

CDU 63

**JOAN BRIGO FERNANDES**

**REDUÇÃO DO FORRAGEAMENTO DA SAÚVA  
LIMÃO E DO CRESCIMENTO DE SEU FUNGO  
*Leucoagaricus gongylophorus* COM FUNGOS  
UTILIZADOS NO CONTROLE BIOLÓGICO**

---

Orientador Prof. Dr. Amarildo Pasini  
Universidade Estadual de Londrina

---

Prof. Dr. Mauricio Ursi Ventura  
Universidade Estadual de Londrina

---

Prof. Dr. Adriano Thibes Hoshino  
Centro Universitário Filadélfia - UniFil

---

Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Daniela de Oliveira Pinheiro  
Universidade Estadual de Londrina

---

Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Cláudia Maria Justus  
Centro Universitário Filadélfia - UniFil

Londrina, 28 de abril de 2023.

## **DEDICATÓRIA**

Dedico esta tese a Deus, por toda a força e proteção.

A minha esposa, Kellen pela dedicação em apoiar meus sonhos e carinho nos  
momentos difíceis.

Aos meus filhos, Renan, Arthur e João que cederam o tempo precioso em  
família para investir nos estudos e desenvolvimento dos trabalhos.

## **AGRADECIMENTOS**

Agradeço ao meu orientador, Prof. Dr. Amarildo Pasini que acreditou, direcionou os trabalhos de forma exemplar. Com muita paciência, me ajudou a trilhar as conquistas e sanar as dúvidas promovendo aprendizado muito além de uma Tese.

Aos meus Pais que de uma forma singular, me apoiam e colaboram para almejar meu crescimento pessoal e educacional.

A minha esposa Kellen e Filhos (Renan, Arthur e João) que com muitas “mordidas” de formigas, também vivenciaram o valor das descobertas e um mundo novo em cada ninho.

A Usina Biológica pelo espaço cedido em meio a tempestades nunca vistas de uma Pandemia e a todos os colaboradores.

Aos professores do Programa de Pós-Graduação em Agronomia da UEL por todo conhecimento e aprendizado desenvolvido que são bases para o sucesso.

Agradeço a CAPES pela bolsa e incentivo a pesquisa para cada vez mais desempenharmos novas descobertas e melhorias para o meio ambiente e nossa agricultura.

FERNANDES, Joan Brigo. **REDUÇÃO DO FORRAGEAMENTO DA SAÚVA LIMÃO E DO CRESCIMENTO DE SEU FUNGO *Leucoagaricus gongylophorus* COM FUNGOS UTILIZADOS NO CONTROLE BIOLÓGICO**, 2023. 63 fls. Tese (Doutorado em Agronomia). Universidade Estadual de Londrina, Londrina, 2023.

## RESUMO

As formigas cortadeiras são consideradas principais pragas de diversas culturas agrícolas, de reflorestamento e pastagens. O custo com manejo pode chegar a 30%, sendo o método químico o mais utilizado, podendo gerar contaminações no solo, água e mortalidade de insetos benéficos. O objetivo do trabalho foi desenvolver isca biológica, contendo fungos, para formigas cortadeiras e avaliar desenvolvimento do fungo simbiote *Leucoagaricus gongylophorus*, submetido a contato com fungicidas. Foi avaliada a atratividade de diferentes formulações de iscas, com amido, com micronizado de aveia, com farinha de aveia e farinha de aveia adicionado essência de eucalipto. A maior atratividade foi observada na isca contendo somente farinha de aveia e por este motivo foi revestida com os agentes entomopatogênicos *Beauveria bassiana*, com *Metarhizium anisopliae* e com a junção de *Metarhizium* com *Trichoderma harzianum*, foram aplicadas em ninhos estabelecidos e ativos. A eficiência na redução de atividades de forrageamento e total, foi comparada à isca formicida comercial contendo sulfluramida 0,3%, contabilizando as atividades dos ninhos, após tratamentos. As iscas foram aplicadas em campos comerciais de produção agrícolas e florestais, através de 4 repetições (ninhas), aplicando-se 200 g de iscas contendo o entomopatógeno a cada tratamento e repetição. A porcentagem de redução de atividade foi comparada com o forrageamento e atividade total com o valor registrado antes da aplicação. Para o estudo com o fungo simbiote *Leucoagaricus gongylophorus* foi testado o melhor meio de cultura e após verificado melhores resultados para o BDA foi inoculado e avaliado seu crescimento radial, com interação à fungicida químico, *Trichoderma* e ácido salicílico. As iscas contendo *Metarhizium* com *Trichoderma harzianum* e somente *Metarhizium* promoveram reduções de forrageamento e atividade total acima de 90%. Todos os tratamentos do fungo simbiote com interação à fungicidas reduziram e inibiram o crescimento do fungo simbiote em diferentes tempos.

**Palavras chave:** Controle biológico de formigas cortadeiras, manejo integrado de saúvas, *Atta sexdens*, *Acromyrmex* sp.

FERNANDES, Joan Brigo. **REDUCTION OF FORAGING OF LEAFCUTTER ANTS AND THE GROWTH OF ITS FUNGUS *Leucoagaricus gongylophorus* WITH FUNGI USED IN BIOLOGICAL CONTROL**, 2023. 63 pgs. Thesis (Doctorate in Agronomy). State University of Londrina, Londrina, 2023.

### ABSTRACT

Leafcutter ants are considered the main pests of several agricultural, reforestation and pasture crops. The cost of management can reach 30%, with the chemical method being the most used, which can cause contamination of soil and water and mortality of beneficial insects. The objective of the work was to develop biological bait, containing fungi, for leaf-cutter ants and evaluate the development of the symbiotic fungus *Leucoagaricus gongylophorus*, subjected to contact with fungicides. The attractiveness of different bait formulations was evaluated, with starch, with micronized oat, with oat flour and oat flour with eucalyptus essence added. The greatest attractiveness was observed in the bait containing only oatmeal and for this reason it was coated with the entomopathogenic agents *Beauveria bassiana*, with *Metarhizium anisopliae* and with the combination of *Metarhizium* and *Trichoderma harzianum*, they were applied in established and active nests. The efficiency in reducing foraging and total activities was compared to commercial ant bait containing 0.3% sulfluramide, accounting for nest activities after treatments. The baits were applied in commercial agricultural and forestry production fields, through 4 replications (nests), applying 200 g of bait containing the entomopathogen to each treatment and replication. The percentage of activity reduction was compared with foraging and total activity with the value recorded before application. For the study with the symbiotic fungus *Leucoagaricus gongylophorus*, the best culture medium was tested and after verifying better results for BDA, it was inoculated and its radial growth was evaluated, with interaction with the chemical fungicide, *Trichoderma* and salicylic acid. Baits containing *Metarhizium* with *Trichoderma harzianum* and *Metarhizium* alone promoted reductions in foraging and total activity above 90%. All treatments of the symbiotic fungus interacting with fungicides reduced and inhibited the growth of the symbiotic fungus at different times.

**Keywords:** Biological control of ants, integrated management of leafcutter ants, *Atta sexdens*, *Acromyrmex* sp.



## LISTA DE FIGURAS

- Figura 1.** *Acromyrmex* spp. com 4 pares de espinhos dorsais (A). *Atta* spp. com 3 pares de espinhos dorsais (B). ..... 12
- Figura 2.** Fungo simbiote cultivado por *Acromyrmex crassispinus* Forel, 1909. .... 31
- Figura 3.** Redução percentual na atividade de forrageamento nos tempos de 10, 20, 40 e 60 dias após a aplicação (DAA)..... 39
- Figura 4.** Redução de atividade total em percentual nos tempos de 10, 20, 40 e 60 dias após a aplicação (DAA). .... 40
- Figura 5.** Desenvolvimento radial de *L. gongylophorus* em milímetros sob meios de cultura *in vitro*, avaliados em 7, 14, 21, 28, 35 e 42 dias após a inoculação (DAI). .... 47
- Figura 6.** Desenvolvimento radial de *Leucoagaricus gongylophorus* em milímetros sob meios de cultura *in vitro* contendo fungicidas, avaliados em 7, 14, 21, 28, 35 e 42 dias após a inoculação (DAI). .... 48

## LISTA DE TABELAS

<b>Tabela 1.</b> Principais características de formigas cortadeiras dos gêneros <i>Atta</i> e <i>Acromyrmex</i> .....	13
<b>Tabela 2.</b> Nome científico e comum de formigas cortadeiras dos gêneros <i>Acromyrmex</i> e <i>Atta</i> encontradas do Brasil. ....	14
<b>Tabela 3.</b> Materiais utilizados para produção de iscas granuladas.....	35
<b>Tabela 4.</b> Componentes utilizados para produção de iscas granuladas ..	35
<b>Tabela 5.</b> Tempo para carregamento do primeiro grânulo de isca e quantidade carregada. ....	38
<b>Tabela 6.</b> Meios de cultura e extratos utilizados para crescimento de <i>Leucoagaricus gongylophorus</i> .....	44
<b>Tabela 7.</b> Fungicidas utilizados para interação com isolados de <i>Leucoagaricus gongylophorus</i> .....	45

## SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO .....	11
2. REVISÃO LITERATURA .....	12
2.1 Formigas Cortadeiras .....	12
2.1.1 Taxonomia e Distribuição .....	13
2.1.2 Sistema social .....	16
2.1.3 Forrageamento .....	17
2.1.4 Danos de natureza econômica .....	19
2.2 Manejo de Formigas .....	20
2.2.1 Controle Químico .....	20
2.2.2 Controle Biológico .....	24
2.2.3 Controle por fungos entomopatogênicos .....	24
2.2.4 Uso de iscas granuladas contendo fungos .....	30
2.3 Fungo <i>Leucoagaricus gongylophorus</i> .....	31
ARTIGO 1. ISCAS FORMICIDAS PARA CONTROLE BIOLÓGICO DE <i>Atta sexdens</i> .....	34
1. INTRODUÇÃO .....	34
2. MATERIAL E MÉTODOS .....	35
2.1 Iscas granuladas .....	36
2.2 Iscas granuladas com entomopatógenos .....	37
2.3 Atividade dos ninhos .....	37
2.4 Validação das iscas em campo .....	38
3. RESULTADOS E DISCUSSÃO .....	38
3.1 Atratividade de iscas em diferentes formulações .....	38
3.2 Iscas inoculadas com microrganismos .....	39
4. CONCLUSÕES .....	42
ARTIGO 2. INTERAÇÃO DE FUNGICIDAS BIOLÓGICOS E NATURAIS NO DESENVOLVIMENTO DO FUNGO <i>Leucoagaricus gongylophorus</i> (LEUCOCOPRINI: AGARICALES) .....	43
1. INTRODUÇÃO .....	43
2. MATERIAL E MÉTODOS .....	45
2.1 Estabelecimento dos meios de cultura .....	45
2.2 Interferência no desenvolvimento do fungo <i>Leucoagaricus gongylophorus</i> à fungicidas in vitro .....	46
3. RESULTADOS E DISCUSSÃO .....	47
3.1 Meios de cultura para desenvolvimento do fungo <i>Leucoagaricus gongylophorus</i> .....	47
3.2 Desenvolvimento do fungo <i>L. gongylophorus</i> sob efeito de fungicidas ...	49
4. CONCLUSÃO .....	51
REFERÊNCIAS .....	52

## 1. INTRODUÇÃO

As formigas cortadeiras são nativas da região Neotropical e seus indivíduos nos ninhos possuem organização social, com estrutura complexa, o que dificulta seu controle (DELLA LUCIA et al., 2014). Se alimentam do fungo *Leucoagaricus gongylophorus* (Möller) (Agaricales: Basidiomycota), com manutenção dependente de forrageamento, ou seja, selecionando plantas de importância econômica para carregar ao interior do ninho (BOULOGNE et al., 2014; CANTARELLI et al., 2008).

Formigas saúvas cortam entre 12% a 17% da produção de florestas tropicais (CHERRET, 1986). A necessidade de forrageamento de um saúveiro adulto é de 1 tonelada de folhas por ano, ou seja, aproximadamente 86 árvores de eucalipto (MENDES FILHO, 1979).

Somente quatro princípios ativos são liberados para uso no Estado do Paraná, sendo deltametrina, permetrina, sulfluramida e fipronil (ADAPAR, 2023), gerando restrições às opções de controle das formigas.

O controle predominante destas formigas é realizado com inseticidas químicos, utilizando-se de iscas granuladas, fumigação, termonebulização ou pós secos. Alguns destes métodos possuem grande custo operacional, riscos de contaminação ao ambiente e intoxicações ao aplicador e também problemas na formulação de seus ativos (BRITTO et al., 2016; NAGAMOTO, 2003). Com isto, iscas granuladas apresentam grande vantagem, gerando economia e praticidade na aplicação.

Comumente, iscas granuladas possuem princípios ativos como fipronil e sulfluramida, sendo revestidas com substâncias atrativas cítricas que por percepção e aprendizado das formigas, muitas formulações de iscas possuem baixa eficiência por recusa de carregamento e devolução para fora do ninho, estratégias para defender a população da colônia. (TRAVAGLINI, 2017).

A busca de novos produtos seguros e de menor risco ambiental para controle de formigas se faz necessário, colaborando para aumentar a eficiência. Travaglini et al. (2017) ofertaram iscas encapsuladas com *Metarhizium anisopliae* (Metschn.) Sorokin, que é um fungo utilizado para

controle biológico, obtendo sucesso na aceitação das formigas operárias para carregamento e substrato no fungo simbiote, em condições de laboratório.

Neste sentido, viabilizar novos métodos de controle e a integração de agentes biológicos, são importantes para gerar sustentabilidade e eficiência no controle destas formigas, haja vista sua importância econômica e dificuldade de controle das mesmas.

Sendo assim, o objetivo deste estudo foi desenvolver isca atrativa para formigas saúva limão contendo agentes microbiológicos, verificar em ninhos ativos sua efetividade e a interação *in vitro* do fungo simbiote *L. gongylophorus* com fungos utilizados no controle biológico.

## **2. REVISÃO LITERATURA**

### **2.1 Formigas Cortadeiras**

As formigas cortadeiras sobrevivem em ninhos abaixo do solo, com diversas galerias e câmaras, também denominadas “panelas”, com destinação de uso específico, possuindo interligações com todo o ninho até a superfície (CARMO, 2014). Com isto, aglomerados de partículas soltas de solo se acumulam formando elevações, facilitando o reconhecimento e localização do formigueiro.

Em determinadas câmaras, cultivam seu próprio alimento a partir do forrageamento de vegetais frescos. Sendo assim, cortam folhas de plantas para o cultivo do fungo simbiote *Leucoagaricus gongylophorus* que servirá de alimento para toda a colônia (WEBER, 1972; HERVEY et al., 1977). Este fungo produz uma enzima nomeada celulase, que é capaz de degradar a celulose, gerando proteínas e nutrientes para as formigas (MARTIN; WEBER, 1969).

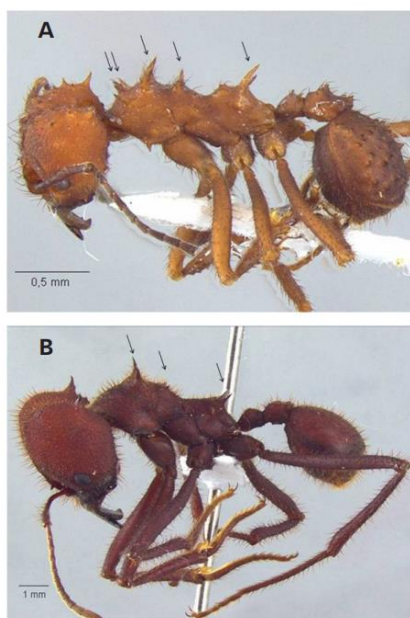
A escavação de formigas cortadeiras, misturam solo pobre em nutrientes das camadas mais profundas com as camadas superiores ricas em matéria orgânica, aumentando a heterogeneidade de carbono e nutrientes nos solos dos ninhos. A decomposição da matéria orgânica, a respiração microbiana e das formigas resultam no aumento da produção de CO<sub>2</sub>, CH<sub>4</sub> e

N<sub>2</sub>O, mas o acúmulo de gases e calor dentro do ninho é mitigado pelo sistema de ventilação da rede de túneis (SWANSON et al., 2019).

Uma colônia, pode chegar até 8 milhões de indivíduos (CIESLA, 2011). Sua rainha, pode viver por mais de dez anos, tendo ninho que pode conter centenas de câmaras e milhares de olheiros (orifícios de entrada e saída) e atingir até 6 metros de profundidade e chegar a uma extensão de 100 m<sup>2</sup> (CAPINERA, 2008).

### 2.1.1 Taxonomia e Distribuição

As formigas cortadeiras pertencem à ordem Hymenoptera, família Formicidae, sendo mastigadores e com desenvolvimento holometabólico (BOARETTO; FORTI, 1997; CIESLA, 2011). A tribo Attini, descrita por Linnaeus em 1758 (Formicidae: Myrmicinae) possui 15 gêneros descritos e um pouco mais de 200 espécies, no qual estão inseridas as formigas cortadeiras de gênero *Atta* (saúva) descrito por Fabricius em 1804 possuindo 19 espécies e *Acromyrmex* (quenquéns) (CAPINERA, 2008; BRANDÃO et al., 2011; CIESLA, 2011).



**Fonte:** Reis filho; Lede; Nikele (2011).

**Figura 1.** *Acromyrmex* spp. com 4 pares de espinhos dorsais (A). *Atta* spp. com 3 pares de espinhos dorsais (B).

As formigas popularmente conhecidas como saúvas, de gênero *Atta*, possuem três pares de espinhos dorsais (Figura 1) como característica taxonômica e apresentam polimorfismo entre as operárias da colônia, ápteras e estéreis além da casta reprodutiva (CIESLA, 2011; REIS FILHO et al., 2013; TRAVAGLINI et al., 2017). A espécie de maior ocorrência no Brasil é a saúva limão (*Atta sexdens*), de cor vermelho aveludada e quando esmagadas exalam o cheiro de limão.

As quenquéns (*Acromyrmex* sp.) são formigas menores, diferindo-se do gênero *Atta*, por possuírem quatro ou mais pares de espinhos no dorso (Figura 1) (MARICONI, 1970). Possuem o exoesqueleto rugoso na porção superior do tórax e são de coloração marrom-avermelhada a marrom. As operárias podem alternar o tipo de vegetal atacado e podem evitar a desfolha completa, para não causar a morte da planta (CIESLA, 2011; REIS FILHO; LEDE; NIKELE, 2011).

**Tabela 1.** Principais características de formigas cortadeiras dos gêneros *Atta* e *Acromyrmex*.

<b>Característica</b>	<b><i>Acromyrmex</i> (quenquéns)</b>	<b><i>Atta</i> (saúvas)</b>
Número de espinhos no tórax	4 ou 5 pares	3 pares
Tubérculos no gáster (parte posterior do corpo)	Com tubérculos no gáster	Sem tubérculos no gaster
Tamanho das operárias	Pequenas, com pouca distinção entre as castas	Grandes, castas com tamanho bem distintos
Tamanho dos ninhos	Superficiais ou pouco profundos, constituído de uma ou poucas câmaras	Profundos e com inúmeras câmaras
Tipo dos ninhos	Ninhos com monte de terra solta ou um monte de ciscos	Ninhos com monte de terra solta aparente

Fonte: Reis Filho et al. (2013).

A região neotropical contém a maior diversidade de formigas cortadeiras. Nestas regiões 2750 espécies foram descritas da tribo Attini e mais de 45 gêneros. Os fatores do ambiente como tipo de solo, tipo de vegetação

predominante, chuvas e temperatura, influenciam a presença e estabelecimento destas formigas (CHALADZE, 2012; GILS & VANDERWOUDE, 2012).

Todas as espécies de formigas cortadeiras são encontradas no hemisfério ocidental distribuídas nas Américas e nas ilhas do Caribe. No Brasil encontram-se 15 espécies de *Acromyrmex* e 10 espécies de *Atta*, descritas na Tabela 2 (CIESLA, 2011; BOLTON, 2016).

**Tabela 2.** Nome científico e comum de formigas cortadeiras dos gêneros *Acromyrmex* e *Atta* encontradas do Brasil.

<b>Gênero <i>Acromyrmex</i></b>	<b>Nome comum</b>	<b>Gênero <i>Atta</i></b>	<b>Nome comum</b>
<i>A. ambiguus</i>	Quenquém-preta-brilhante	<i>A. bispherica</i>	
<i>A. aspersus</i>	Quenquém-rajada	<i>A. capiguara</i>	
<i>A. coronatus</i>	Quenquém-de-arvore	<i>A. cephalotes</i>	Saúva-da-mata
<i>A. crassispinus</i>	Quenquém-de-cisco	<i>A. goiana</i>	
<i>A. diasi</i>		<i>A. laevigata</i>	Cabeça-de-vidro
<i>A. diseiger</i>	Quenquém-mirim	<i>A. opaciceps</i>	Saúva-do-sertão-do-nordeste
<i>A. lrystrix</i>	Quenquém-de-cisco-da-amazônia	<i>A. robusta</i>	Saúva-preta
<i>A. laticeps</i>	Quenquém-capineira	<i>A. sexdens</i>	Saúva-limão
<i>A. lundii</i>	Quenquém-mineira-preta	<i>A. silvai</i>	
<i>A. niger</i>	Quenquém	<i>A. vollenweideri</i>	
<i>A. rugosus</i>	Formiga-mulatinha		
<i>A. subterraneus</i>	Quenquém-capixaba		
<i>A. heyeri</i>			
<i>A. landolti</i>			
<i>A. striatus</i>	Formiga-de-rodeio		

**Fonte:** Forti; Boaretto, (1997); Ciesla (2011); Reis Filho; Lede; Nikele (2011) modificado.

A nível regional, a distribuição dos ninhos de formigas cortadeiras é regulada por fatores ambientais como a vegetação, o solo e o clima. Para *Atta sexdens*, os estudos sugerem que as alterações



microclimáticas podem induzir as mudanças dos locais dos ninhos (GILS & VANDERWOUDE, 2012).

As saúvas, como *A. sexdens*, *A. bisphaerica*, *A. opaciceps* e, principalmente *A. laevigata*, se aproveitam da abertura de estradas para colonizar novas regiões, uma vez que estabelecem com facilidade seus ninhos durante a terraplanagem ou nos barrancos e taludes ao longo das estradas (DELABIE et al., 1997; VASCONCELOS et al., 2006). Enfim, grandes canteiros de obras em meio urbano também privilegiam a instalação de *A. laevigata*.

Diversos fatores podem influenciar o avanço territorial, como a disponibilidade de terra solta para instalação colônias. Estas espécies de formigas podem no futuro ser consideradas testemunhas e bioindicadoras das ações antrópicas e mudanças climáticas.

### **2.1.2 Sistema social**

A formação de uma nova colônia acontece quando uma rainha fecundada escava a primeira câmara, regurgita e cultiva o fungo proveniente do ninho original, utilizando sua secreção anal para alimentá-lo em seu novo local (“jardim”) e coloca os primeiros ovos, originando as primeiras operárias (CAPINERA, 2008; GULLAN; CRANSTON, 2014).

As formigas cortadeiras organizam seus ninhos em castas, com polimorfismo das operárias, diferenciando-se pelo tamanho das cabeças, sendo separados em quatro divisões: 1) operárias com cabeça <0,6 -1,2 mm, são as enfermeiras, responsáveis pelo cuidado da rainha e da prole (larvas e pupas); 2) cabeça entre 1,3 -2,0 mm são as jardineiras, responsáveis pelo material vegetal, jardim de fungo e gerenciamento de lixo; 3) cabeça variando de 2,1 -2,9 mm, carregadeiras, com as responsabilidades em escavar túneis e galerias, pelas atividades de forrageamento (corte e transporte dos materiais vegetais); 4) cabeça >3,0 mm, soldados, responsáveis por cuidar da colônia protegendo de invasores (WILSON, 1980).

A organização social das formigas permite a obtenção de informações acerca do ambiente, sendo este, fundamental para manutenção da ordem na colônia. Sendo assim, por se tratar de insetos eussociais,

adquirem estas informações pela visão, audição, olfato e outros sistemas sensoriais (BANKS; SRYNGLEY, 2003).

Segundo Tribble et al. (2017) e Yan et al. (2017), quando formigas perdem o sistema olfativo, se tornam incapazes de se comunicar e relacionar-se com outras de sua colônia, bem como, detectar feromônios de marcação e orientação.

Dentro do ninho, existe um fenômeno denominado como polietismo, onde as operárias, exercem diferentes trabalhos para a manutenção e desenvolvimento da colônia, identificando o estímulo para qual são direcionadas (JEANNE, 2016; BRISOLA, 2017).

Durante o processo evolutivo das formigas o principal meio de comunicação desenvolvido foi o olfativo. As operárias deslocam-se pelo solo para executar atividades de forrageamento, por meio de comunicação e integração de informações, trilhas de feromônios (BOSSERT & WILSON, 1963). Quando um indivíduo encontra uma fonte de alimento e retorna para o ninho, deixa pelo caminho uma trilha, pela qual os demais indivíduos conseguem orientar-se para chegarem até o ponto almejado, permitindo assim a execução da tarefa de forrageamento (WILSON, 1962).

Diferenças na transferência, alcance e na velocidade de informações pode influenciar o tamanho das colônias de insetos eussociais (PACALA et al., 1996). As colônias podem variar de algumas dezenas de indivíduos, como ocorre nas vespas, e dezenas de milhões, no caso de formigas cortadeiras (BRISOLA, 2017).

### **2.1.3 Forrageamento**

As formigas cortadeiras saem em busca de alimento. Para tanto, elas constroem 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, percorrem o mesmo caminho depositando mais feromônios, num processo de retroalimentação até a fonte alimentar e seu ninho (CZACZKES et al., 2015).

Desta forma, o forrageamento consiste na busca de vegetais, seguido do corte em fragmentos e seu transporte até o ninho, para fornecimento dos mesmos 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).

A atividade de forrageamento aumenta à medida que a temperatura reduz, sendo que a maior atividade se 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) concluíram que a temperatura é fator limitante da atividade e intensidade de forrageamento durante o dia.

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

Os padrões de forrageamento variam muito com a sazonalidade (DELLA LUCIA & OLIVEIRA, 1993; RIBEIRO & MARINHO, 2011). Em um estudo realizado com *A. 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, enquanto que no inverno, o número de operárias se correlacionou negativamente com a umidade relativa do ar. Além disso, os autores sugeriram 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 *A. sexdens* em um cultivo de eucalipto na Mata Atlântica, entre os meses do ano, caracterizando ausência de sazonalidade. Contudo, observou que a atividade de forrageamento aumenta à medida que a

temperatura diminui, ocorrendo preferencialmente entre 19° e 23°C. Costa et al. (2008) verificaram certa sazonalidade no forrageamento de *A. laevigata*, em área do Cerrado, porém não conseguiram concluir sobre o período do ano de maior intensidade de forrageamento.

No entanto, os fatores climáticos, em especial a temperatura pode ser considerada a mais importante, principalmente nos trópicos, onde as mudanças diárias e sazonais nas atividades de forrageamento se relacionam com a temperatura e umidade (JOFRÉ & MEDINA, 2012).

#### **2.1.4 Danos de natureza econômica**

As formigas cortadeiras são uma das principais pragas da América Latina em áreas de reflorestamentos (NIKELE et al., 2012), na agricultura (CIESLA, 2011) e em pastagens (REIS FILHO et al., 2013).

Segundo Reis Filho et al. (2013) as áreas de manejo de integração lavoura-pecuária-florestas (produção agrossilvipastoril) são altamente suscetíveis ao ataque de formigas cortadeiras, por ocorrerem em maior densidade em áreas abertas, sendo o componente arbóreo o mais vulnerável, especialmente as mudas.

Um saubeiro adulto em área de reflorestamento pode consumir até 1 tonelada de folhas de eucalipto por ano, o que equivale à produção anual de folhas de 86 árvores adultas, o que resulta em uma taxa de 20% no replantio. Em cultivos de eucalipto, os danos representam 30% dos gastos com o manejo até o terceiro ciclo (REIS FILHO et al., 2013, SANTOS, 2014). No cultivo de pinus, o ataque é mais intenso após 30 dias do plantio e plantas com 75% de desfolha não apresentaram mortalidade. No mesmo nível de ataque, em plantas de eucalipto houve 5% de mortalidade, sendo que a desfolha afetou mais o diâmetro do que a altura das plantas (REIS FILHO et al., 2011; NIKELE et al., 2012).

Em cultivos de cana-de-açúcar, um ninho em uma área de 1 hectare causa perdas de até 3 toneladas ou o equivalente a 450 kg de açúcar/ha ou 300 litros de álcool/ha. Em áreas com pastagem a presença de

10 saúveiros adultos extrai até 25 kg de forragem por dia (REIS FILHO et al., 2013; SANTOS, 2014).

Existem prejuízos indiretos resultante da erosão do solo, perda de fertilidade pela exposição de porção da camada menos fértil à superfície, danos físicos aos animais e implementos agrícolas, assim como a desvalorização do valor venal da propriedade devido à infestação deste inseto na propriedade (DELLA LUCIA, 1999).

## **2.2 Manejo de Formigas**

O controle tradicional de formigas com inseticidas, apesar de sua eficiência, tornou-se um problema devido à toxicidade não seletiva dos princípios ativos como, por exemplo, o fipronil e com a proibição do uso de sulfluramidas pelo protocolo de Estocolmo que entrou em vigor em 17 de maio de 2004, tornando-se necessária a busca por alternativas.

O controle biológico de formigas cortadeiras envolve a utilização dos inimigos naturais ou predadores, entomopatógenos e parasitas para o seu controle. Esse método, quando denominado aplicado, ou seja, com a influência do homem, depende normalmente da conservação e adequação do ambiente natural às necessidades dos inimigos naturais ou através da introdução de organismos que possam competir por fatores importantes às formigas (ANJOS et al., 1998; OLIVEIRA, 2006; STEFANELLI et al., 2021), ou mesmo utilizá-las como substrato alimentar ou até para completar parte de seu ciclo biológico no seu corpo.

### **2.2.1 Controle Químico**

O controle químico é o mais utilizado. Iscas à base de sulfluramida no controle se saúvas que cortam dicotiledôneas resultaram de 90 à 100% de mortalidade dos ninhos. Whilte (1998) afirma que iscas à base de fipronil com 0,2% de ingrediente ativo também é eficiente para o controle de *Acromyrmex octospinosus* (Reich, 1793) e *A. cephalotes*.

Forti et al., (2003) observaram que a sulfluramida é mais eficiente que o fipronil para o controle de *A. capiguara*, com diversos relatos da eficiência da mesma no controle de saúvas (ZANUNCIO et al., 1992; CRUZ, 1996; ZANETTI, et al., 2003). Zanetti et al. (2003) compararam diferentes marcas comerciais de iscas à base de sulfluramida (0,3%) e observaram que houve respostas semelhantes quanto ao carregamento e que todas tiveram boa aceitação.

No entanto, os produtos químicos podem causar impactos econômicos (custos com mão de obra, produtos e equipamentos) e ambientais (no solo, água, fauna e flora). 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 e metam-sódico (MAPA, 2023). 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, 2023), o que restringe ainda mais o controle.

No Brasil a principal forma de controle de formigas cortadeiras é baseada em iscas tóxicas. As iscas granuladas atrativas são amplamente usadas pois são 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 e incorporando as mesmas no jardim de fungo simbiote, esperando-se que ocorra a disseminação do princípio ativo entre as operárias que participam deste processo ao manipularem a isca (DELLA LUCIA & VILELA, 1993).

As iscas são compostas basicamente por dois ingredientes ativos: sulfluramida ou fipronil. No entanto, não estão sendo eficientes para controlar as espécies de *Atta*. 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).

Todavia, a sulfluramida foi classificada como poluente orgânico na Convenção de Estocolmo sobre Poluentes Orgânicos Persistentes (UNITED NATIONS TREATY COLLECTION, 2009), sendo proibida em diversos países devido a proibição do produto perfluorooctane sulfonyl fluoride (PFOSF), intermediário na fabricação de sulfluramida. No entanto, no Brasil, ainda tem sido usada, principalmente pela reduzida opção de princípios ativos específicos para formigas.

Para a sulfluramida, nem todas as formigas se contaminam, proporcionando taxa maior 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 simbiote, levando ao colapso da colônia (BARBOSA et al., 2018).

Alguns inseticidas já foram testados para controle de formigas cortadeiras, como o clorpirifos (FORTI et al., 2003), diflubenzuron e dechlorane (NAGAMOTO et al., 2007), mas sem sucesso na fabricação e comercialização deles como iscas formicidas. No entanto, diafentiuron tem sido apresentado como um formicida promissor. Sua atividade contra outros grupos de insetos e ácaros é conhecida, sendo seu mecanismo de ação em insetos semelhante ao da sulfluramida. Existe um apelo social e agrônomo por inseticidas menos prejudiciais aos ecossistemas agrícolas, mas eficazes quando formulados como iscas granuladas tóxicas (BARBOSA et al., 2017).

A sulfluramida pertence ao grupo químico das sulfonas fluoralfáticas, e, segundo a Organização Mundial da Saúde, é classificada como pouco perigosa. Age por ingestão nos insetos, 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 e menos agressivo (BRUGGER et al., 2009).

O fipronil pertence ao grupo químico fenil-pirazol, atuando por ingestão e seu mecanismo 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, 2009). No entanto, apresenta toxicidade significativa em sistema aquático, sendo necessário o cuidado no manejo da água de irrigação (NAKAGOME et al., 2006).

A permetrina e a deltametrina pertencem ao grupo químico dos piretróides, com amplo espectro de atividade, ação rápida, eficiência em baixa dose, baixo poder residual no ambiente e baixa toxicidade para mamíferos e pássaros. Todavia, são neurotóxicos para peixes e crustáceos (SANTOS et al., 2007; VIEIRA et al., 2018). 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<sup>+</sup> 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 piretróide à base de deltametrina 0,2%, sendo o único produto comercial liberado no Paraná, nesta modalidade, e tem sido indicado para controle de cortadeiras, na dose de 10 g do produto comercial por m<sup>2</sup> de formigueiro (ADAPAR, 2023). 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 melhor recomendado para ninhos pequenos. Segundo Zanetti et al., (2003) podem ser considerados ninhos pequenos aqueles de até 5m<sup>2</sup>.

Recomenda-se a termonebulização para controle de formigueiros grandes em áreas amplas de reflorestamento ou onde o uso de iscas é inviável. Além de comumente eficiente, a sua aplicação pode ser feita em qualquer época do ano. As limitações deste método é o elevado custo de aquisição dos termonebulizadores, manutenção do equipamento e a necessidade de profissionais capacitados para operá-lo.



A isca granulada é mais usual entre os agricultores, oferecendo maior segurança ao operador, dispensa mão de obra e equipamento especializado, além de permitir o tratamento dos formigueiros em locais de difícil acesso (PETERNELLI et al., 2008). São constituídas de um substrato atrativo (polpa cítrica desidratada) em mistura com um princípio ativo tóxico, em pelletes. O inseticida é dissolvido em óleo de soja refinado e incorporado ao substrato (ABRAISCA, 2023). Entretanto, pode-se utilizar folha de eucalipto, farinha de mandioca, farinha de trigo e melaço de cana (BOARETTO & FORTI, 1997).

### **2.2.2 Controle Biológico**

O controle biológico consiste em emprego de predadores, parasitoides e microrganismos que utilizam a formiga cortadeira como hospedeira. Sabe-se que faixas de vegetação nativa, margeando plantações de *Eucalyptus* spp., reduzem a densidade de saúveiros, possivelmente por fornecer abrigo aos inimigos naturais de saúvas (ZANUNCIO, 1998; ZANETTI et al., 2000).

Silveira et al. (2006) e Forti et al. (2012) verificaram que rainhas de *Atta* spp., ao caírem no solo, em busca de um local para a formação da nova colônia, podem ser atacadas pelo besouro Scarabaeidae (*Canthon virens*), sendo que até 6 besouros podem atacar uma única tanajura. Entretanto o uso potencial dessa espécie para o controle biológico é inviável, uma vez que o potencial reprodutivo das fêmeas predadoras é baixo (FORTI et al., 2012).

Almeida et al. (2021) observaram a presença de espécies Phoridae, parasitoides de formigas cortadeiras quenquéns em Londrina – Paraná, presentes também em formigas saúva limão.

### **2.2.3 Controle por fungos entomopatogênicos**

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, que é o “coração da colônia”, através de controle biológico com fungos entomopatogênicos.

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* sp. e *Beauveria* sp., 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).

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 preteolíticas com atividade quitinolítica (LEAL et al., 1998). 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 esta 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).

Foram observados em estudos realizados por Stefanelli et al. (2021) que os fungos *Beauveria bassiana* e *Trichoderma harzianum* resultaram no controle de operárias, larvas e pupas. Desta forma, comprovando ação entomopatogênica de *T. harzianum* em formigas *Atta sexdens rubropilosa* sp.

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

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.

O efeito dos fungos *Beauveria bassiana* (Bals.-Criv.) Vuill, e *M. anisopliae* foi estudado em colônia de laboratório de *Atta sexdens*, associados a 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 susceptíveis, elevando a taxa de mortalidade (SANTOS et al., 2007).

As empresas também têm produzido estes agentes com fins comerciais, como o caso do Boveril® e do Metaril®, inseticidas microbiológicos que também são usados para as seguintes pragas: cigarrinha das raízes, (*Mahanarva fimbriolata*, Stål 1854), mosca branca (*Bemisia tabaci*, Gennadius 1889), broca do café (*Hypothenemus hampei*, Ferrari 1867), ácaro-rajado (*Tetranychus urticae*, Koch 1836), gorgulho do eucalipto (*Gonipterus scutellatus*, Gyllengal 1883), liberados para serem aplicados em todas as culturas, nas quais estas pragas ocorrem.

No caso das formigas cortadeiras, o comportamento de limpeza das mesmas 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 bastante 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 bióticos, também são fatores a serem considerados no caso do controle de formigas. São várias as estratégias adotadas pelas colônias para defender a população dos inimigos naturais. Estas pragas desenvolveram uma glândula (metapleurálica), capaz de anular a ação patogênica de inúmeros microorganismos do meio em que habitam. Ou seja, através das secreções destas, por exemplo, impedem a germinação de fungos, que poderiam se aderir ao tegumento das operárias (VIEIRA et al., 2012; TRAVAGLINI, et al. 2016b).

### **2.2.3.1 Controle de insetos-pragas por *Beauveria bassiana***

Este fungo foi utilizado no Brasil em diversos programas de controle biológico, para o controle de cupim de montículo do gênero *Cornitermes*, com aplicações inundativas, mosca branca (Hemiptera: Aleyrodidae), ácaro rajado (Acari: Tetranychidae) (ALVES et al., 2008), iscas atrativas para o controle de coleópteros Curculionidae em cana e banana (LOPES et al., 2013), e o uso de propágulos fúngicos associados a armadilhas para controle de *Hypothenemus hampei* (Ferrari, 1867) (MOTA, 2013).

*B. bassiana* ocorre de forma enzoótica e epizoótica e pode ser encontrado em inúmeras espécies de artrópodes. Apresenta conídios globosos, verrugosos, capazes de colonizar o hospedeiro, em média, em 72 horas. Temperaturas entre 22 e 26 °C favorecem o crescimento de linhagens, assim como um ambiente com umidade superior a 80%, favorece a germinação do fungo, deixando o cadáver coberto por uma muscardine branca, resultado do desenvolvimento das hastes e das fiáldes do micélio (ALVES, 1998).

No processo de infecção, ocorre a liberação de metabólitos secundários, a beauvericina, não sendo relacionado ao seu crescimento ou desenvolvimento, mas sim à virulência e patogenicidade. A germinação dos conídios de *B. bassiana* ocorre geralmente após 12 horas da inoculação e a colonização após três dias, quando o inseto já apresenta uma grande quantidade de conídios (ALVES, 1998).

Estudos identificaram a ocorrência de *B. bassiana* isolado de operárias de *A. sexdens piriventris* (Santschi, 1919) (DIEHL-FLEIG et al., 1992) e em rainhas de *A. sexdens* (ALVES & SOSA GÓMEZ, 1983). Nos ninhos, a sua presença é mais acentuada nos locais de deposição do lixo das colônias (HUGHES et al., 2004).

Castilho et al. (2010) testaram em saúvas do gênero *Atta* a ação de isolados do fungo em laboratório. Obtiveram mortalidade superior a 50% dos soldados após 72 horas de inoculação. A mortalidade de 100% dos soldados de *A. bisphaerica* ocorreu 72h após a inoculação, sendo causada por um isolado de *M. anisopliae* e um de *B. bassiana*.

Loureiro e Monteiro (2005) observaram maior agressividade de *B. bassiana* que *M. anisopliae* em *Atta sexdens*, sendo observado um TL50 de 2,60 e 2,72 dias para os isolados JAB 06 e AM 9, respectivamente e, a esporulação em cadáveres após 15 dias da inoculação não passou de 42%.

A exposição de formigas *A. sexdens* ao fungo *B. bassiana* permitiu que o processo de penetração das hifas no interior do corpo das larvas levasse um tempo menor do que 48 horas, uma vez que os imaturos ainda não têm a cutícula totalmente esclerotizada. Para os adultos, foi menor do que 72 horas, possivelmente por possuírem o seu tegumento totalmente esclerotizado (TRAVAGLINI, 2017), demonstrando que o uso do fungo patogênico é mais eficiente quando em contato com os organismos mais jovens da colônia.

### **2.2.3.2 Controle de insetos-pragas por *Metarhizium anisopliae***

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 a 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 priorizando-se a produção de conídio em meio artificial, de alta virulência e resistência à radiação UV (TRAVAGLINI, 2017).

Pertence à família Moniliaceae que persiste no solo em sua estrutura de resistência. O conídeo é uninucleado e oblongo, sendo que a temperatura média de  $27 \pm 1$  °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 metabolitos secundários, que apresentam atividade inseticida, levando o hospedeiro a morte (BIDOCHKA et al., 2005).

A atividade alimentar de adultos de ninhos de *A. sexdens piriventris* 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 em ocorrência natural em formigas identificaram e *A. sexdens* a presença de *M. anisopliae* (ZARZUELA, 2007). Quando ocorrem, geralmente estão associados as colônias, prevalecendo próximo aos ninhos, podendo ocorrer mais de 20 espécies (HUGHES et al., 2004).

Castilho et al. (2010) testaram em saúvas do gênero *Atta* a ação de isolados do fungo 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, crescendo sobre 77,5 e 66,7% dos cadáveres de soldados de *A. bisphaerica* e *A. 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 *A. sexdens*.

Em laboratório, iscas a base de *M. anisopliae*, *T. viride* e a combinação de ambos, promoveram 100% de mortalidade das colônias de *A.*

*cephalotes*. Quando testado 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).

#### **2.2.4 Uso de iscas granuladas contendo fungos**

A crescente rejeição das formigas por iscas granuladas, aliado a baixa eficiência das mesmas, tem motivado os pesquisadores a estudar materiais que possam ser adicionados à matriz das iscas, para aumentar sua atratividade, principalmente aqueles derivados de extratos vegetais (RAMOS et al., 2006), possibilitando também encrustar outros mecanismos de ação a elas, tornando uma alternativa de controle.

Sob condições experimentais os fungos entomopatogênicos tem sido ofertado 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).

Uma grande dificuldade é a criação de formulações, que é a mistura do ingrediente ativo, o fungo, com outros compostos que visem a estabilização, manutenção e proteção, a fatores de degradação ambiental, do agente de controle biológico (MICHEREFF FILHO et al., 2009). Assim, no desenvolvimento de uma isca microinseticida para formigas cortadeiras, é preciso que a mesma seja muito atrativa, e os esporos sejam preservados da ação ultravioleta e da umidade (SILVA, 2016).

Maior rapidez no carregamento de iscas certamente implica em menor exposição das mesmas às condições climáticas adversas, a roedores, aves, insetos benéficos e outros animais presentes na área, com isso, pode-se aumentar a 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 os mecanismos de defesa coletivo.

Esse tipo de controle é efetivo, porém necessita de um período prolongado, para que a colônia seja contaminada (LOPEZ & ORDUZ, 2003).

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

Silva (2016) encrustou o fungo *Trichoderma harzianun* (Rifai, 1969) em iscas a base de farelo de trigo e suco de laranja como atrativo, oferecendo para colônias de laboratório de *A. 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 simbionte, com maior mortalidade dos indivíduos da colônia.

Em colônias de *A. cephalotes* foi verificado a aceitação e o carregamento de iscas formuladas a base de *M. anisopliae* e *Trichoderma viride* (Persoon, 1794). Com a combinação destes fungos, observou-se que nas duas semanas iniciais das aplicações houve redução de forrageamento, não observando a rejeição das iscas (LOPEZ & ORDUZ, 2003).

Na confecção das iscas, 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, além de boas características qualitativas (DELABIE et al., 2000).

### **2.3 Fungo *Leucoagaricus gongylophorus***

O fungo *Leucoagaricus gongylophorus* (Singer), mantido em simbiose por formigas cortadeiras da Tribo Attini, pertence ao Filo Basidiomycota, identificado como fungos que produzem basidiósporos (meiósporo), gerado em um basídio.

Por não possuírem uma frutificação, estes fungos possuem taxonomia complexa e questionada por taxonomistas especializados (BORBA



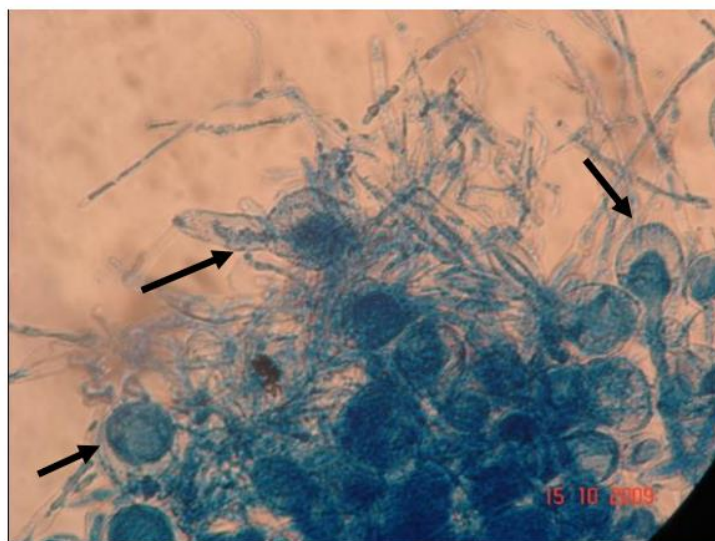
et al., 2006). Apresentam velocidade lenta no seu desenvolvimento e dividem o substrato alimentar com diversos microrganismos, dificultando sua identificação (SILVA-PINHATI et al., 2005)

Brancher (1993) avaliou morfologicamente o fungo simbiote das espécies *A. heyeri*, *A. ambiguus* e *A. sexdens piriventris* e descobriu diferenças para o comprimento e diâmetro de hifas para o fungo destas espécies, assim como isolados oriundos da mesma espécie de formiga.

Alguns fatores abióticos são extremamente importantes para o desenvolvimento deste fungo, a temperatura é um exemplo da alta interferência no crescimento de micélios e a germinação de conídios e esporos e estabelecimento (YENDOL, 1968; ALVES & NOGUEIRA, 1984).

Meios de cultura para estabelecimento *in vitro* do fungo *Leucoagaricus gongylophorus* são estudados para acelerar seu desenvolvimento e proporcionar maiores detalhamentos e interações. PAGNOCCA et al. (1990) promoveram melhor estabelecimento do fungo de formigas cortadeiras e é utilizado como padrão de estudos.

Loeck et al. (2004) testaram quatro meios de cultura diferentes (Celulose-asparagine, V8 juice ágar, M&S e Pagnocca) para o desenvolvimento do fungo simbiote de *A. heyeri* e *Atta sexdens piriventris*, resultando maior crescimento para o meio Pagnocca.



**Fonte:** Freitas, (2010).

**Figura 2.** Fungo simbiote cultivado por *Acromyrmex crassispinus* Forel, 1909.

Estudos de meios de cultura para estes fungos podem colaborar e acelerar processos de descobertas, em laboratório, visando controle de ninhos de formigas cortadeiras. Para isto, extratos naturais aditivos, em meios de cultura, considerando-se espécies vegetais de forrageamento local das formigas, podem promover esta melhoria no estabelecimento *in vitro* do fungo.

## ARTIGO 1. ISCAS FORMICIDAS PARA CONTROLE BIOLÓGICO DE *Atta sexdens*

### Resumo

A busca por ingredientes atrativos mais eficientes e a utilização do controle biológico podem aumentar a capacidade de controle da saúva limão. Com isto, o objetivo deste trabalho foi elaborar iscas atrativas extrusadas, revestidas com microrganismos entomopatogênicos para controle de *Atta sexdens*. Iscas foram extrusadas com materiais vegetais acessíveis, a fim de facilitar sua produção, assim como, testada sua eficiência em atração em quatro variações de formulação e ingredientes, iscas com amido, micronizado de aveia, farinha de aveia e farinha de aveia adicionando essência de eucalipto. A formulação com contendo farinha de aveia sem adicional de essência resultou em maior atratividade e por este motivo foi revestida com fungos entomopatógenos, *Beuveria bassiana*, *Metarhizium anisopliae* e a junção de *Metarhizium* com *Trichoderma harzianum* para aplicação em ninhos a campo e avaliação da redução de atividade de forrageamento e total dos ninhos nos períodos de 10, 20, 40 e 60 dias após a aplicação. A iscas que proporcionaram maiores reduções foram as contendo *Metarhizium* com *Trichoderma* e a somente *Metarhizium*, com reduções acima de 90% aos 60 dias para forrageamento e atividade total.

Palavras chave: formigas cortadeiras, saúva limão, inseticida biológico.

### 1. INTRODUÇÃO

Os gêneros de formigas cortadeiras – *Atta* Fabricius, 1805 e *Acromyrmex* Mayr, 1865 (Hymenoptera: Formicidae) são os mais presentes em cultivos comerciais, com destaque para o primeiro, com tamanhos maiores de ninhos e maior complexidade em suas colônias. Para o cultivo do fungo simbionte, *Leucoagaricus gongylophorus* Heim, 1957, operárias destas espécies cortam frações frescas vegetais de diversas espécies de plantas que possuem importância econômica e assim são consideradas pragas nos setores agrícola, florestal e pecuária (FOWLER et al., 1989; DELLA LUCIA, 2011; MONTOYA LERMA et al., 2012; REIS FILHO et al., 2013; MUELLER et al., 2018).

Sabe-se que a contaminação das formigas pode ser realizada

no contato direto com iscas atrativas tóxicas, com sinergia por comportamentos realizados no jardim de fungo e indiretamente em atividades de limpeza, comportamento importante sendo individual (“self-grooming”) e social (“allogrooming”) (BRITTO et al., 2016, CAMARGO et al., 2017).

A busca por materiais e ingredientes com maior poder de atratividade vem sendo estudados para driblar a rejeição de formigas pelas iscas de forma que os extratos vegetais estão sendo pesquisados para aumentar a aceitação e carregamento para os ninhos, podendo inserir extratos inseticidas e fungicidas para maior qualidade e amplitude atuação das iscas (RAMOS et al., 2006).

O controle de biológico de pragas agrícolas é uma estratégia ecologicamente viável, realizado com a utilização de inimigos naturais, como por exemplo, fungos entomopatogênicos. A contaminação dos insetos pelos esporos fúngicos pode ocorrer via oral pelo inseto, via espiráculos ou no tegumento. Sob situações favoráveis, o esporo do fungo atravessa o tegumento e germina, iniciando a produção de hifas no interior do corpo do inseto, produzindo toxinas e enzimas na hemolinfa, podendo matar o hospedeiro (ALVES, 1998).

Colaborando para a busca do controle biológico eficiente, com redução de impactos para o ambiente e segurança do homem, objetivou-se elaborar iscas atrativas extrusadas, revestidas com fungos entomopatogênicos, para uso no manejo da formiga saúva limão.

## **2. MATERIAL E MÉTODOS**

Os experimentos foram realizados nos laboratórios de entomologia e tecnologia de alimentos da Universidade Estadual de Londrina (UEL), laboratórios da Usina Biológica/VITTIA e trabalhos a campo foram conduzidos nos municípios de Londrina-PR, Paraopeba-MG e Caetanópolis-MG, com ninhos possuindo olheiros ativos e forrageamento.

## 2.1 Iscas granuladas

As iscas foram produzidas na Universidade Estadual de Londrina utilizando-se dos materiais descritos na Tabela 3, com quatro diferentes formulações modificadas de Brito, (2018), descritas na Tabela 4. Os materiais foram processados em extrusora monorroscas (modelo EL-25, BGM, Brasil) composta por uma rosca de 25 mm de diâmetro (L/D=30, largura 750 mm), motor de 5 CV e quatro zonas de aquecimento. Para o processamento do material e obter o perfil cilíndrico, foi utilizado o perfil de temperatura de 90°C/120°C/120°C/100°C e velocidade da roca de 35 rpm. Os perfis cilíndricos foram processados em pellets de 3 a 4 mm de diâmetro utilizando-se o granulador.

**Tabela 3.** Componentes utilizados para produção de iscas granuladas.

<b>Componentes</b>	<b>Descrição</b>	<b>Fornecedor</b>
Amido	Amido de Milho	Apti Alimentos (Brasil)
Glicerol grau técnico	Glicerol	Sinth (Brasil)
Poli (adipato co-tereftalato de butileno)	PBAT	Basf (Alemanha)
Farinha de Aveia	Farinha	Quaker (Brasil)
Casca de Aveia Micronizada	Fibras	SL Alimentos (Brasil)
Essência de Eucalipto	Essência Aromatizante	Coala (Brasil)

**Tabela 4.** Composição de iscas granuladas produzidas.

<b>Formulação</b>	<b>Componentes</b>
F1	50% de amido, 30% PBAT e 20% glicerol.
F2	40% de amido, 30% PBAT, 20% glicerol e 10% casca de aveia micronizada.
F3	40% de amido, 30% PBAT, 20% glicerol e 10% farinha de aveia.
F4	39,5% de amido, 30% PBAT, 20% glicerol, 10% farinha de aveia e 0,5% essência de eucalipto.

Para avaliar a atratividade das iscas com diferentes composições, foi realizado um bioensaio em quatro ninhos de saúva-limão, priorizando-se o período com maior atividade de forrageamento. Foram colocados 5 gramas de iscas para cada formulação, dispostos lado a lado ao

longo da trilha, distantes em 10 cm uma da outra, sendo a posição trocada aleatoriamente a cada ninho (DELABIE; DELLA LUCIA; PASTRE, 2000). Para cada isca formulada foi registrado o tempo (em segundos) para a primeira isca carregada e a quantidade carregada durante 20 minutos, conforme Della Lucia et al. (1992), com pequenas modificações.

O delineamento foi em blocos casualizados, cada ninho corresponde a um bloco. O tempo e quantidade carregada, entre as diferentes iscas formuladas, foram submetidas a análise de variância e a comparação de médias de Tukey, a 5% de significância.

## **2.2 Iscas granuladas com entomopatógenos**

A isca de farinha de aveia (F3) foi escolhida por sua atratividade superior e foi revestida com agentes entomopatógenos comerciais *Beauveria bassiana* ESALQ PL63 (Koppert: Boveril<sup>®</sup>) *Trichoderma harzianum* (Koppert: Trichodermill<sup>®</sup>) e *Metarhizium anisopliae* ESALQ E9 (Koppert: Metarri<sup>®</sup>) em forma de pó molhável, com auxílio de Glicerina Bidestilada P.A (Dinâmica<sup>®</sup>) para aderência. As iscas inoculadas com microrganismos apresentaram contagem mínima de  $2,0 \times 10^{-5}$  UFC/g de pellet conforme Brito (2018). Para comparação da eficácia, utilizou-se como controle a isca formicida Fortex<sup>®</sup> da empresa Biocarb Indústria Química (Brasil) que possui o princípio ativo sulfluramida 0,3% em sua composição.

## **2.3 Atividade dos ninhos**

A atividade do ninho foi definida segundo metodologia proposta por Nikele et al. (2008) e foi dividida em atividade de forrageamento e atividade total. A atividade de forrageamento foi determinada por meio da contagem de formigas presentes em 50 cm da trilha de forrageamento, com distância mínima de 2 metros do olheiro ativo. Para atividade total, foi considerada a quantidade de formigas que atravessam o olheiro ativo ambas atividades no tempo de 3 minutos.

## **2.4 Validação das iscas em campo**

A eficácia das iscas foi validada em quatro ninhos por tratamento, cada ninho representando uma repetição. Após mensurado a atividade de forrageamento e total, foi disponibilizada 200 g de isca contendo entomopatígeno, ao lado da trilha de forrageamento, distante 2,5 metros do olheiro ativo. A quantidade de isca foi dividida para dois olheiros por ninho.

A redução do percentual de atividade de forrageamento e da atividade total, foi calculada comparando a atividade de cada ninho na data de aplicação das iscas com as avaliações realizadas após 10, 20, 40 e 60 dias, após a aplicação (DAA) das iscas.

A porcentagem de avaliação de rejeição ao carregamento e/ou devolução foi determinada 48 horas após a aplicação das iscas, comparando-se o peso das iscas rejeitadas em relação a quantidade aplicada.

## **3. RESULTADOS E DISCUSSÃO**

### **3.1 Atratividade de iscas com diferentes composições**

Foram selecionados ninhos ativos nas proximidades da Universidade Estadual de Londrina (23°19'35.3"S; 51°12'22.0"W) para o teste de atratividade, mensurando-se atividades de forrageamento, com valores médios de 132 indivíduos por metro de trilha em forrageamento e 188 indivíduos em atividade total, no olheiro principal.

As iscas produzidas foram atrativas, em sua totalidade, nos quatro ninhos escolhidos, validando o potencial de atração das formulações e reconhecimento das substâncias como adequadas para forrageamento. Este comportamento corrobora com estudos realizados por Barros (2013), onde formigas do gênero *Atta* forragearam diversos materiais, apresentando comportamento polívago para cultivar o fungo simbiote.

Sabe-se que os formigueiros podem apresentar memória, relacionada às contínuas exposições às iscas comerciais, indicando aprendizado de formigas em detectar e identificar compostos químicos nocivos

e benéficos à sua sociedade, conforme descrito por Marinho; Della Lucia; Picanço (2006). Desta forma, é viável a hipótese que novos compostos nas iscas contribuem para melhor aceitação de carregamento para o ninho. Neste sentido, as formulações de iscas F1, F2, F3 e F4 não apresentaram rejeições no carregamento.

O menor tempo (433 segundos) para o início do carregamento e maior quantidade carregada (78 iscas) foi verificado para iscas que continham em sua composição farinha de aveia sem essência de eucalipto (F3), a quantidade carregada foi 6,5 vezes superior à isca comercial (FC).

**Tabela 5.** Tempo para carregamento do primeiro grânulo de isca e quantidade carregada.

<b>Formulação da isca</b>	<b>Tempo para carregamento da primeira isca (segundos)</b>	<b>Quantidade total de iscas carregadas</b>
F1	726 <sup>b</sup>	16 <sup>d</sup>
F2	442 <sup>a</sup>	37 <sup>c</sup>
F3	433 <sup>a</sup>	78 <sup>a</sup>
F4	730 <sup>b</sup>	47 <sup>b</sup>
FC	810 <sup>c</sup>	12 <sup>d</sup>

### **3.2 Validação das iscas inoculadas contendo fungos entomopatogênicos**

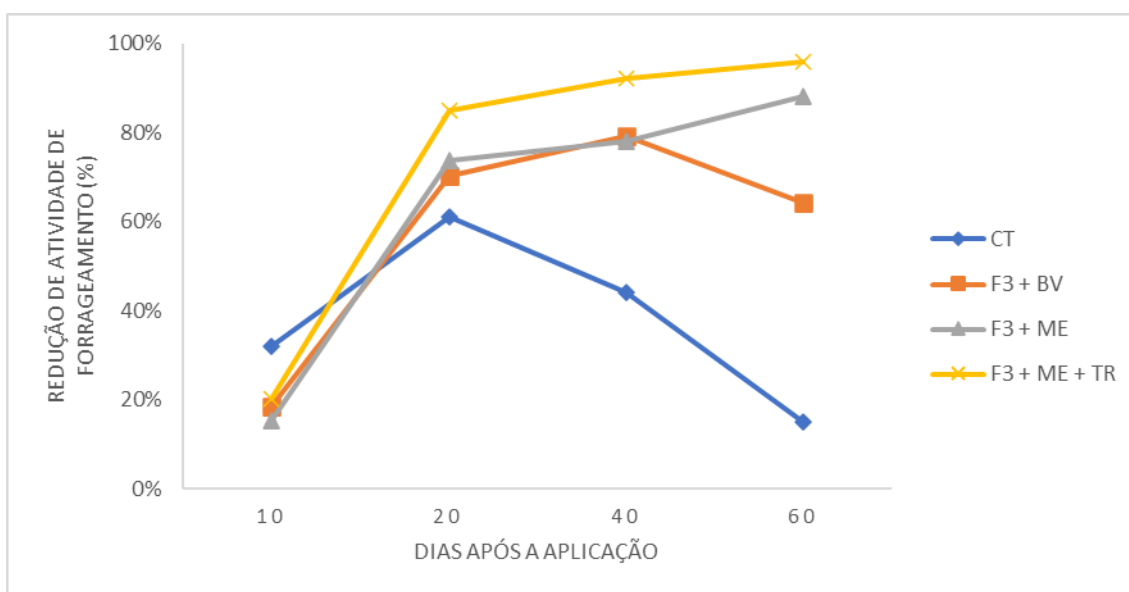
Os ninhos para os tratamentos foram escolhidos devido a atividade de forrageamento, contendo trilhas com operárias carregando materiais para a colônia.

Não foram detectadas rejeição por devoluções e no carregamento em nenhum dos ninhos para todos os tempos de avaliação, sendo as iscas transportadas para dentro do olheiro em sua totalidade após 48 horas. Estes resultados indicam que as formigas não foram capazes de detectar os fungos e que aceitaram os grânulos das iscas, contendo estes microrganismos, como viáveis para alimento do fungo simbiote.



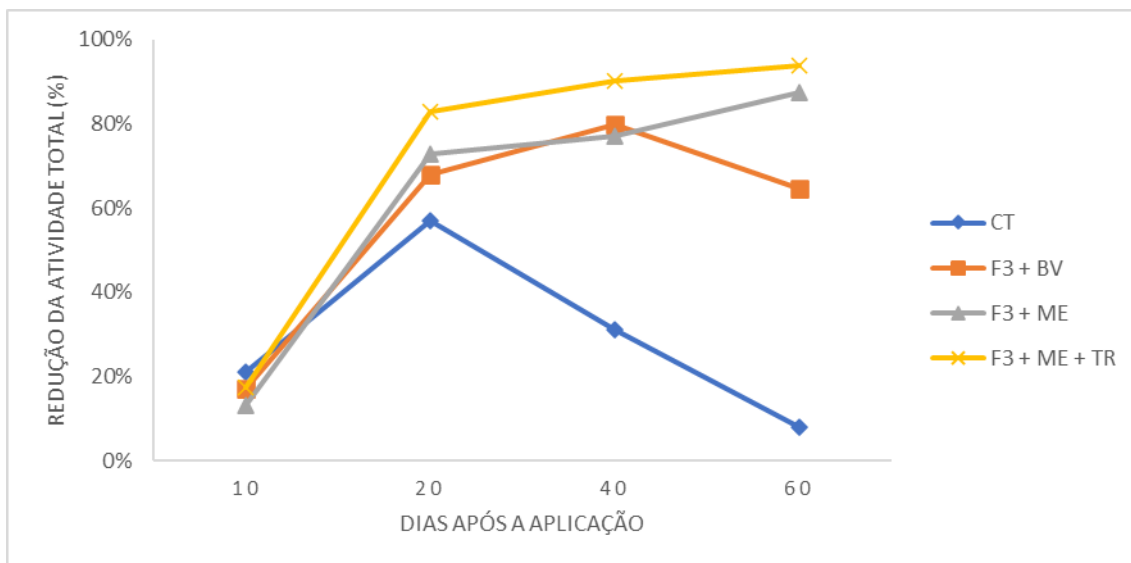
Segundo Dussutor; Simpson (2009), a ausência de rejeição pode indicar a escassez de larvas, aumentando a estocagem de materiais em forma de pellets para reserva de proteínas.

Os resultados da ação das iscas sobre de atividade de forrageamento (Figura 3) e atividade total (Figura 4) demonstram redução em ambas.



**Figura 3.** Redução percentual na atividade de forrageamento nos tempos 10, 20, 40 e 60 dias após a aplicação (DAA). CT = Controle com isclas químicas formicidas; F3 + BV = Isclas inoculadas com *Beauveria bassiana*; F3 + ME = Isclas inoculadas com *Metarhizium anisopliae*; F3 + ME + TR = Isclas inoculadas com *Metarhizium anisopliae* e *Trichoderma harzianum*.

A iscla formulada com farinha de aveia, inoculada com *Metarhizium anisopliae* e *Trichoderma harzianum* (F3 + ME + TR) juntamente com a inoculada somente com *Metarhizium anisopliae* (F3 + ME) não diferiram estatisticamente e foram as que apresentaram melhores resultados, atingindo médias acima de 80% de redução do forrageamento aos 60 DAA. A iscla controle (CT) apresentou maior redução aos 10 DAA, com 32% com o pico aos 20 DAA, atingindo 61% mas reduzindo após este período finalizando com 15% aos 60 DAA, podendo apresentar pouco efeito residual, permitindo o ninho repovoar mais rapidamente sua colônia.



**Figura 4.** Redução de atividade total em percentual nos tempos de 10, 20, 40 e 60 dias após a aplicação (DAA). CT = Controle com iscas químicas formicidas; F3 + BV = Iscas inoculadas com *Beauveria bassiana*; F3 + ME = Iscas inoculadas com *Metarhizium anisopliae*; F3 + ME + TR = Iscas inoculadas com *Metarhizium anisopliae* e *Trichoderma harzianum*.

A redução da atividade total apresentou dados semelhantes ao de forrageamento. Destacou-se a F3 + ME + TR, atingindo 94% com 60 DAA. Desta forma, os microrganismos reduziram a atividade de forrageamento e total dos ninhos e a mistura de *Metarhizium* sp., um agente entomopatogênico, com *Trichoderma* sp., agente fungicida, possivelmente potencializou as reduções de atividades, persistindo até os 60 DAA com os maiores percentuais.

Observou-se aos 10 DAA a presença de formigas operárias com comportamento atípico, apresentando dificuldade motora e desorientação. Além disto, no forrageamento, muitas desviavam-se do percurso movendo-se em círculos, sendo que muitas não retornavam para o ninho. Operárias e soldados apresentavam “self grooming” (auto limpeza), com tentativas de se limpar com as pernas dianteiras. Shang et al. (2015) descrevem que formigas, quando moribundas, possuem o comportamento solitário e desorientação. Mueller (2011) sinaliza o mesmo comportamento de limpeza com as pernas dianteiras, para espalhar bactérias mutualistas geradas em suas glândulas metapleurais.

Amostras de formigas debilitadas, de cada tratamento, foram coletadas para fins de validação da presença do fungo entomopatogênico. Após inseridos em câmara úmida para incubação, foram confirmados os mesmos agentes utilizados nos tratamentos.

Os resultados colaboram para o avanço do uso de microrganismos entomopatogênicos e fungicidas para o controle de formigas cortadeiras do gênero *Atta*, e corroboram com estudos de Brito (2018) que obteve sucesso na atratividade das iscas e também na redução das atividades dos ninhos estudados.

#### **4. CONCLUSÕES**

A formulação de isca formicida mais aceita para a saúva limão (*Atta sexdens*) é a composta por 40% de amido, 30% PBAT, 20% glicerol e 10% farinha de aveia (F3).

Os tratamentos F3 + ME + TR (Isca + *Metarhizium anisopliae* + *Trichoderma harzianum*) e F3 + ME (Isca + *Metarhizium anisopliae*) possuem capacidade de reduzir atividades de forrageamento e atividade total em até 60 dias após a aplicação podendo ser uma alternativa ao controle com iscas contendo inseticidas químicos.

## ARTIGO 2. INTERAÇÃO DE FUNGICIDAS BIOLÓGICOS E NATURAIS NO DESENVOLVIMENTO DO FUNGO *Leucoagaricus gongylophorus* (LEUCOCOPRINI: AGARICALES).

### Resumo

O controle de formigas cortadeiras possui dificuldades se não atingir a rainha ou o seu fungo simbiote *Leucoagaricus gongylophorus*. Entender melhor o desenvolvimento deste fungo e agentes de controle são importantes para definir estratégias de manejo. Para isto, o objetivo deste trabalho foi testar meios de cultura para estabelecimento de *L. gongylophorus* e a utilização de fungicidas para viabilizar o controle dos ninhos. Para os meios de cultura forma utilizados Pagnocca, BDA (batata, dextrose e ágar) e PDA (peptona, dextrose e ágar) puros e com a adição de solução vitamínica e extratos vegetais de Buxinho (*Buxus sempervirens* L.) e Santa Bárbara (*Melia azedarach* L.), plantas forrageadas na região do norte do Paraná. Inóculos isolados foram inseridos no centro das placas de Petri para avaliação do crescimento radial. Após o estabelecimento do melhor meio de cultura, soluções de fungicidas químico, *Trichoderma harzianum* e ácido salicílico foram inseridos ao meio para avaliação do crescimento radial do fungo simbiote sob interação dos fungicidas. O meio de cultura que obteve maior desenvolvimento radial, em 90 dias, foi BDA puro, sendo escolhido para inoculações com fungicidas. Todos os tratamentos apresentaram potencial de inativação e controle o desenvolvimento do fungo. Em detaque para o tratamento com *Trichoderma harzianum* por se tratar de um agente biológico, podendo beneficiar o manejo integrado de pragas.

Palavras chave: *Atta sexdens*, controle biológico, formigas cortadeiras.

### 1. INTRODUÇÃO

Formigas cortadeiras, *Atta* spp. e *Acromyrmex* sp. (Hymenoptera: Formicidae), cultivam seu fungo simbiote, *Leucoagaricus gongylophorus* (Heim, 1957) (Leucocoprini: Agaricales), constituindo a base para nutrição de toda colônia. Para manutenção do jardim de fungo, as formigas forrageiam diversas plantas cultivadas, sendo consideradas pragas importantes em diversas culturas agrícolas e florestais (BASS; CHERRETT 1994; GARCIA et al., 2003; MUELLER et al., 2018).

Dentro do ninho, as formigas jardineiras são exímias na capacidade de manipular o fungo nas plantas utilizadas como substrato vegetal, otimizando seu desenvolvimento. Transferem o fungo de jardins mais

velhos para os novos, preparando a câmara para acolhê-lo, após, aplicam suas fezes para acelerar o crescimento (MARTIN, 1987; CHERRETT et al., 1989), retirando esporos contaminantes e micélios contaminados (CURRIE; STUART, 2001).

Estudos utilizando-se de extratos de plantas registraram efeitos sobre o desenvolvimento de *L. gongylophorus*, com destaque para folhas de *Acalypha* spp., *Ligustrum* spp., *Eucalyptus* spp., *Citrus* spp., *Melia* spp. e *Alchornea triplinervia*, que quando maceradas e inseridas no meio de cultura, afetaram o desenvolvimento do simbiote (CAMARGO et al., 2003). De acordo com KHOURI et al. (2003), gramíneas forrageiras, em extrato aplicados no fungo simbiote de *Acromyrmex balzani*, influenciaram em seu desenvolvimento, concluindo que o capim pangola (*Digitaria decumbens*) e capim tifton (*Cynodon dactylon*) permitiram crescimento do fungo.

As plantas possuem mecanismos de defesa que podem ser inseticidas e fungicidas. O uso de extratos naturais e substâncias isoladas, como taninos com ação antimicrobiana e terpenoides, com atividade inseticida, podem intensificar estratégias de controle com redução de impactos para o ambiente e ao homem (SANTOS; MELLO, 1999; JOHANN et al., 2007; PESSUTO et al., 2009; RICKLEFS, 2011). Assim como o ácido salicílico, proveniente de reações bioquímicas de plantas, em sua forma isolada promove ação fungicida e inseticida (TAVARES et. al, 2014; JÚNIOR, 2013; FAZAM et al., 2021).

Mehlreter & Valenzuela, (2012) constataram predileção de algumas espécies de samambaias e rejeição de outras pelas formigas cortadeiras *Atta mexicana* (F. Smith, 1858), indicando um reconhecimento de substâncias potencialmente fungicidas. Lancellotti, (2018), comprovou o efeito fungicida da espécie de samambaia *Lastreopsis effusa* (Sw.) através de extrato etanólico, inibindo totalmente o desenvolvimento do fungo simbiote *Leucoagaricus gongylophorus*.

Neste sentido, o objetivo deste trabalho é avaliar o melhor

meio de cultura para desenvolvimento do fungo *Leucoagaricus gongylophorus* e ação de fungicida químico, do fungicida biológico *Trichoderma harzianun* e do ácido salicílico em seu desenvolvimento.

## 2. MATERIAL E MÉTODOS

Os experimentos foram realizados nos laboratórios da Universidade Estadual de Londrina (UEL) e da empresa Usina Biológica Soluções para Agricultura ambos em Londrina,PR.

### 2.1 Estabelecimento dos meios de cultura

O fungo *Leucoagaricus gongyloporus* foi coletado em ninhos da criação do Laboratório de Entomologia da UEL. O experimento foi mantido em câmara climatizada da Usina Biológica em escotofase de 24 horas à 26°C ±1 e 60% ±10 de umidade.

**Tabela 6.** Meios de cultura e extratos utilizados para crescimento de *L. gongylophorus*.

TRAT	MEIOS DE CULTURA	EXTRATOS/SOLUÇÃO
PAG	<b>PAGNOCCA et al. 1990</b>	PURO
PAG + SV	PAGNOCCA	SOLUÇÃO VITAMÍNICA
PAG + BX	PAGNOCCA	BUXINHO
PAG + SB	PAGNOCCA	SANTA BÁRBARA
BDA	<b>BATATA + DEXTROSE + ÁGAR (BDA)</b>	PURO
BDA + SV	BDA	SOLUÇÃO VITAMÍNICA
BDA + BX	BDA	BUXINHO
BDA + SB	BDA	SANTA BÁRBARA
PDA	<b>PEPTONA + DEXTROSE + ÁGAR (PDA)</b>	PURO
PDA + SV	PDA	SOLUÇÃO VITAMÍNICA
PDA + BX	PDA	BUXINHO
PDA + SB	PDA	SANTA BÁRBARA

Para promover o desenvolvimento radial do fungo simbiote, utilizou-se os meios de cultura (Tabela 6) Pagnocca, como padrão (PAGNOCCA et al., 1990) por ser utilizado rotineiramente em estudos, BDA KASVI® (batata, dextrose e ágar) e PDA KASVI® (peptona, dextrose e ágar).

Para verificar a estimulação e possível aceleração do desenvolvimento foram utilizados extratos de Buxinho (*Buxus sempervirens* L.) e Santa Bárbara (*Melia azedarach* L.), por serem espécies vegetais comumente forrageadas na região de Londrina, PR (CHIESA, 2016). Utilizou-se também 5 mL de solução vitamínica (PANIZZI et. al, 2000) em cada repetição, além do meio de cultura puro sem acréscimo de extratos ou substâncias.

Os extratos foram obtidos triturando-se 100g de cada espécie vegetal em 400 mL de água destilada. Após foi filtrado em papel filtro e acrescentado 20 mL no meio de cultura para cada repetição.

Para todos os tratamentos foram realizadas três repetições e o experimento total foi repetido por três vezes, sendo a 1ª repetição realizada para isolamento do fungo. Em fluxo laminar, os meios foram vertidos em placas de Petri de vidro autoclavadas e o *L. gongylophorus* já isolado foi inoculado com discos de 2 mm ao centro da placa contendo o meio e os extratos incorporados. Realizou-se a avaliação a cada sete dias, contabilizado o crescimento radial por 90 dias.

## 2.2 Interferência no desenvolvimento do fungo *Leucoagaricus gongylophorus* à fungicidas *in vitro*.

O meio de cultura que obteve melhor desempenho de desenvolvimento radial do *L. gongylophorus* (BDA puro) foi utilizado para o estudo de interação com fungicidas (Tabela 7).

**Tabela 7.** Fungicidas utilizados para interação com isolados de *Leucoagaricus gongylophorus*.

TRAT	FUNGICIDA	MARCA COMERCIAL
T1	Químico	Fox XPRO – BAYER
T2	<i>Trichoderma harzianum</i>	Tricho-Turbo – VITTIA
T3	Ácido Salicílico	Ácido Salicílico P.A. - Êxodo

A preparação do meio de cultura BDA KASVI® (batata, dextrose e ágar) seguiu a recomendação do fabricante e após, o material foi esterilizado a 121°C por 15 minutos e vertido em placas de Petri (VICTOR et al., 2001). Após solidificar o meio, foram inseridos os agentes fungicidas para cada tratamento. Após o resfriamento do meio, foi inoculado o agente fungicida na concentração de 0,1gL<sup>-1</sup> (COSTA et al. 2015) aguardando a secagem do meio e do fungicida para após inocular disco de 2 mm do isolado de *L. gongylophorus* ao centro da placa. A avaliação foi realizada a cada 7 dias, durante 42 dias, contabilizando-se o crescimento radial do fungo em milímetros.

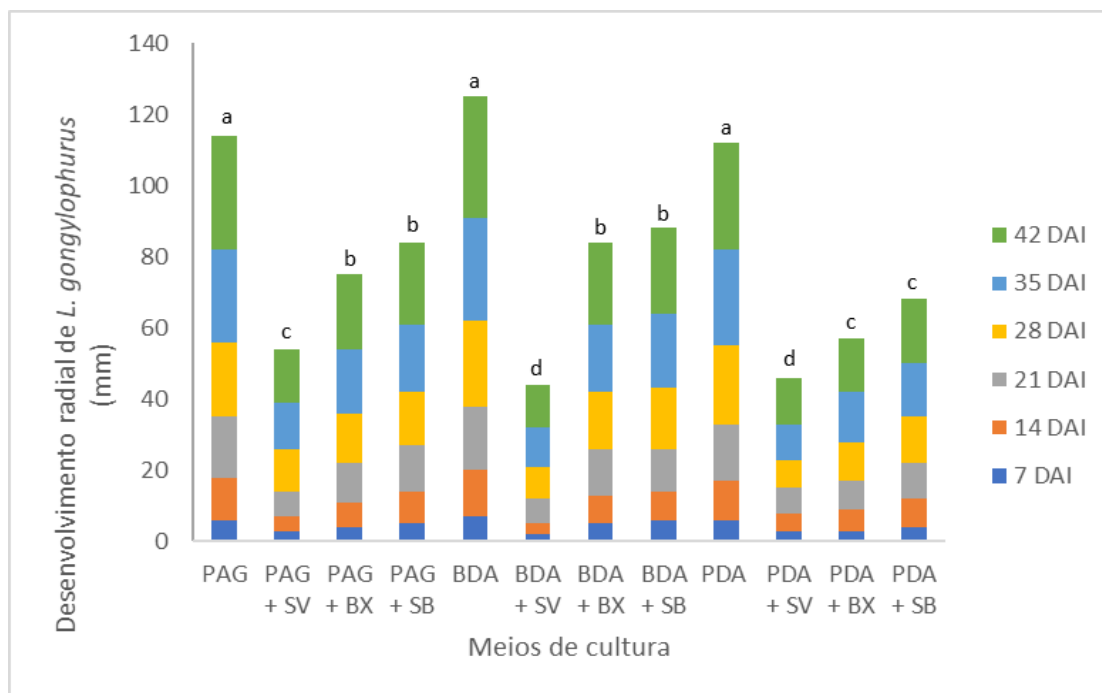
O delineamento experimental foi ao acaso, com três repetições por tratamento e o experimento repetido por duas vezes.

### **3. RESULTADOS E DISCUSSÃO**

#### **3.1 Meios de cultura para desenvolvimento do fungo *Leucoagaricus gongylophorus***

A relação do fungo simbiote com as formigas apresenta coevolução para a seleção do material coletado para alimentação do fungo. Mesmo que os meios de cultura puros tenham obtido melhores resultados (Figura 5), pode ser que o fungo utilizado não tenha ainda familiaridade com os substratos aditivos.





**Figura 5.** Desenvolvimento radial de *L. gongylophorus* em milímetros sob meios de cultura *in vitro*, avaliados em 7, 14, 21, 28, 35 e 42 dias após a inoculação (DAI). PAG = PAGNOCCA; BDA = Batata Dextrose e Agar; PDA = Peptona, Dextrose e Agar; SV = Solução Vitamínica; BX = Extrato de Buxinho; SB = Extrato de Santa Bárbara.

Observou-se um padrão de desenvolvimento do fungo onde os maiores crescimentos radiais, em 42 dias após a inoculação (DAI), resultaram em 34 mm em BDA, 32 mm com PAG e 30 mm para PDA e os resultados inferiores para os meios que continham solução vitamínica (SV) obtendo 12, 15 e 13 mm nos meios BDA + SV, PAG + SV e PDA + SV respectivamente. Estes resultados são semelhantes aos encontrados por Borba et al. (2006) que testaram a velocidade de desenvolvimento do fungo simbiote *L. gongylophorus* em diferentes meios de cultura contendo meios de cultura puros e aditivados com azevém (*Lolium multiflorum*) e tifa (*Typha latifolia*).

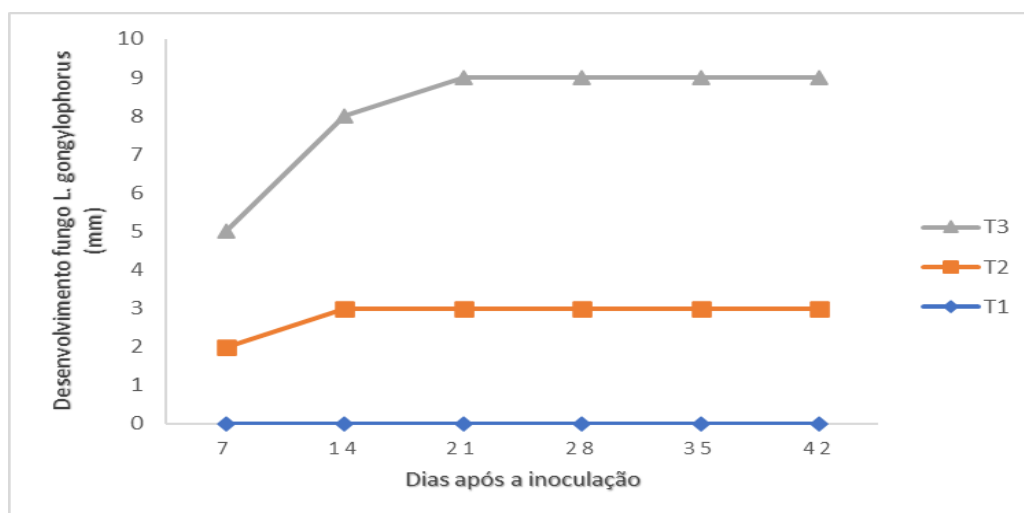
Vários trabalhos são realizados para promover maior rapidez e desenvolvimento do fungo simbiote para facilitar estudos em laboratório dado o comportamento de crescimento lento do mesmo. Khouri et al. (2003) avaliaram o crescimento micelial do fungo simbiote de formigas *Acromyrmex balzany*, obtendo melhores desenvolvimentos em extratos de capim tifton (*Cynodon dactylon*) e capim pangola (*Digitaria decumbens*).

Os extratos vegetais podem afetar diretamente no desenvolvimento de *L. gongylophorus* e muitas características devem ser levadas em consideração, como o tipo de planta forrageada e selecionada para alimentar o fungo, espécie da formiga, ambiente e diversas outras como exemplificado por Camargo et al. (2003) que utilizaram extratos vegetais de *Eucalyptus* spp., *Citrus* spp., *Melia* spp., *Acalypha* spp., *Alchornea* spp. e *Ligustrum* spp., adicionados em meios de cultura, afetando diretamente o desenvolvimento do fungo simbiote.

A interação entre formigas e seu fungo simbiote, do qual se alimentam, é de alta dependência e complexa, podendo datar de mais de 50 milhões de anos, existindo a relação de dependência para seu desenvolvimento, em que um não sobrevive sem o outro (MUELLER; GERARDO, 2002; SCHULTZ; BRADY, 2008; SANTOS; CAZETTA, 2016).

### 3.2 Desenvolvimento do fungo *L. gongylophorus* sob efeito de fungicidas

A inoculação de isolados de *L. gongylophorus* em meios de cultura *in vitro*, contendo fungicidas resultou em controle satisfatório do desenvolvimento do fungo (Figura 6).



**Figura 6.** Desenvolvimento radial de *Leucoagaricus gongylophorus* em milímetros sob meios de cultura *in vitro* contendo fungicidas, avaliados em 7, 14, 21, 28, 35 e 42 dias após a inoculação (DAI). T1 = BDA + químico; T2 = BDA + *Trichoderma harzianum*; T3 = BDA + Ácido Salicílico;

O tratamento com *Trichoderma harzianum* (T2) promoveu crescimento inicial aos 7 DAI de 2 mm e 3 mm aos 14 DAI, com encerramento do desenvolvimento e morte do fungo simbiote nas avaliações subsequentes; neste caso, foi observado competição, onde o agente fungicida ocupou todo o meio de cultura. Já no ácido salicílico (T3), foi observado crescimento até os 14 DAI, atingindo 8 mm, estabilizando em 9 mm aos 21 DAI e após, inativou com a morte do fungo simbiote.

Os salicilatos, como o ácido salicílico (AS) são componentes importantes para a indução de resistência em plantas e desempenham papéis importantes como controle de doenças (Park, Kaimoyo, Kumar, Mosher, Klessig, 2007).

Diversos estudos validam o uso de AS em controle fúngico direto. Lu e Chen (2005) obtiveram resultados positivos quanto ao controle de *Botrytis* sp em folhas de lírios e a aplicação de uma análogo de AS (Asilbenzolar-S-metil), induzindo resistência pós-colheita de frutas (Huang, Deverall, Tang, Wang, & Wu, 2000). Todavia, AS manifestou toxicidade fúngica direta em *Monilinia fructicola* e inibiu o crescimento micelial e a germinação de esporos do patógeno in vitro (Yao & Tian, 2005).

Zancan et al., (2012) comprovam a ação fungicida do agente biológico *Trichoderma harzianum*, onde constatam a inibição total do crescimento da *Sclerotinia sclerotiorum* nas placas de Petri, após um período de aproximadamente 12 dias. Em trabalho de Delgado et al. (2007), diferentes isolados de *T. harzianum* apresentaram variação no grau de inibição do patógeno, embora todos os isolados tenham sido altamente antagônicos.

Com base nestes resultados, o controle biológico, utilizando *T. harzianum* pode ser agregado como prática de manejo integrado para o controle de fungos simbiotes de formigas saúva limão. Mais estudos devem ser realizados para definição de formas de inoculação e administração nos formigueiros.

O fungo simbiote *L. gongylophorus* possui grande importância na alimentação do ninho e, além de induzir diversos comportamentos e ações

dentro de uma colônia, é decisivo na sobrevivência do ninho. Desta forma, reduzir ou controlar este alimento das formigas é de suma importância para o controle e erradicação do ninho.

#### **4. CONCLUSÃO**

Os tratamentos T1 (BDA + Fungicida químico), T2 (BDA + *Trichoderma harzianum*) e T3 (BDA + ácido salicílico) são capazes de reduzir e até inibir o desenvolvimento do fungo simbiote *Leucoagaricus gongylophorus* em meio de cultura, destacando-se o agente biológico *Trichoderma harzianum* (T2), podendo ser agregado ao manejo integrado da saúva limão.

## REFERÊNCIAS

**AGÊNCIA DE DEFESA AGROPECUÁRIA DO PARANÁ.** ADAPAR. 2023. Disponível em: < <http://celepar07web.pr.gov.br/agrotoxicos/pesquisar.asp> > Acesso em: 07 mar. 2023.

**AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA (ANVISA).** Agrotóxico. Consulta de Produtos. Disponível em: < [http://www7.anvisa.gov.br/datavisa/Consulta\\_Produto/rconsulta\\_produto\\_detalle.asp](http://www7.anvisa.gov.br/datavisa/Consulta_Produto/rconsulta_produto_detalle.asp) >. Acesso em 07 de mar. 2023

ALMEIDA, J. E. M.; BATISTA FILHO, A. Controle biológico da cigarrinha-da-raiz da cana-de-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, p. 289-381. 1998.

ALVES, S. B.; LOPES, R. B.; VIEIRA, S. A.; TAMAI, M. A. Fungos entomopatogênicos usados no controle de pragas na América Latina. In: ALVES, S. B.; LOPES, R. B. (Eds.). **Controle microbiano de pragas na América Latina**. Piracicaba: FEALQ, 2008. p. 69-110.

ALVES, S.B.; NOGUEIRA, N.L. Efeito da temperatura na germinação e viabilidade do *Metarhizium anisopliae* (Metsch.) Sorok. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE ENTOMOLOGIA, 9. **Resumos**. p.170, 1984.

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.

**ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DAS EMPRESAS FABRICANTES DE ISCAS INSETICIDAS.** ABRAISCA. 2023. Disponível em: <<http://www.abraisca.org.br/>>. Acessado em: 07 de mar. 2023.

BANKS, A. N.; SRYGLEY; R. B. Orientation by magnetic field in leaf-cutter ants; *Atta colombica* (Hymenoptera: Formicidae). **Ethology**; v. 109; n. 10; p. 835-846; 2003.

BARBOSA, M. S.; FORTI, L. C.; FUJIHARA, R. T.; RAETANO, C. G. Effects of Diafenthiuron in Toxic Baits on Colonies of Leaf-cutting ants (Hymenoptera: Formicidae). **Sociobiology**; v. 64; n. 3; p. 256-260; 2017.

BARBOSA, S. M.; NUNES, B. S.; SATORU, N. N.; FORTI, L. C.; ALMEIDA, C. Lack of correlation between micro fungi species and chemical control method of *Atta* treated with toxic baits. **Ciência Rural**; v. 48; n. 5; 2018.

BASS, M.; CHERRETT, J. M. Fungal hyphae as a source of nutrients for the leaf-cutting ant *Atta sexdens*. **Physiological Entomology**, v. 20, n. 1, p. 1-6, 1995. <http://dx.doi.org/10.1111/j.1365-3032.1995.tb00793.x>

BIDOCHKA, M. J.; SMALL, C. N.; SPIRONELLO, M. Recombination within sympatric cryptic species of the insect pathogenic fungus *Metarhizium anisopliae*. *Environmental Microbiology*, v. 7, n. 9, p. 1361-1368, 2005.

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

BORBA, R.S; LOECK, A.E.; BANDEIRA, J.M.; MORAES, C.L.; CENTENARO, E.D. Crescimento do fungo simbiote de formigas cortadeiras do gênero *Acromyrmex* em meios de cultura com diferentes extratos. **Ciência Rural**, v. 36, n. 3, p. 726, 2006.

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

BOLTON, B. 2016. **An online catalog of the ants of the world**. Disponível em: <<https://www.antweb.org/world.jsp>> Acesso: 20 jun. 2019.

BOSSERT, W. H.; WILSON; E. O. The analysis of olfactory communication among animals. **Journal of theoretical biology**; v. 5; n. 3; p. 443-469; 1963.

BRANCHER, N. Avaliação eletroforética e morfológica do fungo cultivado pelas formigas cortadeiras dos gêneros *Atta* e *Acromyrmex*. 1993. 58f. **Dissertação (Pósgraduação em Agronomia – área de concentração em Fitossanidade)**, Faculdade de Agronomia Eliseu Maciel, Universidade Federal de Pelotas.

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). **Formigascortadeiras: Da bioecologia ao manejo**. Viçosa:UFV; 2011. P 27-48.

BRISOLA, P. C. Ritmos de atividade coletiva e divisão de temporal de tarefas em formigas saúvas. 2017. 103 fls. **Dissertação (Mestrado em Fisiologia)** Universidade de São Paulo. 2017.

BRITO, R.M. Iscas biológicas à base de amido e fibras para o controle da saúva limão. **Tese**, Ciência de Alimentos, UEL. 2018.

BRITTO, J. S.; FORTI, L. C.; de OLIVEIRA, M. A.; ZANETTI, R.; WILCKEN, C. F.; ZANUNCIO, J. C.; LOECK, A. E.; CALDATO, N.; NAGAMOTO, N. S.; LEMES, P. G.; CAMARGO, R. da S. 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.; FERNANDES, M. A. C.; DOS REIS HALLACK, N. M.; LOPES, J. F. S. 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, 2009.

CAMARGO, R. S. et al. Allogrooming, self-grooming, and touching behavior: contamination routes of leaf-cutting ant workers using a fat-soluble tracer dye. **Insects**, v. 8, n. 2, p. 59, 2017. <http://dx.doi.org/10.3390/insects8020059>

CAMARGO, R.S. et al. The effect of plant diversity on fungus garden development and foraging behavior of leaf-cutting ants (Hym.: For.). **Sociobiology**, 42p. p.1-10, 2003.

CAMARGO, R. S.; PUCCINI, C.; FORTI, L.C; MATOS, C.A.O. Behaviors in Fungus Garden Cultivation: Routes of Contamination of Leaf Cutting Ant Workers with FatSoluble Tracer Dye. **International Journal of Agriculture Innovations and Research**, v. 5, n.4, p. 2319- 1473. 2017.

CANTARELLI, B. E.; CORRÊA-COSTA, E.; PEZZUTTI, R.; da SILVA, O. L. Quantificação das perdas no desenvolvimento de *Pinus taeda* após o ataque de formigas cortadeiras. **Ciência Florestal**; v. 18; n. 1; p. 34- 45; 2008.

CARMO, D. V. Descrição da atividade de forrageamento em *Atta sexdens rubropilosa*: transferência de informação e seleção de tarefas. 2014. 70 fls. **Dissertação (Mestrado em Fisiologia Geral)**- Universidade de São Paulo. 2014.

CASTILHO, A. M. C.; FRAGA, M. E.; AGUIAR-MENEZES, E. L.; ROSA, C. A. R. 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. 51fls. **Dissertação (Mestrado em Entomologia)**- Universidade Federal de Lavras, 2012.

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.

CHERRETT, J.M. et al. The mutualism between leaf-cutting ants and their fungus. In: WILDING, N.M. et al. (Eds). **Insect-fungus interactions**. London: Academic, p.93-120, 1989.

CHIESA, A.C.M. Plantas forrageadas e controle de *Atta sexdens* na região de Londrina, PR. 2016. 66fls. **Dissertação (Mestrado em Agronomia)**, Universidade Estadual de Londrina, 2016.

CIESLA, W. M. **Forest entomology: A global perspective**. 1 ed. Oxford: WILLEYBLACKWELL, 2011.

COSTA, J.S.; ATROCH, E.M.A.C.; NAGAO, E.O. Estudos da atividade de fungicidas para o controle do crescimento de *Trichoderma sp.* em meio de

cultura de micropropagação de plantas. **Diversidade Microbiana da Amazonia**. Editora INPA, 2015.

COSTA, A. N.; VASCONCELOS, H. L.; VIEIRA-NETO, E. H.; BRUNA, E. M. 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.

CRUZ, A. P.; ZANUNCIO, J. C.; ZANETTI, R.; GOMES, O. S. Eficiência de iscas formicidas à base de sulfluramida e de clorpirifós no controle de *Atta sexdens sexdens* (Hymenoptera, Formicidae), no trópico úmido 145150, **Acta Amazonica**, v. 26, n. 3, p. 1996.

CURRIE, C.R.; STUART, A.E. Weeding and grooming of pathogens in agriculture by ants. Proceedings of the Royal Society of London B. **Biological Sciences**, v.263, p.339-344, 2001.

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.; DELLA LUCIA, T. M. C.; PASTRE, L. D. 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. Comunicação Científica – **An. Soc. Entomol. Brasil**, n. 29(4), p. 843-848. 2000.

DELABIE, J. H. C.; NASCIMENTO, I. D.; FONSECA, E.; SGRILLO, R. B.; SOARES, P. A. O.; CASIMIRO, A. B.; FURST, M. 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. 495-8, 1997.

DELLA LUCIA, T. M. C. **Formigas-cortadeiras da bioecologia ao manejo**. 1 ed. Viçosa: UFV. 2011. p. 421.

DELLA LUCIA, T. M. C.; CAMERON, R. S.; VILELA, E. F.; BENTO, J. M. S. Aceitação de iscas granuladas com sulfluramida, um novo princípio ativo, por formigas cortadeiras, no campo. **Revista Árvore**, n.16, p. 218-223, 1992.

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.; SILVA, M. D.; VALIM-LABRES, M. E.; SPECHT, A. Ocorrência natural de *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuill. no Rio Grande do Sul. **Acta Biologica Leopoldensia**, v. 14, n. 1, p. 99-104. 1992.

FAZAM, J.C., SHIMIZU, G.D., ALMEIDA, J.C., PASINI, A. Mortality of leaf-cutting ants with salicylic acid. **Semina: Ciênc. Agrár.** Londrina, v. 42, n. 4, p. 2599-2606, jul./ago. 2021. DOI: 10.5433/1679-0359.2021v42n4p2599

FORTI, L. C. Ecologia da saúva *Atta capiguara* Gonçalves, 1944 (Hymenoptera, Formicidae) em pastagem. 1985. 243fls. **Tese (Doutorado em Ciência)** - - Universidade de São Paulo Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", 1985.

FORTI, L. C. et al. Dispersal of the delayed action insecticide sulfluramid in colonies of the leaf-cutting ant *Atta sexdens rubropilosa* (Hymenoptera: Formicidae). **Sociobiology**, v. 50, n. 3, p. 1149-1164, 2007.

FORTI, L. C.; NAGAMOTO, N. S.; RAMOS, V. M.; ANDRADE, A. P. P.; LOPES, J. F. S.; CAMARGO, R. S.; MOREIRA, A. A.; BOARETTO, M. A. C. Eficiência de sulfluramida; fipronil y clorpirifos como sebos en el control de *Atta capiguara* Gonçalves (Hymenoptera:Formicidae). **Pasturas Tropicales**; v. 25; n. 3; p. 28-35; 2003.

FORTI, L. C.; RINALDI, I. M. P.; CAMARGO, R. D. S.; FUJIHARA, R. T. Predatory behavior of *Canthon virens* (Coleoptera: Scarabaeidae): a predator of leafcutter ants. **Psyche: A Journal of Entomology**, v. 2012, 2012. Article ID 921465, doi:10.1155/2012/921465.

FOWLER, H.G., PAGANI, M.I., SILVA, O.A., FORTI, L.C., SILVA, V.P., VASCONCELOS, H.L. A pest is a pest is a pest? The dilemma of neotropical leaf-cutting ants: keystone taxa of natural ecosystems. **Environ. Manage.** 13, p.671–675, 1989.

FREITAS, D.F. Exigências térmicas do fungo cultivado por formigas cortadeiras do gênero *Acromyrmex mayr*, 1865 (Hymenoptera, Formicidae). 37fls. 2010. **Dissertação (Mestrado em Entomologia)**. Universidade Federal de Pelotas. 2010.

GARCIA, I. P. et al. Ecological interaction between *Atta sexdens* (Hymenoptera: Formicidae) and the vegetation of a mesophyll semideciduous forest fragment in Botucatu, SP, Brazil. **Sociobiology**, v. 42, n. 2, p. 265-283, 2003.

GENELICIO JÚNIOR S. C. Aplicações isoladas e conjuntas de ácido giberélico e ácido salicílico na mamoneira, cultivar brs energia. **Universidade Estadual Da Paraíba**. Campina Grande-PB. p. 1-61. 28 de fevereiro de 2013.

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.

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

HUGHES, W. O. H.; BOOMSMA, J. J. Let your enemy do the work: within-host interactions between two fungal parasites of leaf-cutting ants. Proceedings of the Royal Society of London B: **Biological Sciences**, v. 271, n. Suppl 3, p. 104-106, 2004.

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.

JEANNE, R. L. Division of labor is not a process or a misleading concept. **Behavioral ecology and sociobiology**; v. 70; n. 7; p. 1109-1112; 2016.

JOFRÉ, L. E.; MEDINA, A. I. Patrones de actividad forrajera y tamaño de nido de *Acromyrmex lobicornis* (Hymenoptera: Formicidae) en una zona urbana de San Luis, Argentina. **Revista de la Sociedad Entomológica Argentina**, v. 71, n. 1-2, p. 3744, 2012.

JOHANN, S.; PIZZOLATTI, M. G.; DONICCI, C. L. & RESENDE, M. A. Antifungal properties of plants used in Brazilian tradicional medicine against clinically relevant fungal pathogens. **Brazilian Journal of Microbiology**, 38:632-637, 2007.

KHOURI, C.R. et al. Efeito de extratos de gramíneas forrageiras no crescimento do fungo simbiote de *Acromyrmex* (Moellerius) *balzani* (Hymenoptera, Formicidae). In: SIMPÓSIO DE MIRMECOLOGIA, 16., 2003, Florianópolis. **Anais...** Florianópolis-SC, p.483-485, 2003.

LANCELOTTI, I.R. A importância socioambiental de novos antifúngicos: O potencial das samambaias. **Dissertação**, 55f, UERJ. 2018.

LEAL, I. R.; OLIVEIRA, P. S. Interactions between fungus-growing ants (Attini), fruits and seeds in Cerrado vegetation in southeast Brazil. **Biotropica**, v. 30, n. 2, p. 170178. 1998.

LIMA, C. A.; DELLA LUCIA, T.; GUEDES, R. N.; VEIGA, C. E. D. 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.

LOECK, A.E.; PIEROBOM, C.R.; GUSMÃO, L.G.; AFONSO, A.P. Growth of symbiotic fungi of some higher attine ants in mineral medium. **Ciência Rural**, v.34, p.79-82, 2004.

LOPES, R. B.; MESQUITA, A. L. M.; TIGANO, M. S.; SOUZA, D. A.; MARTINS, I.; FARIA, M. Diversity of indigenous *Beauveria* and *Metarhizium* spp. in a commercial banana field and their virulence toward *Cosmopolites sordidus* (Coleoptera: Curculionidae). **Fungal Ecology**, v. 6, n. 5, p. 356-364, 2013.

LOPEZ, E.; ORDUZ, S. *Metarhizium anisopliae* and *Trichoderma viride* for control of nests of the fungus-growing ant, *Atta cephalotes*. **Biological Control**, v. 27, n. 2, p. 194-200, 2003.

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.

**MINISTERIO DA AGRICULTURA, PECUARIA E ABASTECIMENTO**. MAPA. 2023. Disponível em: <[http://agrofit.agricultura.gov.br/agrofit\\_cons/principal\\_agrofit\\_cons](http://agrofit.agricultura.gov.br/agrofit_cons/principal_agrofit_cons)>. Acesso em: 07 mar. 2023.

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. **Invertebrate-microbial interactions**. Ithaca: Cornell University, 148p, 1987.

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.

MEHLTRETER, K. & VALENZUELA, J. Leafcutter ants as test organisms for leaf quality of ferns. **Indian Fern Journal**, 29: 262-268. 2012.

MENDES FILHO, J.M.A. Técnicas de combate à formiga. **IPEF**, n.75, p. 1-19, 1979.

MICHEREFF FILHO, M.; FARIA, M.; WRAIGHT, S. P.; SILVA, K. F. A. S. Micoínseticidas e micoacaricidas no Brasil: como estamos após quatro décadas? **Arquivos do Instituto Biológico**, v. 76, n. 4, p. 769-779. 2009.

MONTOYA-LERMA, J., GIRALDO-ECHEVERRI, C., ARMBRECHT, I., FARJIBRENER, A., CALLE, Z. Leaf-cutting ants revisited: towards rational management and control. *Int. J. Pest Manag.* 58, 225–247, 2012. <http://dx.doi.org/10.1080/09670874.2012.663946>.

MOTA, L. H. C. Desenvolvimento de armadilha de auto-inoculação para o controle de *Hypothenemus hampei* (Ferrari, 1867) (Coleoptera: Curculionidae) com *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuil (Ascomycota: Hypocreales) em tecido sintético. 2013. 84fls. **Dissertação (Mestrado em Entomologia)** - Universidade de São Paulo Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, 2013.

MUELLER, U.G., KARDISH, M.R., ISHAK, H.D., WRIGHT, A.M., SOLOMON, S.E., BRUSCHI, S.M., CARLSON, A.L., BACCI Jr, M. Phylogenetic patterns of ant–fungus associations indicate that farming strategies, not only a superior fungal cultivar, explain the ecological success of leafcutter ants. *Mol. Ecol.* 27, p.2414–2434, 2018. <http://dx.doi.org/10.1111/mec.14588>.

NAGAMOTO, N. S. Estudos toxicológicos de princípios ativos utilizando como modelo *Atta sexdens rubropilosa* (Hymenoptera; formicidae). 2003. 234 fls. **Tese (Doutorado em Agronomia)** - Universidade Estadual Paulista. 2003.

NAGAMOTO, N. S.; FORTI, L. C.; RAETANO, C. G. Evaluation of the adequacy of diflubenzuron and dechlorane in toxic baits for leaf-cutting ants **science**; v. 80; n. 1; p. 913; 2007.

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.

NIKELE, M.A. Dinâmica populacional e ecologia do forrageamento de *Acromyrmex* Mayr; 1865 (Hymenoptera: Formicidae). 2013. 151p. **Tese (Doutorado em Entomologia)**- Universidade Federal de Curitiba; 2013.

NIKELE, M.A.; FILHO, W.R.; PIE, M.P.; STRAPASSON, P.; QUEIROZ, E.C.; RIBAS, U. Atividade de forrageamento de *Acromyrmex subterraneus subterraneus* (HYMENOPTERA: FORMICIDAE). In: **Congresso Brasileiro de entomologia**, XXII, 2008, Uberlândia. **Anais do Congresso brasileiro de entomologia**, Uberlândia: 2008. p.136.

NIKELE, M.A.; REIS FILHO, W.; OLIVEIRA, E. B.; IEDE, E. T.; CALDATO, N.; STRAPASSON, P. Leaf-cutting ant attack in initial pine plantations and growth of defoliated plants. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**; v. 47; n. 7; p. 892-899; 2012.

PACALA, S. W.; GORDON, D. M.; GODFRAY, H. C. J. Effects of social group size on information transfer and task allocation. **Evolutionary Ecology**; v. 10; n. 2; p. 127-165; 1996.

PAGNOCCA, F.C.; SILVA, O.A; HEBLING-BERALDO, M.J.; BUENO, O.C.; FERNANDES, J.B.; VIEIRA, P.C.. Toxicity of sesame extracts to the symbiotic fungus of leaf cutting ants. **Bulletin of Entomological Research**, v.80, p.349-352, 1990.

PANIZZI, A.R.; PARRA, J.R.P.; SANTOS, C.H.; CARVALHO, D.R. Rearing the Southern green stink bug using artificial dry diet and artificial plant. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.35, n.9, p.1709-1715, 2000.

PESSUTO, M. B., COSTA, I. C., SOUZA, A. B., NICOLI, F. M. & MELLO, J. C. P. Atividade antioxidante de extratos e taninos condensados das folhas de *Maytenus ilicifolia* Mart. ex Reiss. **Quim. Nova**, Vol. 32, No. 2, 412-416. 2009.

PETERNELLI, E. F. de O.; BARBOSA, L. C. A.; DELLA LUCIA, T. M. C. Isolation of compounds attractive to the leaf-cutting ant *Atta sexdens rubropilosa* Forel (Hymenoptera: Formicidae) from *Mabea fistulifera* elaiosome. **Química Nova**, v. 31, n. 3, p. 475-478, 2008.

RAMOS, V. M.; FORTI, L. C.; BOARETTO, M. A. C.; MOREIRA, A. A.; SANTOS, J. F. L. 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.

REIS FILHO, W.; PORFÍRIO-DA-SILVA, V.; NIKELE, M. A.; MARTINS, M. F. O. **Formigas cortadeiras em sistemas de integração lavoura-pecuária-floresta – iLPF: Fundamentos para o controle**. Colombo: EMBRAPA florestas, 2013. p. 7. (Comunicado técnico, n. 331).

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.

RICKLEFS, R.E. As interações entre as espécies. Pp.: 255-267. In. RICKLEFS, R. E. **A economia da natureza**. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan. 2011.

SANTOS, T.T.; CAZETTA, M.L. Formigas da tribo Attini e sua interação com micro-organismos. **Revista Científica da FHO. UNIARARAS**. v.4, n.1. 2016.

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.

SANTOS, S.C.; MELLO, J.C.P. Taninos. Pp. 517-544. In: C.M.O. SIMÕES; E.P. SCHENKEL; G. GOSMAN; J.C.P. MELLO; L.A. MENTZ & P.R. PETROVICK. (Orgs.). **Farmacognosia: da planta ao medicamento**. Porto Alegre, Ed. UFRGS/Ed. UFSC. 1999.

SILVA, G. G. Efeito do fungo *Trichoderma harzianum* e do zinco em colônias de *Atta sexdens*. 2016. 67fls. **Dissertação (Mestrado em Ciências Florestais e Ambientais)** - Universidade Federal do Tocantins, 2016.

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

SILVA-PINHATI, A.C.O.; BACCI, J.M.;SIQUEIRA, G.C.; SILVA, A.; PAGNOCCA, C.F.; BUENO,C.O.; HEBLING,J.A.M. Isolation and Maintenance of Symbiotic Fungi of Ants in the Tribe Attini (Hymenoptera: Formicidae). **Neotropical Entomology**, v.34, n.1, p. 1-5, 2005.

SILVEIRA, F. A. O.; VAZ-DE-MELLO, F. Z.; FERNANDES, G. W.; SANTOS, J. C.; VIANA, L. R.; FALQUETO, S. A. Predation on *Atta laevigata* (Smith 1858)(Formicidae Attini) by *Canthon virens* (Mannerheim 1829)(Coleoptera Scarabaeidae). **Tropical Zoology**, v. 19, n. 1, p. 1-7, 2006.

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.

SIQUEIRA, R.S. **Manual de microbiologia de alimentos**. Rio de Janeiro: Centro Nacional de Pesquisa de Tecnologia Agroindustrial de Alimentos, 1995, 159p. 1995.

STEFANELLI, L.E.P.; MOTA FILHO, T.M.M.; CAMARGO, R.D.S.; MATOS, C.A.O.D.; Forti, L.C. Effects of Entomopathogenic Fungi on Individuals as Well as Groups of Workers and Immatures of *Atta sexdens rubropilosa* Leaf-Cutting Ants. **Insects** **2021**, 12, 10. <https://dx.doi.org/10.3390/insects12010010>

SVOBODOVÁ, Z.; LUSKOVA, V.; DRASTICHOVA, J.; SVOBODA, M.; ŽLÁBEK, V. Effect of deltamethrin on haematological indices of common carp (*Cyprinus carpio* L.). **Acta Veterinaria Brno**, v. 72, n. 1, p. 79-85, 2003.

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

TAVARES, L. C. et. al.; Treatment of rice seeds with salicylic acid: seed physiological quality and yield. **Journal of Seed Science**, v.36, n.3, p.352-356, 2014.

TOMLIN, Clive DS 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. 2017. 91fls. **Tese (Doutorado em proteção de plantas)** – Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, 2017.

TRAVAGLINI, R. V.; STEFANELLI, L. E. P.; ARNOSTI, A.; DA SILVA, C. R. Isca encapsulada atrativa visando controle microbiano de formigas cortadeiras. **Tekhne e Logos**, v. 8, n.3, p.100-111. 2017.

TRAVAGLINI, R. V.; FORTI, L. C.; ARNOSTI, A.; CAMARGO, R. S.; SILVA, L. C.; CAMARGO-MATHIAS, M. I. Mapping the Adhesion of Different Fungi to the External Integument of *Atta sexdens rubropilosa* (Forel; 1908). **International Journal of Agriculture Innovations and Research**. v. 5; n. 1; p.118-125. 2016.

TRIBLE, W.; OLIVOS-CISNEROS, L.; MCKENZIE, S. M.; SARAGOSTI, J.; CHANG, N-C.; MATTHEWS, B. J.; OXLEY, P. R.; KRONAUER, D. J. C. Orco mutagenesis causes loss of antennal lobe glomeruli and impaired social behavior in ants. **Cell**; v.170; n. 4; p. 727-735; 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](http://www.wipo.int/edocs/lexdocs/treaties/en/unep-pop/trt_unep_pop_2.pdf)> Acessado em: 19 jul. 2019.

VASCONCELOS, H. L.; VIEIRA-NETO, E. H.; MUNDIM, F. M.; BRUNA, E. M. Roads Alter the Colonization Dynamics of a Keystone Herbivore in Neotropical Savannas 1. **Biotropica**, v. 38, n. 5, p. 661-665, 2006.

VELISEK, J.; JURČÍKOVÁ, J.; DOBŠÍKOVÁ, R.; SVOBODOVA, Z.; PIAČKOVÁ, V.; MACHOVA, J.; NOVOTNÝ, L. Effects of deltamethrin on rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). **Environmental Toxicology and Pharmacology**, v. 23, n. 3, p. 297-301, 2007.

VIANA, L. R.; SANTOS, J. C.; ARRUDA, L. J.; SANTOS, G. P.; FERNANDES, G. W. 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, C.E.D.; MARTINEZ, C.B.D.R. The pyrethroid  $\lambda$ -cyhalothrin induces biochemical, genotoxic, and physiological alterations in the teleost *Prochilodus lineatus*. **CHEMOSPHERE**, v. 210, p. 958-867, 2018.

VIEIRA, A. S.; MORGAN, E. D.; DRIJFHOUT, F. P.; CAMARGO-MATHIAS, M. I. Chemical composition of metapleural gland secretions of fungus growing and nonfungus-growing ants. **Journal of Chemical Ecology**, v. 38, n. 10, p. 1289-1297. 2012.

WALKER, T.; HUGHES, W.O.H. Adaptive social immunity in leaf-cutting ants. **Biology Letters**, v. 5, n.1, p. 446-448. 2009.

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

WHILTE, G. L. Control of the leaf-cutting ants *Acromyrmex octospinosus* (Reich.) and *Atta cephalotes* (L.)(Formicidae, Attini) with a bait of citrus meal and fipronil. **International Journal of Pest Management**, v. 44, n. 2, p. 115-117, 1998.

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.

WILSON, E. O. Chemical communication among workers of the fire ant *Solenopsis saevissima* (Fr. Smith) 1. **The organization of mass-foraging. Animal behaviour**; v. 10; n. 1-2; p. 134-147; 1962.

YAN, H.; OPACHALOEMPHAN, C.; MANCINI, G. YANG; H.; GALLITTO, M.; MLEJNEK, J.; LEIBHOLZ, A.; HAIGHT, K.; GHANINIA, M.; HUO, L.; PERRY, M.; SLONE, J.; ZHOU, X.; TRAFICANTE, M.; PENICK, C. A DOLEZAL, K.; GOKHALE, K.; STEVENS, K.; FETTER-PRUNEDA, I.; BONASIO, R.; ZWIEBEL, L. J.; BERGER, S. L.; LIEBIG, J.; REINBERG, D.; DESPLAN, C. An engineered orco mutation produces aberrant social behavior and defective neural development in ants. **Cell**; v. 170; n. 4; p. 736-747; 2017.

YENDOL, W.G. Factors affecting germination of Entomophthora conidia. **Journal Invertebr. Pathol.** v.10, p.116-121, 1968.

ZANETTI, R.; JAFFÉ, K.; VILELA, E. F.; ZANUNCIO, J. C.; LEITE, H. G. Efeito da densidade e do tamanho de saúveiros sobre a produção de madeira em eucaliptais. **Anais da Sociedade Entomologica do Brasil**, v. 29, p. 105-112, 2000.

ZANETTI, R.; ZANUNCIO, J. C.; VILELA, E. F.; LEITE, H. G.; JAFFE, K.; OLIVEIRA, A. C. Level of economic damage for leaf-cutting ants (Hymenoptera: Formicidae) in Eucalyptus plantations in Brazil. **Sociobiology**, v. 42, n. 2, p. 433-442, 2003.

ZANUNCIO, J. C.; COUTO, L. A. Ê. R. C. I. O.; SANTOS, G. P.; ZANUNCIO, T. V. Eficiência da isca granulada Mirex-S, à base de sulfluramid, no controle da formiga cortadeira *Atta laevigata* (F. Smith, 1858) (Hymenoptera: Formicidae). **Revista árvore**, v. 16, n. 3, p. 357-361, 1992.

ZANUNCIO, J. C.; MEZZOMO, J. A.; GUEDES, R. N. C.; OLIVEIRA, A. C. Influence of strips of native vegetation on Lepidoptera associated with *Eucalyptus cloeziana* in Brazil. **Forest ecology and management**, v. 108, n. 1-2, p. 85-90, 1998.

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