

**USO DE EXTRATOS FEROMONAIS E DE FARINHA DE GERGELIM  
EM ISCAS DESTINADAS AO CONTROLE DE FORMIGAS-  
CORTADEIRAS**

**GABRIELA DOMINGOS DE FIGUEIREDO TATAGIBA ARAUJO**

**UNIVERSIDADE ESTADUAL DO NORTE FLUMINENSE  
DARCY RIBEIRO – UENF**

**CAMPOS DOS GOYTACAZES – RJ  
NOVEMBRO DE 2016**

**USO DE EXTRATOS FEROMONAIIS E DE FARINHA DE GERGELIM  
EM ISCAS DESTINADAS AO CONTROLE DE FORMIGAS-  
CORTADEIRAS**

**GABRIELA DOMINGOS DE FIGUEIREDO TATAGIBA ARAUJO**

“Tese apresentada ao Centro de Ciências e Tecnologias Agropecuárias da Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro, como parte das exigências para obtenção do título de Doutor em Produção Vegetal”.

Orientadora: Prof<sup>a</sup>. Ana Maria Matoso Viana-Bailez

CAMPOS DOS GOYTACAZES – RJ

NOVEMBRO de 2016

## FICHA CATALOGRÁFICA

Preparada pela Biblioteca do **CCT / UENF**

**22/2017**

Tatagiba-Araujo, Gabriela Domingos de Figueiredo

Uso de extratos feromonais e de farinha de gergelim em iscas destinadas ao controle de formigas-cortadeiras / Gabriela Domingos de Figueiredo Tatagiba Araujo. – Campos dos Goytacazes, 2017.

xii, 89 f. : il.

Tese (Doutorado em Produção Vegetal) -- Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro. Centro de Ciências e Tecnologias Agropecuárias. Laboratório de Entomologia e Fitopatologia. Campos dos Goytacazes, 2017.

Orientador: Ana Maria Matoso Viana-Bailez.

Área de concentração: Fitossanidade / comportamento de insetos.

Bibliografia: f. 62-71.

1. *Atta sexdens rubropilosa* 2. *Atta laevigata* 3. EXTRATO DE GLÂNDULA DE VENENO 4. *Sesamum indicum* 5. ISCAS GRANULADAS I. Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro. Centro de Ciências e Tecnologias Agropecuárias. Laboratório de Entomologia e Fitopatologia I. Título

CDD 595.7

USO DE EXTRATOS FEROMONAIIS E DE FARINHA DE GERGELIM  
EM ISCAS DESTINADAS AO CONTROLE DE FORMIGAS-  
CORTADEIRAS

**GABRIELA DOMINGOS DE FIGUEIREDO TATAGIBA ARAUJO**

“Tese apresentada ao Centro de Ciências e  
Tecnologias Agropecuárias da Universidade  
Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro,  
como parte das exigências para obtenção do título  
de Doutor em Produção Vegetal”.

Aprovada em 30 de novembro de 2016.

Comissão Examinadora:

---

Prof. Vinícius Siqueira Gazal e Silva (D. Sc., Produção Vegetal) - UFRRJ

---

Prof. Gerson Adriano Silva (D. Sc. Fitotecnia) - UENF

---

Prof. Omar Eduardo Bailez (Ph.D., Biologia do Comportamento) - UENF

---

Prof<sup>a</sup>. Ana Maria Matoso Viana-Bailez (Ph.D., Biologia do Comportamento) - UENF  
(Orientadora)

Dedico esse trabalho a DEUS,  
que me conduziu até este momento,  
proporcionando a conclusão de mais uma etapa  
da minha caminhada profissional;  
Ofereço este trabalho a meu esposo, Alexandre,  
que me manteve firme, principalmente  
nos momentos de tribulação, me incentivando  
à conclusão de todo o processo.

## AGRADECIMENTO

Agradeço a DEUS, que ao me dar o dom da vida e escolher cuidadosamente todas as pessoas, que participaram (e ainda irão participar) do processo de formação da minha educação para a vida pessoal e profissional, me proporcionou alcançar mais esta conquista;

À minha orientadora, Prof<sup>a</sup>.Ph.D. Ana Maria Matoso Viana-Bailez, pela confiança depositada nesses 8 anos sob sua orientação acadêmica, seja no trabalho científico ou em sala de aula; pela oportunidade de realização deste trabalho; pelas sugestões e colaborações para execução de experimentos e escrita;

Ao Programa de Pós-Graduação em Produção Vegetal da Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro pela oportunidade concedida;

A Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (Capes) pela concessão da bolsa de doutorado;

Aos membros da banca, Prof. Gerson Adriano Silva, Prof. Vinícius Siqueira Gazal e Silva e Prof. Omar Eduardo Bailez, pela disponibilidade e boa vontade em colaborar neste trabalho de tese;

A todos os professores, funcionários e alunos do Laboratório de Entomologia e Fitopatologia (LEF/UENF), pelo convívio e auxílio prestados, em especial:

Ao Prof.Ph.D. Omar Eduardo Bailez pelos ensinamentos, esclarecimentos, participação em bancas e conversas durante o curso, assim como pelo auxílio nas análises estatísticas;

A Arli de Fátima, pela companhia e por todo auxílio prestado (glândulas extraídas, orientações sobre produtos químicos e conversões de medidas, vidrarias autoclavadas, cuidado no tratamento das colônias, músicas compartilhadas, conversas e risadas);

Aos colegas do Grupo de Pesquisa em Comportamento de Insetos e Semioquímicos: Amanda, Anália, Fabíola Endringer, Fabíola Pimentel, Jean, Johnathan, Pedro Abid, Renata e Willians, pela paciência com meu temperamento,

pelas conversas, troca de saberes e ajuda prestada. Em especial a Amanda, Anália, Jean, Johnathan e Pedro que ajudaram nas coletas e experimentos. Ainda agradeço aos ex-integrantes do laboratório, Alexandre Roger e Hérica, que também me ajudaram;

Às amizades realizadas, ou reafirmadas, durante o curso: Aline, Liliana, Marcus, Paulo César (PC) e Thalles;

Às amizades realizadas fora da UENF, mas que me ajudaram de alguma forma durante o curso: Robson Lemos, Eliana Monteiro, Érika Sá, Clodoaldo e Luiz Felipe;

Às amigas de república, pelo convívio e ambiente de lar formado: Fabíola Endringer, Luiza Furtado, Raquel Avelar, Caroline Araújo, Eliana Monteiro e Lilian Azevedo;

Por último, mas sempre em primeiro lugar na minha vida, à família que DEUS, em sua infinita bondade, me concedeu:

Aos meus pais, meus primeiros mestres e doutores na vida, Tulio Sergio e Marily, por me amarem incondicionalmente e compreenderem minha distância;

Ao meu irmão, Sávio, e sua família, por me acolherem sempre que necessito;

E à família que DEUS, em seu infinito amor de Pai, me permitiu escolher:

A meu esposo, Alexandre Cardoso Araújo, que sempre me incentiva no crescimento acadêmico e profissional, apoiando minhas escolhas e estando sempre ao meu lado, mesmo a distância;

E à minha filha, Clara, que já em meu ventre me deu a força necessária à finalização da escrita e defesa deste trabalho;

A todos, meu muito obrigada!

*“Para tudo há um tempo  
Para cada coisa há um momento debaixo do céu:  
Tempo para plantar, e tempo para arrancar o que foi plantado;  
Tempo para demolir, e tempo para construir;  
Tempo para chorar, e tempo para rir.”*

*(Ecl 3, 1.2b.3b.4a).*

## SUMÁRIO

LISTA DE QUADROS.....	VII
LISTA DE FIGURAS.....	VIII
LISTA DE ABREVIATURAS.....	XI
RESUMO.....	i
ABSTRACT.....	iv
1. INTRODUÇÃO GERAL.....	01
2. REVISÃO DE LITERATURA.....	03
2.1 Forrageamento em formigas-cortadeiras.....	03
2.2 Impacto econômico das formigas-cortadeiras.....	06
2.3 Utilização de iscas granuladas no controle de formigas-cortadeiras	07
2.4 Princípios ativos alternativos para iscas formicidas.....	09
2.5 Feromônios de trilha e seu potencial de uso em iscas.....	12
3. TRABALHOS.....	15
UTILIZAÇÃO DE FEROMÔNIOS EM ISCAS GRANULADAS: DISTRIBUIÇÃO, PERSISTÊNCIA E FORMULAÇÃO.....	15
RESUMO.....	15
ABSTRACT.....	16
INTRODUÇÃO.....	18
MATERIAL E MÉTODOS.....	20
RESULTADOS.....	25
DISCUSSÃO.....	32
RESUMO E CONCLUSÕES.....	37
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	38

INIBIÇÃO DE CRESCIMENTO DO FUNGO SIMBIONTE DE <i>ATTA LAEVIGATA</i> (SMITH, 1958) (HYMENOPTERA: FORMICIDAE) POR ISCAS FORMULADAS COM <i>SESAMUM INDICUM</i> L. (PEDALIACEAE).....	42
RESUMO.....	42
ABSTRACT.....	43
INTRODUÇÃO.....	44
MATERIAL E MÉTODOS.....	46
RESULTADOS.....	50
DISCUSSÃO.....	54
RESUMO E CONCLUSÕES.....	56
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	57
RESUMOS E CONCLUSÕES.....	60
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	62

## LISTA DE QUADROS

### REVISÃO DE LITERATURA

**Tabela 1.** Preferência quanto ao corte de plantas monocotiledôneas (M) e dicotiledôneas (D) para espécies de *Atta* e *Acromyrmex*, registradas no Brasil.. 04

### UTILIZAÇÃO DE FEROMÔNIOS EM ISCAS GRANULADAS: DISTRIBUIÇÃO, PERSISTÊNCIA E FORMULAÇÃO

**Tabela 1.** Número de iscas (%) transportadas por operárias de *Atta sexdens* para dois testes com diferentes formulações: controle *versus* iscas impregnadas individualmente com extrato de glândula de veneno (iscas com EGV) e controle *versus* iscas junto a septo impregnado com extrato de glândula de veneno (septo com EGV). O controle utilizado em ambos os testes foram iscas sem extrato..... 32

### INIBIÇÃO DE CRESCIMENTO DO FUNGO SIMBIONTE DE *ATTA LAEVIGATA* (SMITH, 1958) (HYMENOPTERA: FORMICIDAE) POR ISCAS FORMULADAS COM *SESAMUM INDICUM* L. (PEDALIACEAE)

**Tabela 1.** Crescimento médio (%) do jardim de fungo simbionte de miniformigueiros de *Atta laevigata* alcançado 63 dias após o fornecimento de iscas formuladas com polpa cítrica ou farinha de folhas de gergelim a 50 ou 75% (F50, F75) ou farinha de sementes de gergelim a 50 ou 75% (S50, S75) (n=3)..... 53

## LISTA DE FIGURAS

### REVISÃO DE LITERATURA

**Figura 1.** Glândula de veneno (B) em *Atta*, localizada na extremidade do gáster (A)..... 12

### UTILIZAÇÃO DE FEROMÔNIOS EM ISCAS GRANULADAS: DISTRIBUIÇÃO, PERSISTÊNCIA E FORMULAÇÃO

**Figura 1.** Peletes de iscas a base de polpa cítrica com (A) 3mm de comprimento x 5mm de diâmetro e (B) 5mm de comprimento x 1mm de diâmetro..... 20

**Figura 2.** Ninho de *Atta sexdens* com câmaras de fungo interconectadas por tubos de silicone (túneis) a uma arena de forrageamento. (D) Câmaras à direita da entrada e (E) câmaras à esquerda..... 21

**Figura 3.** Arena de teste para o bioensaio “persistência do feromônio de trilha em iscas” ..... 23

**Figura 4.** Disposição dos tratamentos (iscas impregnadas com extrato de glândula de veneno de *Atta sexdens*). (A) Detalhe da abertura da câmara para passagem de formigas. (B) Câmaras com os diferentes tratamentos. (C) Distribuição das câmaras na arena de forrageamento..... 24

**Figura 5.** Número de iscas impregnadas com solvente (controle), extrato cuticular (EC) ou extrato de glândula de veneno (EGV), transportadas por operárias de *Atta sexdens* em colônia com rainha e sem rainha. Letras diferentes indicam diferença estatística (Tukey,  $p < 0,005$ )..... 25

**Figura 6.** Número de iscas impregnadas com solvente (controle), com extrato

cuticular e com extrato de glândula de veneno, transportas às distintas câmaras de fungo de uma colônia de <i>Atta sexdens</i> com rainha e sem rainha....	26
<b>Figura 7.</b> Número médio de iscas transportadas por operárias de <i>Atta sexdens</i> após ½, 24, 48 e 72 horas da impregnação com extrato de glândula de veneno (feromônio de trilha) ou solvente (diclorometano). *Indica diferença estatística (ANOVA. p<0,05). Barras indicam Desvio Padrão da Média.....	27
<b>Figura 8.</b> Número de iscas, impregnadas com extrato de glândula de veneno ou solvente (controle), transportadas por operárias de <i>Atta sexdens</i> após: 0,5h da impregnação; 24h da impregnação; 48h da impregnação; e 72h da impregnação em 50% dos testes (mediana).....	28
<b>Figura 9.</b> Número médio de iscas transportadas por operárias de <i>Atta sexdens</i> após ½, 24, 48 e 72 horas da impregnação com extrato de glândula de veneno. Letras diferentes indicam diferença estatística (Bonferroni. p<0,05). Barras representam Intervalo de Confiança da Média (95%).....	29
<b>Figura 10.</b> Número de observações em que cada formulação foi encontrada e transportada primeiro para dois ninhos de <i>Atta sexdens</i> . Linha pontilhada indica número de observações esperadas para cada formulação. Formulações (1) iscas sem extrato (controle); (2) iscas impregnadas individualmente com extrato; (3) iscas junto a septo impregnado com extrato; (4) iscas impregnadas com extrato em MIPI; (5) iscas junto a septo impregnado com extrato em MIPI; e(6) iscas em micro-porta-isca (MIPI), impregnadas com extrato. *Indica diferença significativa ( $\chi^2$ . p<0,05).....	30
<b>Figura 11.</b> Operárias de <i>Atta sexdens</i> realizando tentativas para retirar septos impregnados com feromônio de trilha das câmaras de escolha e transportá-los.....	30

**INIBIÇÃO DE CRESCIMENTO DO FUNGO SIMBIONTE DE *ATTA LAEVIGATA* (SMITH, 1958) (HYMENOPTERA: FORMICIDAE) POR ISCAS FORMULADAS COM *SESAMUM INDICUM* L. (PEDALIACEAE)**

**Figura 1.** Iscas confeccionadas com: 75% de farinha de folha de gergelim (F75); 75% de farinha de semente de gergelim (S75); 50% de farinha de

laranja (controle – C); 50% farinha de folha de gergelim (F50); 50% de farinha de semente de gergelim (S50).....	47
<b>Figura 2.</b> Miniformigueiro de <i>Atta laevigata</i> .....	48
<b>Figura 3.</b> Quantidade de iscas (g) incorporadas no jardim de fungo simbiote de <i>Atta laevigata</i> . Controle: iscas formuladas com polpa cítrica. F50 e F75: iscas formuladas com 50% ou 75% de farinha de folhas de gergelim. S50 e S75: iscas formuladas com 50% ou 75% de farinha de sementes de gergelim (Tukey. $p < 0,02$ ).....	50
<b>Figura 4.</b> Análise de sobrevivência de operárias de <i>Atta laevigata</i> após a aplicação de iscas com diferentes formulações: a base de polpa cítrica (controle), farinha de folhas de gergelim a 50 ou 75% (F50, F75) e farinha de sementes de gergelim a 50 ou 75% (S50, S75). *Indica a curva com diferença significativa (Log-Rank, $p < 0,001$ . Bonferroni, $p < 0,001$ ).....	51
<b>Figura 5.</b> Desenvolvimento do jardim de fungo simbiote de miniformigueiros de <i>Atta laevigata</i> após receberem dose única de iscas de polpa cítrica (controle), ou iscas a base de folhas de gergelim a 50 ou 75% (F50 e F75), ou a base de sementes de gergelim a 50 ou 75% (S50 e S75). *Indica diferença significativa da massa inicial (Bonferroni. $p < 0,05$ ).....	53

## LISTA DE ABREVIATURAS

<b>FSC</b> .....	Forest Stewardship Council
<b>POP</b> .....	Poluente Orgânico Persistente
<b>MIPI</b> .....	Micro-Porta-Isca
<b>MF</b> .....	Miniformigueiro
<b>DCM</b> .....	Diclorometano
<b>ECM</b> .....	Extrato Cuticular de Mínimas
<b>EGV</b> .....	Extrato de Glândula de Veneno
<b>M4MP2C</b> .....	Metil-4metilpirrol-2-carboxilato
<b>3M25DMP</b> .....	3-metil-2,5-dimetilpirazina
<b>2E25DMP</b> .....	2-etil-2,5-dimetilpirazina

## RESUMO

O manejo das formigas-cortadeiras é realizado mediante a utilização do controle químico, com o uso de inseticidas considerados Poluentes Orgânicos Persistentes, que podem contaminar o ambiente e ser prejudicial à saúde humana. Iscas formicidas que minimizem esses danos são desejáveis. Nesse sentido, o presente trabalho objetivou verificar se iscas granuladas formuladas com extratos feromonais ou com farinha de gergelim (folha ou semente) podem ser utilizadas no manejo das formigas cortadeiras *Atta sexdens* e *Atta laevigata*. O primeiro trabalho foi dividido em três bioensaios. No primeiro bioensaio, investigou-se a impregnação de iscas com extrato de glândula de veneno e extrato cuticular de formigas, para verificar se os extratos modificam a distribuição de iscas dentro do ninho. Um ninho de *A. sexdens* foi dividido em duas subcolônias distribuídas em câmaras interligadas: uma subcolônia com rainha e outra sem. Iscas impregnadas com os extratos (tratamentos) ou com solvente (controle) foram oferecidas e registrou-se durante duas horas o número de iscas transportadas e a distribuição de iscas nas câmaras. O número de iscas transportadas foi analisado por teste de ANOVA e, a frequência de distribuição das iscas entre as câmaras foi analisada pelo teste de  $\chi^2$ . No segundo bioensaio buscou-se definir qual é o tempo de persistência do extrato de glândula de veneno em iscas. Quatro ninhos de *A. sexdens* receberam iscas impregnadas com extrato de glândula de veneno ou solvente (controle) após 0,5h, 24h, 48h e 72h da impregnação. O número de iscas transportadas foi analisado mediante ANOVA. No terceiro bioensaio verificou-se qual a melhor formulação para utilizar o extrato de glândula de veneno em iscas. Dois ninhos de *A. sexdens* receberam: (1) iscas com extrato; (2) iscas com septo com extrato; (3) micro-porta-isca (MIPI) com extrato; (4) iscas com extrato em MIPI; (5) septo com extrato em MIPI; e um controle (iscas sem extrato). As melhores formulações foram submetidas a um novo teste de

escolha. O primeiro teste de escolha foi analisado por teste de  $\chi^2$  (esperado *versus* observado) e por teste de Kruskal-Wallis para o intervalo de tempo gasto no transporte das iscas. O segundo teste foi analisado por ANOVA. A subcolônia sem rainha transportou 50% mais iscas que a colônia com rainha e iscas com feromônio de trilha foram mais transportadas independente da colônia. A distribuição das iscas de todos os tratamentos foi homogênea entre as câmaras. Iscas com feromônio foram mais transportadas do que iscas controle até 72 horas após a impregnação, mas a diferença foi maior até 24 horas da impregnação. A formulação do feromônio encontrada e transportada primeiro foi a com aplicação direta em iscas. Tanto iscas com feromônio quanto com septo foram mais transportadas que o controle. O feromônio de trilha pode ser utilizado para incrementar a atratividade de iscas formicidas, pois persiste por até 72 horas em iscas. A formulação recomendada seria impregnação de iscas com o feromônio. O segundo trabalho realizado buscou verificar se o crescimento do fungo simbiote de *A. laevigata* é inibido por iscas formuladas com farinha de sementes e de folhas de gergelim. Iscas foram preparadas com 50 ou 75% de farinha de gergelim (semente ou folha) e iscas controle (sem gergelim) foram oferecidas em dose única de 3g a quinze miniformigueiros. Quatro tratamentos estiveram representados por diferentes formulações: (1) F50: iscas formuladas com 50% de farinha de folhas de gergelim; (2) F75: iscas formuladas com 75% de farinha de folhas de gergelim; (3) S50: iscas formuladas com 50% de farinha de sementes de gergelim; (4) S75: iscas formuladas com 75% de farinha de sementes de gergelim. O controle esteve representado por iscas com base de polpa cítrica. Avaliaram-se os parâmetros: incorporação de iscas, analisada utilizando testes de ANOVA e Tukey; sobrevivência das operárias, verificada por ANOVA e análise de curvas pelo Teste Log-Rank e Teste-t de Bonferroni; e o crescimento do jardim de fungo, comparado por ANOVA, com comparações múltiplas pelo Teste-t de Bonferroni e análise descritiva. Iscas a base de gergelim tiveram aceitação similar ao controle (ANOVA.  $p= 0,014$ ), mas iscas a base de folhas de gergelim foram mais aceitas para incorporação (Tukey.  $p< 0,02$ ). A sobrevivência das operárias foi afetada pelo tempo de avaliação dos bioensaios (ANOVA.  $p<0,001$ ) e pelos tratamentos (ANOVA.  $p= 0,002$ ), que apresentaram diferença entre curvas de sobrevivência (Log-Rank.  $p<0,001$ ), com iscas a base de 75%

de farinha de folhas com menor probabilidade de sobrevivência de operárias (Bonferroni.  $p < 0,001$ ). O crescimento do jardim de fungo foi influenciado pelos tratamentos (ANOVA.  $p < 0,001$ ). Houve inibição de crescimento até 35 dias depois do início do teste para todas as iscas de gergelim oferecidas (Bonferroni,  $p > 0,05$ ). A formulação de folhas de gergelim a 75% apresentou inibição ininterrupta e perda constante de massa de fungo. Logo, iscas incrementadas com extrato de glândula de veneno ou formuladas com farinha de gergelim demonstram potencial de utilização no manejo alternativo de formigas-cortadeiras.

## ABSTRACT

The management of leaf-cutting ants is accomplished through the use of chemical control, with the use of insecticides considered as Persistent Organic Pollutants, which can contaminate the environment and be harmful to human health. Granulated baits that minimize such damages are desirable. In this sense, the present work aimed to verify if granulated baits formulated with pheromonal extracts or with sesame flour (leaf or seed) can be used in the management of cuttlefish ants *Atta sexdens* and *Atta laevigata*. The first work was divided into three bioassays. In the first bioassay, we investigated the impregnation of baits with venom gland extract and cuticular extract of ants, to verify if the extracts modify the distribution of baits inside the nest. A nest of *A. sexdens* was divided in two subcolonies distributed in interconnected chambers: one subcolony with queen and another without. Baits impregnated with extracts (treatments) or with solvent (control) were offered and the number of baits transported and the distribution of baits in the chambers were recorded for two hours. The number of baits transported was analyzed by ANOVA test, and the frequency of bait distribution between the chambers was analyzed by the  $\chi^2$  test. In the second bioassay it was tried to define the time of persistence of the extract of venom gland in baits. Four nests of *A. sexdens* received baits impregnated with venom gland extract or solvent (control) after 0.5h, 24h, 48h and 72h of impregnation. The number of baits transported was analyzed by ANOVA. In the third bioassay it was verified the best formulation to use the extract of venom gland in baits. Two nests of *A. sexdens* received: (1) baits with extract; (2) baits plus septum with extract; (3) micro-porta-bait (MIPI) with extract; (4) baits with extract in MIPI; (5) septum with MIPI extract; and a control (bait without extract). The best formulations were submitted to a new test of choice. The first test of choice was analyzed by  $\chi^2$  test (expected versus observed) and by Kruskal-Wallis test for the time interval spent in the transport of the baits. The second test was analyzed by ANOVA. The sub-colony without queen carried 50% more baits than the colony with queen and lures with

pheromone of trail were more transported independent of the colony. The bait distribution of all treatments was homogeneous between the chambers. Pheromone baits were more transported than control baits up to 72 hours after impregnation, but the difference was longer up to 24 hours from impregnation. The formulation of the pheromone found and transported first was the one with direct application in baits. Both pheromone and septum baits were more transported than control. The trail pheromone can be used to increase the attractiveness of formicidal baits, as it persists for up to 72 hours in baits. The recommended formulation would be impregnation of baits with the pheromone. The second work aimed to verify if the growth of the symbiotic fungus of *A. laevigata* is inhibited by baits formulated with seed flour and sesame leaves. Baits were prepared with 50 or 75% sesame meal (seed or leaf) and control (no sesame) baits were offered in a single dose of 3 g to 15 miniformizers. Four treatments were represented by different formulations: (1) F50: baits formulated with 50% sesame leaf meal; (2) F75: baits formulated with 75% sesame leaf meal; (3) S50: baits formulated with 50% sesame seed meal; (4) S75: baits formulated with 75% sesame seed meal. The control was represented by baits based on citrus pulp. The parameters were evaluated: bait incorporation, analyzed using ANOVA and Tukey tests; survival of workers, verified by ANOVA and analysis of curves by the Log-Rank Test and Bonferroni Test-t; and fungus garden growth, compared with ANOVA, with multiple comparisons by the Bonferroni t-Test and descriptive analysis. Sesame - based baits had similar acceptance to control (ANOVA,  $p = 0.014$ ), but baits based on sesame leaves were more accepted for incorporation (Tukey,  $p < 0.02$ ). The survival of the workers was affected by the time of evaluation of the bioassays (ANOVA,  $p < 0.001$ ) and by the treatments (ANOVA,  $p = 0.002$ ), which presented difference between survival curves (Log-Rank  $p < 0.001$ ) based on 75% of leaf meal with a lower probability of worker survival (Bonferroni,  $p < 0.001$ ). The growth of the fungus garden was influenced by treatments (ANOVA,  $p < 0.001$ ). There was inhibition of growth up to 35 days after the start of the test for all the sesame lures offered (Bonferroni,  $p > 0.05$ ). The formulation of 75% sesame leaves showed uninterrupted inhibition and constant loss of fungus mass. Therefore, increased baits enhanced with venom gland extract or formulated with sesame flour demonstrate potential use in the alternative handling of leaf-cutting ants.

## 1. INTRODUÇÃO

As formigas-cortadeiras cortam uma gama diversa de vegetais e são consideradas herbívoros dominantes da Região Neotropical. A grande capacidade de explorar vegetais faz com que essas formigas sejam pragas importantes para cultivos agrícolas, pastagens e cultivos florestais (Della Lucia e Souza, 2011). No Brasil, algumas espécies, são as principais pragas dos eucaliptais (Zanetti et al., 2000; Zanuncio et al., 2002; Zanetti et al., 2003) e por serem insetos sociais, as cortadeiras são capazes de identificar e reagir quase que imediatamente a qualquer agente estranho que interfira na rotina da colônia, o que torna seu controle diferente do aplicado para outras pragas, sendo o método químico o único eficiente contra essas formigas (Grürzmacher et al., 2002).

Em 2009, o FSC (Forest Stewardship Council - Conselho de Manejo Florestal), de acordo com a decisão SC-4/17 da Convenção de Estocolmo realizada no mesmo ano, publicou uma lista de agroquímicos com restrição de uso, que enquadrou como Poluentes Orgânicos Persistentes (POPs) os precursores de ingredientes ativos formicidas, como a sulfluramida, fipronil, deltametrina, clorpirifós e fenitrothion (United Nations Treaty Collection, 2009).

O FSC é o selo verde de certificação florestal responsável pela manutenção dos produtos florestais nacionais no mercado externo, madeira e celulose, que representam 3,5% do PIB total brasileiro, ou 27,8 bilhões de dólares, segundo dados de 2005 (Della Lucia e Souza, 2011). A perda desta certificação traz consequências financeiras não só às empresas florestais, mas a todo o país.

O Brasil ainda pode produzir e utilizar os químicos precursores de formicidas classificados como POPs destinados ao controle de formigas-cortadeiras, desde que se obedeça a recomendação de uso mínimo e se realizem pesquisas com base de informação científica, técnica, ambiental e econômica na busca por novos princípios ativos e minimização de riscos (Stockholm Convention on Persistent Organic Pollutants, 2011).

No controle químico, a formulação mais utilizada é a isca granulada, por ser prática e econômica (Zanetti et al., 2014). Por este motivo, sugestões de combate que utilizem esta formulação são mais viáveis e possuem maiores chances de êxito comercial. Assim, o incremento da atratividade de iscas formicidas é tido como desejável, pois torna a formulação mais específica e pode reduzir sua permanência no ambiente, resultando em menor exposição a animais silvestres ou outro animal não alvo. Além disso, a busca por novos compostos que possam vir a substituir os princípios ativos atuais também deve ser investigada, para alcançar a minimização do uso de químicos.

A utilização de semioquímicos é sugerida na realização de pesquisas que busquem métodos alternativos de controle para as formigas-cortadeiras, tais como utilização de feromônios e extratos vegetais (Isenring e Neumeister, 2010; Santos, 2013).

Tatagiba-Araujo et al. (2012) verificaram que iscas atóxicas formuladas com polpa cítrica se tornaram mais atrativas quando incrementadas com extrato de glândula de veneno (feromônio de trilha), facilitando o encontro das iscas no campo e sendo rapidamente aceitas e transportadas para o interior de ninhos de *A. sexdens*, com recrutamento concentrado neste recurso até que o mesmo fosse esgotado.

Uma das alternativas que tem motivado várias pesquisas é a busca por princípios ativos naturais com utilização de plantas que apresentam toxicidade às formigas-cortadeiras (Jaffé et al., 1994), sendo o *Sesamum indicum* (gergelim) o mais estudado e com pesquisas relatadas desde o início do século passado, com identificação das substâncias nocivas ao fungo simbiote e às formigas (Bueno e Bueno, 2011). Porém, uma menor escala de estudos envolve a utilização de farinha vegetal para formulação de iscas formicidas, o que pode conferir controle eficiente via ação retardada do agente nocivo e evitar sua percepção pelas formigas.

Desta forma, o presente trabalho objetivou verificar a utilização de iscas granuladas incrementadas com extratos feromonais e/ou formuladas com farinha de *S. indicum* L. no manejo de *Atta sexdens* e *Atta laevigata*.

## 2. REVISÃO DE LITERATURA

### 2.1. Forrageamento em formigas-cortadeiras

A tribo Attini compreende as formigas conhecidas como cortadeiras que se agrupam nos gêneros *Atta* e *Acromyrmex* (Hymenoptera: Formicidae: Myrmicinae). As formigas-cortadeiras do gênero *Atta*, conhecidas popularmente no Brasil como saúvas, são consideradas insetos de grande impacto ecológico e econômico devido à sua atividade de cortar grande quantidade de folhas, flores e frutos (Fowler et al., 1989).

As formigas-cortadeiras cortam partes macias e jovens de vegetais, como flores e folhas novas e algumas espécies preferem cortar monocotiledôneas, enquanto outras preferem dicotiledôneas (Castellani et al, 2007; Endringer, 2011) (Tab. 01).

As formigas-cortadeiras selecionam a vegetação que irá maximizar o crescimento do fungo (Detrain, 2000), para isto exploram grande número de espécies de plantas e são consideradas como herbívoros polípagos (Della Lucia e Oliveira, 1993). A polifagia acontece pela simbiose entre as formigas e o fungo. As operárias depositam enzimas nos materiais vegetais coletados, o que facilita a penetração e o crescimento do fungo, que por sua vez metaboliza o material vegetal (inclusive substâncias tóxicas) à medida que cresce e serve de alimento para a colônia, principalmente as larvas (Erthal, 2004).

A formiga-cortadeira *A. sexdens* não é especializada em alimento líquido, ingerindo menos seiva vegetal que outras espécies (Paul e Roces, 2003). Silva et al. (2003) questionaram o papel nutricional da seiva na dieta dos adultos e sugeriram que as operárias obtêm cerca de 50% de suas necessidades nutricionais lambendo a superfície do fungo a qual é rica em glucose.

Tabela 01: Preferência quanto ao corte de plantas monocotiledôneas (M) e dicotiledôneas (D) para espécies de *Atta* e *Acromyrmex*, registradas no Brasil.

PREFERÊNCIA POR PLANTAS			
<i>Atta</i>	<i>Acromyrmex</i>	Planta	Referências
<i>A. capiguara</i> (saúva-parda)	<i>A. balzani</i>	M	Castellani et al (2007)
<i>A. bispaherica</i> (saúva-mata-pasto)	<i>A. landolti</i>	M	Castellani et al (2007)
<i>A. goiana</i>		M	Castellani et al(2007)
<i>A. vollenweideri</i>		M	Castellani et al(2007)
<i>A. sexdens</i>	<i>A. ambiguus</i> (quenquém-preta-brilhante)	D	Castellani et al (2007)
<i>A. cephalotes</i> (saúva-da-mata)	<i>A. aspersus</i> (quenquém rajada)	D	Castellani et al (2007)
<i>A. opaciceps</i> (saúva-do-sertão-do-nordeste)	<i>A. coronatus</i> (quenquém-de-árvore)	D	Castellani et al (2007)
	<i>A. crassipinus</i> (quenquém-de-cisco)	D	Castellani et al (2007)
	<i>A. disciger</i> (quenquém mirim)	D	Castellani et al (2007)
	<i>A. hispidus</i> (formiga-mineira)	D	Castellani et al (2007)
	<i>A. hystrix</i> (quenquém-de-cisco da Amazônia)	D	Castellani et al (2007)
	<i>A. laticeps laticeps</i> (formiga-mineira-vermelha)	D	Castellani et al (2007)
	<i>A. laticeps nigrosetosus</i> (quenquém campeira)	D	Castellani et al (2007)
	<i>A. lundi lundi</i> (quenquém-mineira-preta)	D	Castellani et al (2007)
	<i>A. muticinodus</i> (quenquém-mineira-de-duas-cores)	D	Castellani et al (2007)
	<i>A. niger</i> (quenquém-mineira)	D	Castellani et al (2007)
	<i>A. nobilis</i> (quenquém-mineira da Amazônia)	D	Castellani et al (2007)
	<i>A. rugosus rugosus</i> (formiga mulatinha ou lavadeira)	D	Castellani et al (2007)
	<i>A. rugosus rochai</i> (formiga quiçaça)	D	Castellani et al (2007)
	<i>A. subterraneus subterraneus</i> (formiga caiapó)	D	Castellani et al (2007)
	<i>A. subterraneus brunneus</i> (quenquém-de-cisco-da-gráuda)	D	Castellani et al (2007)
	<i>A. subterraneus molestans</i> (quenquém-caiapó-capixaba)	D	Castellani et al (2007)
<i>A. laevigata</i> (saúva-cabeça-de-vidro)	<i>A. lobicornis</i> (formiga-de-monte-preta)	MD	Castellani et al (2007)
	<i>A. lundi</i>	MD	Castellani et al (2007)
	<i>A. striatus</i> (formiga-de-rodeio ou de eira)	MD	Castellani et al (2007)
	<i>A. heyeri</i>	MD	Castellani et al (2007)
<i>A. robusta</i> (saúva-preta)		MD	Endringer (2011)

O comportamento de forrageamento de formigas é um processo complexo, que pode ser estudado em nível individual, colonial ou ambos (Schlindwein, 2004). Em cortadeiras esse comportamento envolve a seleção, o corte e o transporte do material vegetal para o ninho, que pode ser explicado por cinco hipóteses de seleção, segundo Della Lucia e Oliveira (1993). A primeira está relacionada com a presença ou ausência de compostos secundários ou aleloquímicos tóxicos às formigas ou ao fungo simbiote. A segunda hipótese está relacionada a compostos secundários que diminuem a digestibilidade do material vegetal pela formiga ou pelo fungo (ex.: taninos). A terceira hipótese diz sobre as necessidades nutricionais específicas do fungo e das formigas, por exemplo, proteínas, carboidratos, lipídios e esteroides. A quarta hipótese está associada às propriedades físicas ou mecânicas das plantas, como espessura das folhas, densidade de tricomas, seiva grossa (ex.: látex) e dureza. A quinta hipótese refere-se ao teor de umidade do vegetal.

Durante a atividade de forrageamento as formigas utilizam estratégias para encontrar e utilizar fontes energéticas de alimento. Isso resulta na interação de comportamentos individuais das operárias e na construção de trilhas (Schlindwein, 2004). As trilhas de recrutamento realizadas por formigas cortadeiras são os caminhos percorridos pelas operárias quando saem à procura de alimento e quando voltam com ele até os olheiros. Podem apresentar até 400 metros de comprimento e 20 centímetros de largura (Della Lucia e Oliveira, 1993).

Segundo Hölldobler e Wilson (1990), cada espécie possui o seu horário de forrageamento, e quanto maior a distância percorrida pela formiga do ninho ao recurso alimentar, mais seletiva ela deverá ser na escolha do alimento. Geralmente, as operárias de formigas cortadeiras são muito ativas durante a noite, mas o forrageamento pode ocorrer pela manhã, quando o sol ainda não está forte, pois a temperatura influencia a atividade de forrageamento. Fowler e Robinson (1979) observaram que *A. sexdens* apresenta limite de tolerância de temperatura para forragear entre 10 a 30°C.

Para a espécie *A. sexdens* a distância do ninho ao recurso pode ser o fator mais importante para a atividade de corte. Schlindwein (2004) constatou que plantas preferidas, mas distantes, foram cortadas menos intensamente que plantas de menor preferência, mas próximas do ninho e dos olheiros. Neste caso, as formigas forrageadoras se deslocariam a uma longa distância do ninho para obtenção do recurso alimentar e seriam mais seletivas em relação à qualidade e à quantidade do

recurso recolhido, ou seja, investiriam no ganho energético do recurso adquirido pelo tempo do percurso (Detrain, 2000).

Em *A. vollenweideri* a distância do ninho à planta explorada influencia a estratégia de forrageamento. Operárias maiores cortam os fragmentos de grama e as menores os transportam até o ninho. Quando a distância entre o ninho e a planta é maior que 28m ocorre o transporte em cadeias, ou seja, o transporte do fragmento acontece com divisão de tarefas entre duas a cinco operárias até chegar com a carga ao ninho. Entretanto, quando o local da planta explorada está até 10m do ninho, a mesma operária corta e transporta sua própria carga (Röschard e Roces, 2003).

A diferença de tamanho de forrageadoras permite que indivíduos se especializem em folhas de diferentes espessura e resistência (Cherrett, 1972). Espécies de *Acromyrmex* cortam um número menor de tipos de vegetação do que espécies de *Atta*, por apresentar menor polimorfismo (Della Lucia e Oliveira, 1993). Por outro lado, quando há elevado polimorfismo, as operárias maiores apresentam maior eficiência em termos de retorno energético para compensar o maior gasto na produção destas operárias (Hölldobler e Wilson, 1990), como operárias grandes (classes 3, 4 e 5) de *A. robusta*, que transportam frutos e sementes para o ninho (Endringer et al., 2012).

## **2.2. Impacto econômico das formigas-cortadeiras**

Muitas espécies de formigas-cortadeiras representam algumas das principais pragas da agricultura, silvicultura e pastagem da região Neotropical (Fowler et al., 1989). No Brasil, nove de quinze espécies de *Atta* catalogadas e vinte e uma das vinte e seis espécies de *Acromyrmex* ocorrem no país (Della Lucia, 2003). Destas, as de maior importância em florestas plantadas são *A. sexdens*, *A. laevigata*, *Ac. aspersus*, *Ac. crassispinus*, *Ac. disciger*, *Ac. niger* e *Ac. subterraneus subterraneus* (Lima et al., 2001).

Estima-se que somente as espécies de *Atta* são responsáveis pelo corte de aproximadamente 15% das folhas produzidas nas florestas tropicais da América (Hölldobler e Wilson, 1990, Wilson, 1980), podendo uma colônia adulta de *A. sexdens* desfolhar uma árvore em menos de 24 horas e consumir até uma tonelada de folhas por ano (Attygalle e Morgan, 1985).

No Brasil, as formigas-cortadeiras são consideradas como principais pragas de eucaliptais e de *Pinus* (Boaretto e Forti, 1997; Zanetti et al., 2000; Zanuncio et al., 2002; Zanetti et al., 2003). Segundo Oliveira (1996), a desfolha total de árvores de *Eucalyptus grandis* corresponde a 13% da perda de volume de madeira ao final do ciclo da cultura, chegando a reduzir em 45% sua produção em madeira (Freitas e Berti Filho, 1994), com custo de até U\$ 8,26/ árvore (Della Lucia e Souza, 2011).

Em reflorestamentos de *Eucalyptus spp.* as cortadeiras causam perdas diretas ao provocar morte de mudas e redução no crescimento de árvores. Matrangolo et al. (2010) relataram que quanto maior o número de desfolhas sucessivas, maior é a perda de mudas e da relação entre diâmetro e altura. A perda é mais evidente em plantas que sofrem mais de três desfolhas sucessivas. Além disso, há perdas indiretas como a redução da resistência das árvores à ação de outras pragas ou patógenos (Zanetti, 2007).

Para abastecer quatro saueiros adultos por hectare são necessárias 344 árvores de *Eucalyptus* ou 644 árvores de *Pinus* por ano (Sousa, 1996), o que representa prejuízo de 1,2 bilhão de árvores/ano (tratando-se de madeira) e 3,6 bilhões de árvores/ano (tratando-se de celulose) para o setor florestal brasileiro (Della Lucia e Souza, 2011).

Estudos de danos em culturas agrícolas e pastagens são escassos. Para pastagens, além de danos indiretos, como erosão do solo ao redor dos formigueiros e redução do valor de terras infestadas (Della Lucia, 1999), as cortadeiras são responsáveis por uma redução superior a 50% da capacidade de pastoreio. O consumo de 10 saueiros adultos é equivalente ao consumo de um bovino adulto (aproximadamente 21 kg de capim por dia) (Picanço, 2000). Para o cultivo agrícola, lavouras de cana-de-açúcar com um saueiro por hectare podem perder 3,6t/ha/ano de cana, que é o equivalente a perder 450kg de açúcar ou 300L de álcool (Dow Agrosiences, 1998), um prejuízo anual de US\$ 60 milhões para o país (Della Lucia e Souza, 2011).

### **2.3. Utilização de iscas granuladas no controle de formigas-cortadeiras**

A isca granulada formicida compreende um substrato atrativo, geralmente constituído de polpa cítrica, em mistura com um princípio ativo tóxico diluído em óleo de soja (Oliveira, 2006).

Conforme Boaretto e Forti (1997), o emprego de iscas granuladas é considerado um método eficiente, prático e econômico, uma vez que oferece segurança ao operador, dispensa mão de obra e equipamentos especiais e possibilita o tratamento de formigueiros em lugares de difícil acesso.

Os métodos de aplicação de iscas granuladas, segundo Laranjeiro (1994), podem ser de dosagem única ou porta-isca. No primeiro, com base na área de terra solta (maior comprimento x maior largura) de cada colônia encontrada no terreno, a dose de isca por olheiro ativo será definida (6 a 10g/ m<sup>2</sup> de terra solta, dependendo do fabricante do produto). Assim, a distribuição das doses será realizada mantendo-se uma distância mínima de 25cm entre elas. Contudo, este método apresenta limitação de utilização em períodos chuvosos e intoxicação de espécies não alvo (Oliveira, 2006). Os porta-iscas, por sua vez, são saquinhos de polietileno, contendo cerca de 20g de isca cada. Dois tipos de aplicação podem ser realizados: sistemático, para uma área de grande infestação, variando entre cerca de 40 e 80 porta-iscas por hectare; e localizado, para infestações pontuais de formigueiros com área de terra solta superior a 4,5m<sup>2</sup>. A aplicação localizada de porta-isca é sempre manual, mas a sistemática pode ser realizada com aplicadores, caminhando regularmente na área, ou com a utilização de trator (Laranjeiro, 1994).

Iscas transportadas para o interior dos ninhos são fragmentadas e distribuídas uniformemente por toda a colônia, sendo manipuladas pelas operárias por “lambadura” (Moreira et al., 2003; Pretto e Forti, 2000). Após seis a oito horas as iscas, completamente fragmentadas, são incorporadas ao jardim de fungo sofrendo maior fragmentação e adquirindo umidade, o que impossibilita sua remoção posterior (Boaretto e Forti, 1997).

Na preparação de iscas tóxicas eficientes e economicamente viáveis para o controle de formigas é fundamental conhecer a qualidade e a forma de ação dos ingredientes ativos. Além de ter ação lenta e ser rapidamente degradável quando exposto ao ambiente, o ingrediente ativo deve atender outros requisitos básicos: não apresentar efeito repelente, agir em baixas concentrações, ter ação cumulativa por ingestão e apresentar baixa toxicidade aos mamíferos (Bueno e Campos-Farinha, 1999; Etheridge e Phillips, 1976; Forti et al., 1993).

A partir de 1970 teve início o uso da isca granulada à base de dodecacloro (organoclorado) e na década de 80 surgiu o porta-isca, para minimizar danos causados à fauna (Bansho et al., 1994). Em 1992, houve a proibição do uso dos

organoclorados como defensivos agrícolas no Brasil, o que culminou com a substituição do princípio ativo das iscas, dodecacloro por sulfluramida.

Atualmente, os ingredientes ativos mais utilizados em iscas são sulfluramida e fipronil (Sixel e Gomez, 2008), únicos produtos registrados e legalizados no mercado, porém clorpirifós, deltametrina e diflubenzuron, entre outros, ainda são utilizados (Della Lucia et al., 2014).

Diversos estudos têm comprovado a elevada eficiência das iscas à base de sulfluramida no controle de saúvas que cortam dicotiledôneas, com registros de 90 a 100% de mortalidade de ninhos. Esse sucesso de controle está refletido em dados de 1997, que revelam um consumo de 12 mil toneladas de iscas (Boareto e Forti, 1997).

Com a crescente utilização de químicos no controle de formigas-cortadeiras, programas de manejo integrado foram iniciados na década de 90, para reduzir o custo do controle e a intensidade de inseticidas e, também, atender exigências de agências certificadoras (Silva et al., 2011).

#### **2.4. Princípios ativos alternativos para iscas formicidas**

Inseticidas botânicos, produtos que utilizam compostos com ação inseticida obtidos de diversos órgãos de vegetais (inclusive moídos e reduzidos a pó) (Wiesbrook, 2004), apesar de populares e importantes entre as décadas de 30 e 40 no Brasil (Menezes, 2005) foram gradativamente substituídos pelos sintéticos, pois produtos naturais necessitavam de várias aplicações em períodos curtos, o que despendia em mão de obra, enquanto os sintéticos apresentam alto efeito residual, com ação mais rápida (Costa et al., 2004).

Atualmente, está ocorrendo o oposto, pois o uso prolongado de produtos químicos de forma incorreta e indiscriminada levou ao acúmulo de resíduos tóxicos em alimentos e no ambiente, através da contaminação da água e do solo, além da intoxicação de produtores rurais, surgimento de resistência e redução de inimigos naturais (Kim et al., 2003; Costa et al., 2004; Menezes, 2005). Logo, a busca por compostos naturais que causem menor agressão à saúde e ao ambiente se intensificou.

Inseticidas botânicos são metabólitos secundários de plantas (Kim et al., 2003) e podem derivar de toda a planta ou de partes dela. Seus princípios ativos

podem ser obtidos do próprio material vegetal moído e reduzido a pó ou farinha, ou através da extração aquosa ou com solventes orgânicos (Menezes, 2005).

Algumas espécies vegetais relatadas como eficientes no controle das formigas-cortadeiras ou do fungo simbionte são: *Canavalia ensiformis* (Fabaceae) (Hebling et al., 2000a), *Ipomoea batatas* (Convolvulaceae) (Hebling et al., 2000b), *Sesamum indicum* (Pedaliaceae) (Ribeiro et al., 1998; Bueno et al., 2004a, 2004b; Morini et al., 2005), *Ricinus communis* (Euphorbiaceae) (Acácio-Bigi et al., 1998, 2004), *Ateleia glazioviana* (Fabaceae) (Cantarelli et al., 2005); *Cipadessa fruticosa* (Meliaceae) (Leite et al., 2005), *Simarouba versicolor* (Simaroubaceae) (Peñaflor et al., 2009), *Eugenia florida* e *Eugenia handroana* (Myrtaceae), *Trichilia pallida* (Meliaceae) e *Zanthoxylum pohlianum* (Rutaceae) (Torres et al., 2014).

Hebling et al (2000a), mantendo colônias de laboratório de *A. sexdens rubropilosa* diariamente com folhas de *C. ensiformis* (feijão de porco) ou eucalipto (controle), observaram uma redução do jardim de fungo significativa após a segunda semana com folhas de feijão de porco e uma mortalidade de operárias significativa a partir da quinta semana. Com onze semanas ocorreu a morte do formigueiro. Da mesma forma, Hebling et al (2000b) verificaram a toxicidade de folhas de *I. batatas* (batata-doce), com mortalidade de operárias e redução significativa do jardim de fungo após a segunda semana e morte das colônias após 5 semanas de tratamento.

Trabalhos realizados por Ribeiro et al. (1998), Bueno et al. (2004a, 2004b) e Morini et al. (2005) identificaram compostos tóxicos para as formigas e o fungo simbionte de *A. sexdens rubropilosa* em extratos de *S. indicum* (gergelim). As folhas desta planta possuem ácidos graxos inibidores do fungo simbionte e açúcares nocivos às formigas. Extratos de sementes de gergelim também são nocivos às formigas, devido aos triglicerídeos, sesamina e sesamolina.

Acácio-Bigiet al. (1998), testando extratos foliares de *R. communis* (mamona) contra *A. sexdens rubropilosa*, verificaram toxicidade nas operárias e identificaram anos depois, que ácidos graxos reprimem o crescimento do fungo simbionte e que a ricinina apresenta efeito inseticida nas operárias (Acácio-Bigi et al., 2004).

Leite et al. (2005) verificaram que extratos de frutos, ramos e folhas de *C. fruticosa* reduziram a sobrevivência de operárias de *A. sexdens rubropilosa* e que extratos de frutos e de ramos inibiram em 80% o desenvolvimento do fungo.

Cantarelli et al. (2005) utilizaram isca comercial (Citromax) a base de *A. glazioviana* (timbó), feitas a partir de extratos contendo o flavonoide rutina e verificaram eficiência superior a 85% no combate de ninhos de *Ac. lundii*.

Peñaflor et al. (2009) verificaram que extratos metanólicos brutos (fração diclorometano) de *S. versicolor* ingeridos por operárias e via meio de cultivo para o fungo, causaram mortalidade para as formigas e redução no crescimento do fungo simbionte de *A. sexdens*. Alcaloides e triterpenoides seriam os responsáveis pela toxicidade observada.

Torres et al. (2014) investigaram 70 extratos de plantas do cerrado de Minas Gerais e quatro espécies apresentaram atividade inseticida após 96 horas da ingestão por operárias de *A. sexdens rubropilosa*: *E. florida*, *E. handroana*, *T. pallida* e *Z. pohlianum*.

Óleos essenciais de plantas aromáticas também possuem ação inseticida (Isman, 2000), como o óleo da citronela, presente no capim-limão (*Cymbopogon citratus*) e no eucalipto citriodora (*Eucalyptus citriodora*) (Menezes, 2005). Para formigas-cortadeiras óleos com efeitos inseticidas foram verificados em sementes de *Citrus sinensis*, *C. limon*. ou *C. reticulata* (Fernandes et al., 2002).

Fernandes et al. (2002), verificaram o efeito de óleos de citrus contra *A. sexdens rubropilosa*. O extrato hexânico das sementes de limão siciliano foi o mais ativo, resultando em 60% de inibição do crescimento do fungo na concentração de 200 µg/mL, enquanto óleo da semente de tangerina foi o mais promissor para possível aplicação como inseticida.

Muitas plantas são capazes de apresentar efeitos inseticidas e as pesquisas com extratos vegetais visam buscar novos princípios ativos. Esses princípios atuam via contato ou ingestão e buscam atingir principalmente as jardineiras, que cultivam o fungo simbionte, ao invés de atingir diretamente o fungo ou a rainha, que são as fontes vitais do formigueiro (Gandra et al, 2016).

Trabalhos com extratos vegetais na formulação de farinha (de raízes, de ramos, de folhas, de flores, de frutos ou de sementes) devem ser incentivados por apresentarem potencial de utilização contra as formigas-cortadeiras e conferirem menor risco ao ambiente e operador.

## 2.5. Feromônio de trilha e seu potencial de uso em iscas

Durante a atividade de forrageamento as formigas-cortadeiras marcam percurso com traços de odores que possibilitam a outros indivíduos da mesma colônia segui-lo (Morgan, 2009). Esses odores são produzidos pela glândula de veneno, localizada na extremidade do gáster das formigas (Fig.1), e sua deposição forma uma “nuvem de odor” que permite a orientação das formigas por movimentos de antena em ziguezague à fonte alimentar (Jaffé, 2004). Esse odor depositado nas trilhas são feromônios que orientam indivíduos da colônia quanto à exploração de áreas de forrageamento e localização de nova fonte de alimento (Tumlinson et al., 1972; Nascimento e Sant’Ana, 2001, Viana-Bailez et al., 2011). Para retornar devem utilizar, além da marcação da trilha, sinais visuais e gravitacionais (Moreira et al., 1994).

Outra característica das trilhas químicas está no poder de regulação da intensidade de recrutamento, que se obtém alterando as concentrações do feromônio depositado na trilha (Jaffé e Howse, 1979).



Figura 1: Glândula de veneno (B) em *Atta*, localizada na extremidade do gáster (A).

Geralmente as trilhas de forrageamento são temporárias, sendo abandonadas quando a fonte alimentar se esgota. O feromônio de trilha tem persistência variável segundo a espécie (Viana-Bailez et al., 2011) e permanece por até 30 minutos, no caso do composto volátil do feromônio de *A. texana* (Moser e Silverstein, 1967 apud Viana-Bailez et al., 2011), permanece por até 96 horas, para *Ac. subterraneus subterraneus* (Moreira e Della Lucia, 1993).

O feromônio de trilha pode fornecer pistas de memória positiva e negativa para organizar a atividade de forrageamento da colônia. Quando a busca pelo local de forrageamento é bem-sucedida, o feromônio é depositado no caminho de volta para o ninho e a pista feromonal se intensifica à medida que mais operárias adicionam feromônio e ocorre uma memória positiva. A pista decai quando o alimento é executado fora do local de forrageamento, porque forrageadoras deixam de reforçá-lo em seu retorno e o feromônio existente evapora fornecendo uma memória negativa (Duncan, 2006).

As trilhas químicas de formigas cortadeiras são multicomponentes e dependem de dois componentes funcionais, um volátil que regula o recrutamento e outro menos volátil, que orienta as formigas ao longo da trilha (Hölldobler e Wilson, 2008). Os principais componentes do feromônio de trilha na maioria das espécies de *Acromyrmex* e *Atta* são M4MP2C (metil-4- metilpirrol-2-carboxilato) e 3M25DMP (3-etil-2,5-dimetilpirazina). Na maioria das espécies do gênero *Atta* o pirrol é o principal componente feromonal, mas em *A. sexdens* é a pirazina (Evershed e Morgan, 1983; Cross et al., 1979).

Ao verificar a ação conjunta da pirazina (3E25DMP) e pirrol (M4MP2C), Billen et al. (1992), comprovaram que a proporção 14:1 foi a que teve melhor desempenho quanto ao seguimento de trilha por operárias médias de *A. sexdens sexdens* e concluíram que esta é a proporção existente no feromônio de trilha natural da glândula de veneno das formigas-cortadeiras.

O feromônio de trilha tem sido pesquisado para utilização em iscas, por poder promover o incremento da atratividade de iscas granuladas (Robinson e Cherrett, 1978; Cross et al., 1979; Tatagiba-Araujo et al., 2012). O grande desafio para aplicação comercial do feromônio de trilha é encontrar uma única mistura de componentes feromonais capazes de obter resposta comportamental para as principais espécies de formigas-cortadeiras (Vilela, 1994).

Em laboratório, Robinson e Cherrett (1978), incorporaram feromônio sintético de trilha M4MP2C em iscas formuladas com polpa cítrica e ofereceram a *Ac. octospinosus*, *A. cephalotes* e *A. sexdens* e verificaram que o encontro das iscas pelas formigas foi facilitado, mas teve ação repelente em altas concentrações.

Cross et al. (1979) verificaram que iscas impregnadas com 3E25DMP e 2E25DMP (2-etil-2-5 dimethyl pirazine), não foram atrativas para *A. sexdens*

*rubropilosa*. Porém, Vilela e Howse (1988) incrementaram a atratividade de grânulos de vermiculita com pirazina 3E25DMP.

Morgan et al. (2006), verificaram que a quantidade da pirazina 3E25DMP presente no feromônio de trilha de *A. sexdens sexdens* está diretamente relacionada ao tamanho das operárias, variando de 0 a 35ng por indivíduo e que a concentração ótima do feromônio sintético descrito por Billen et al. (1992), situa-se entre 15 e 150 pg/cm. Morgan et al. (2006) ainda relataram que trilhas químicas homocoloniais, feitas com extrato de glândulas de veneno seriam preferidas.

Tatagiba-Araujo (2011), utilizando ninhos de *A. sexdens* em laboratório, verificou que iscas com polpa cítrica são mais transportadas para o ninho quando impregnadas com extrato de glândula de veneno. No campo, Tatagiba-Araujo et al. (2012) verificaram que iscas granuladas de polpa cítrica, junto a septo impregnado com extrato de glândula de veneno foram percebidas e transportadas ao interior dos ninhos mais rápido que iscas sem septo.

Em bioensaios de laboratório, Bastos (2014), impregnou iscas plásticas com extrato de glândula de veneno e observou que elas são mais transportadas que iscas sem extrato para os ninhos de *A. sexdens* e são distribuídas com maior concentração na câmara da rainha.

Esses trabalhos refletem o potencial do feromônio de trilha no incremento de iscas granuladas, influenciando a aceitação delas e seu transporte para dentro do ninho.

### 3. TRABALHOS

#### UTILIZAÇÃO DE FEROMÔNIOS EM ISCAS GRANULADAS: DISTRIBUIÇÃO, PERSISTÊNCIA E FORMULAÇÃO

##### RESUMO

O controle de formigas-cortadeiras é realizado principalmente através de iscas químicas. Compostos que incrementem a atratividade dessas iscas, reduzindo o tempo de exposição no campo e modificando sua distribuição interna nos ninhos são desejáveis. O feromônio de trilha (extrato da glândula de veneno) e de reconhecimento (hidrocarbonetos cuticulares) vem sendo estudado nesse sentido. O presente trabalho buscou investigar se a impregnação de iscas, com feromônio modifica a distribuição de iscas dentro do ninho; definir qual é o tempo de persistência do feromônio de trilha em iscas; e verificar qual a melhor formulação deste feromônio em iscas. Foram realizados três bioensaios. (i) Para verificar a distribuição de iscas impregnadas com extratos de um ninho de *A. sexdens*, este foi dividido em duas subcolônias, distribuídas em múltiplas câmaras interligadas, uma subcolônia com rainha e outra sem. Iscas impregnadas com extratos de glândula de veneno, de cutícula de operárias mínimas ou solvente (controle) foram oferecidas. Durante duas horas registrou-se o número de iscas transportadas e a distribuição de iscas nas câmaras. O número de iscas transportadas foi analisado por teste de ANOVA e, a frequência de distribuição das iscas entre as câmaras foi analisada pelo teste de  $\chi^2$ . (ii) Para testar o tempo de persistência do feromônio em iscas, quatro ninhos de *A. sexdens* receberam iscas impregnadas com feromônio de trilha ou com solvente (controle) após 0,5h, 24h, 48h e 72h da impregnação. O número de iscas

transportadas foi analisado mediante ANOVA. (iii) Para comparar formulações do feromônio em iscas, dois ninhos de *A. sexdens* receberam: (1) iscas com feromônio; (2) iscas com septo com feromônio; (3) MIPI com feromônio; (4) iscas com feromônio em MIPI; (5) septo com feromônio em MIPI; e um controle (iscas sem feromônio). As melhores formulações foram submetidas a um novo teste de escolha. O primeiro teste de escolha foi analisado por teste de  $\chi^2$ (esperado *versus* observado) e por teste de Kruskal-Wallis para o intervalo de tempo gasto no transporte das iscas. O segundo teste de escolha foi analisado por ANOVA. A subcolônia sem rainha transportou 50% mais iscas que a colônia com rainha e iscas com feromônio de trilha foram mais transportadas independente da colônia. A distribuição das iscas de todos os tratamentos foi homogênea entre as câmaras. Iscas com feromônio foram mais transportadas do que iscas controle até 72 horas após a impregnação, mas a diferença foi maior até 24 horas da impregnação. A formulação do feromônio encontrada e transportada primeiro foi a com aplicação direta em iscas. Tanto iscas com feromônio quanto com septo foram mais transportadas que o controle. O feromônio de trilha pode ser utilizado para incrementar a atratividade de iscas formicidas, pois persiste por até 72 horas em iscas. A formulação recomendada seria impregnação de iscas com o feromônio.

## ABSTRACT

The control of leaf cutter-ants is carried out mainly through chemical baits. Compounds that increase the attractiveness of these baits by reducing the exposure time in the field and modifying their internal distribution in the nests are desirable. The pheromone (poison gland extract) and recognition (cuticle hydrocarbons) have been studied in this sense, and the present work has investigated whether the impregnation of baits with pheromones modifies the distribution of baits within nests; to define the time of persistence of the trail pheromone in baits; and check how best to use this pheromone in baits. Three bioassays were performed. (i) To verify the distribution of baits impregnated with extracts a nest of *A. sexdens* was divided into two subcolonies in a system of multiple chambers. One subcolony with queen and

one without queen. Baits impregnated with poison gland extracts, the smallest workers cuticle extracts and solvent (control) were offered. During two hours, the number of baits transported and the distribution of the baits in the chambers were observed. The bait transport data were analyzed by ANOVA test, followed by Tukey's test, and the bait distribution frequency was analyzed by the  $\chi^2$  test. (ii) In order to test the time of persistence of the pheromone in baits, four nests of *Atta sexdens* received impregnated baits with trail pheromone or solvent (control) after 0.5h, 24h, 48h and 72h of impregnation and the number of baits transported to each of the replicates was submitted to ANOVA and Bonferroni's t-Test for multiple comparisons. (iii) In order to test the best way of using pheromone in baits, two nests of *A. sexdens* received five formulations of pheromone with baits: (1) pheromone in free baits, (2) pheromone in free sept, 3) pheromone in MIPI, (4) pheromone in protected baits, (5) septum protected pheromone; and a control (pheromone without baits). The two best forms of use were submitted to binary test of multiple choices analyzed by  $\chi^2$  test for number of expected versus observed events, Kruskal-Wallis test for the time interval spent in the transport of the baits. The test of binary choices was analyzed by ANOVA. Colony without queen carried 50% more baits than the colony with queen and trail pheromone with baits was more transported independent of the colony. The bait distribution was homogeneously performed for all types of bait. However, trail pheromone with baits showed a trend of sectoral distribution, with a 30% higher concentration of baits in the queen sector, while control or recognition pheromone with baits was distributed in similar proportions, varying less than 10%. Up to 72 hours after impregnation, pheromone with baits was more transported than control baits, however the difference in transport between control baits and treated baits was higher for baits offered up to 24 hours of impregnation, with control baits being less transported. The pheromone in free baits were found and transported more quickly by the workers. . Both pheromone and septum baits were more transported than control. Thus, it was verified that the trail pheromone has qualities to be used in increasing the attractiveness of granulated baits, as it persists for up to 72 hours in baits. And the recommended form of use would be impregnation of the pheromone directly into the baits.

## INTRODUÇÃO

No manejo de formigas-cortadeiras são empregados métodos mecânicos, culturais e físicos, mas o controle químico é o método mais utilizado por apresentar tecnologia disponível para aplicação em escala comercial (Araújo et al., 2003; Oliveira et al., 2011).

Devido aos efeitos adversos causados pelos agrotóxicos sobre o ambiente, houve um aumento no número de pesquisas que objetivam substituir agrotóxicos tradicionais por outros de degradação rápida, de maior especificidade e menos danosos ao ambiente (Morini et al., 2005).

As iscas tóxicas destinadas ao controle de formigas-cortadeiras dos gêneros *Acromyrmex* e *Atta* são formulações de inseticidas sintéticos, muito utilizadas no Brasil (Zanetti et al., 2003). Por isso, a maioria das pesquisas sobre o manejo das cortadeiras, envolve testes de campo e laboratório em busca de novas moléculas, ou para verificar a eficácia dos inseticidas existentes, ou à procura de novas formulações de iscas (Delabie et al., 2000). Iscas comerciais possuem óleo de soja como diluente para o princípio ativo e polpa cítrica, que mascara o inseticida, conferindo atratividade e induzindo o transporte para o ninho (Boaretto e Forti, 1997).

As formulações comerciais de iscas não são igualmente atrativas e ocorrem diferenças entre materiais usados nas formulações. Carlos (2008) investigou a atratividade de iscas formuladas com diferentes tipos de polpa cítrica de laranja pera e diferentes graus de refinação de óleos de soja e verificou que, o endocarpo (bagaço e sementes) e o óleo bruto degomado (rico em ácidos graxos e hidrocarbonetos de cadeias longas) conferiram melhor atratividade às iscas. Essas diferenças de atratividade existentes podem ser responsáveis por um controle deficiente, que provoca a redução da atividade da colônia, mas não sua supressão, condição denominada de amuamento do ninho (Silva, 1972).

Para garantir a eliminação dos ninhos deve-se pensar no controle voltado para a rainha, principalmente no caso de saueiros, que são colônias monogínicas. Nessas colônias há só uma rainha responsável pela produção de ovos e esta pode

viver por até 22 anos em condições de laboratório (Forti, 2000; Zanetti, 2010; Loeck, 2011).

Ingredientes que aumentem a atratividade e aceitação das iscas (Ramos e Forti, 2007), poderiam equilibrar as diferenças de atratividade existentes. Do mesmo modo, compostos que favoreçam o transporte e direcionamento à câmara da rainha poderiam garantir a morte do ninho. Nesse sentido, Vilela (1994) sugere que iscas podem ter sua atração elevada com a adição de feromônios específicos que também ocultam o efeito nocivo das iscas.

Tatagiba-Araujo et al. (2012) verificaram que iscas formuladas com polpa cítrica foram mais atrativas para *A. sexdens* quando acompanhadas de septos de borracha impregnados com extrato de glândula de veneno (feromônio de trilha). As iscas no campo foram encontradas mais rápido, aceitas e transportadas para os ninhos. Bastos (2014) observou que iscas feitas de canudos plásticos impregnadas com extrato de glândula de veneno foram distribuídas próximas à rainha.

Outro feromônio que merece investigação é o de reconhecimento parental. Este feromônio é composto por hidrocarbonetos cuticulares (Lenoir et al., 1999), que possibilitaram através de contatos antenais a identificação de companheiros de ninho e rejeitar estrangeiros (Viana-Bailez et al., 2011).

Glancey et. al (1970), impregnaram grãos de milho com extrato de larva (hidrocarbonetos cuticulares) e observaram que operárias de *Solenopsis saevissima* trataram-nos como prole por várias horas. Viana (1996) impregnou imitações de larvas de material inerte com extrato cuticular de larva e verificou que operárias de *Ac. subterraneus subterraneus* as manipularam como a imaturos de sua colônia. Tatagiba-Araujo (2011) impregnou iscas com extrato cuticular de larvas e observou que estas foram distribuídas de forma homogênea dentro de ninhos de *A. sexdens*, em laboratório.

Este trabalho teve como objetivos: (1) verificar se iscas impregnadas com extrato de glândula de veneno ou extrato cuticular de operárias mínimas modificam a distribuição das iscas nas câmaras do ninho; (2) verificar a persistência do extrato de glândula de veneno em iscas; e (3) avaliar a melhor formulação do extrato de glândula de veneno como atrativo em iscas.

## MATERIAL E MÉTODOS

### ***Isclas***

Isclas foram elaboradas em formato de peletes de 3mm de comprimento x 5mm de diâmetro e 5mm de comprimento x 1mm de diâmetro. Isclas tratamento e controle foram coradas ou com tinta guache ou com corante alimentar de diferentes cores (Fig.1).

Todas as isclas foram formuladas com polpa cítrica: farinha de trigo, farinha cítrica, suco de laranja e óleo de soja (4: 2: 2,5: 1,5). A fonte cítrica utilizada foi proveniente de laranja pera. Após a extração do suco das laranjas, todo o excedente foi desidratado em forno convencional a 180°C por 6 horas, triturado em liquidificador e peneirado para obtenção da farinha.



Figura 1: Peletes de isclas a base de polpa cítrica com (A) 3mm de comprimento x 5mm de diâmetro e (B) 5mm de comprimento x 1mm de diâmetro.

### ***Extratos***

O extrato de glândula de veneno (EGV) foi preparado utilizando o método de extração por solvente a partir de dez glândulas de veneno em 1mL de diclorometano

(DCM) (Tatagiba-Araujo et al., 2012), e o extrato cuticular (EC) foi obtido pelo método de lavagem de cutícula de cinco operárias mínimas que foram submersas em 1mL de pentano três vezes durante 10 segundos (Tofolo et al., 2012). Após a evaporação do pentano foi adicionado 1mL do solvente diclorometano. Os extratos foram armazenados até sua utilização a 4°C.

### **Colônias de Formigas**

Ninhos adultos de *A. sexdens* coletados no campo foram mantidos a  $80 \pm 10\%$  UR e  $25 \pm 2^\circ\text{C}$  (Della Lucia et al., 1993) e folhas de alfeneiro (*Ligustrum sp.*) ou acalifa (*A. wilkezi*) foram ofertadas diariamente para cultivo do fungo simbiote.

### **Bioensaio 1: Distribuição de Iscas com Extratos nas Câmaras do Ninho**

Um ninho de *A. sexdens* foi dividido em duas subcolônias. Uma subcolônia manteve a rainha e outra subcolônia não. Cada subcolônia foi instalada em potes plásticos transparentes de 250mL interligados por tubos de silicone entre si e a uma arena de forrageamento (Fig.2). A rainha sempre foi mantida na mesma câmara (E2).

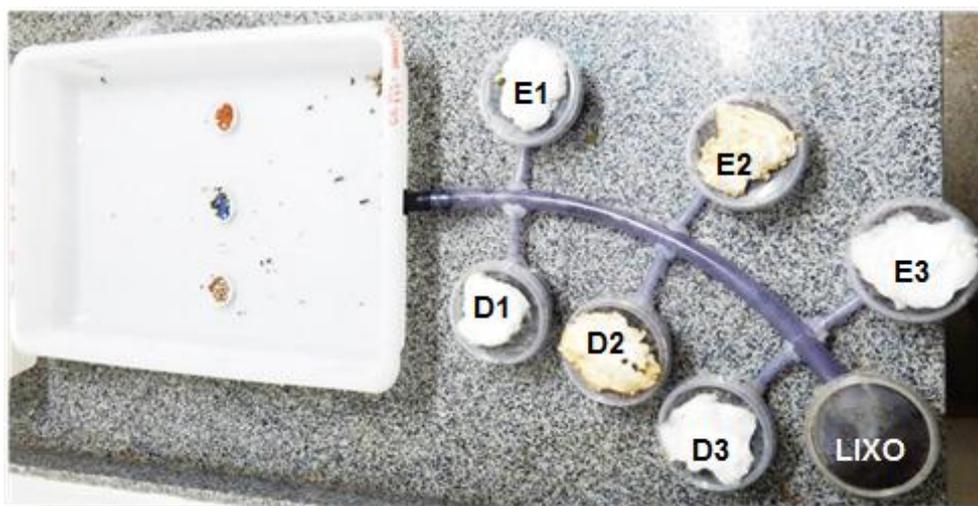


Figura 2: Ninho de *Atta sexdens* com câmaras de fungo interconectadas por tubos de silicone (túneis) a uma arena de forrageamento. (D) Câmaras à direita da entrada e (E) câmaras à esquerda.

Cinquenta iscas impregnadas com 10 $\mu$ L de extrato/isca e cinquenta impregnadas com 10 $\mu$ L solvente/isca (controle) foram oferecidas às colônias 30 minutos após a impregnação, simultaneamente. As iscas foram colocadas na arena de forrageamento em locais e com cor aleatorizados em cada teste. O transporte de iscas foi registrado a partir da retirada da primeira isca e foi finalizado após 30min. Após duas horas registrou-se a distribuição das iscas nas câmaras das colônias.

O número de iscas transportadas e mantidas nas câmaras foi analisado mediante ANOVA. A distribuição de iscas nas câmaras foi comparada por teste de  $\chi^2$  com a distribuição esperada. O número de iscas de cada tratamento mantido na mesma câmara foi analisado por comparação múltipla com o teste de  $\chi^2$  2x2.

### ***Bioensaio 2: Persistência do Extrato de Glândula de Veneno em Iscas***

Para avaliar a persistência do extrato de glândula de veneno em iscas, foram realizados testes de escolha colocando iscas impregnadas com feromônio (iscas tratadas) e iscas impregnadas com solvente (iscas controle) em repouso depois de impregnadas por tempos variáveis de utilização.

Nos testes avaliou-se em quatro colônias de *A. sexdens* o transporte de iscas tratadas e não tratadas (10 repetições). Foram utilizadas iscas submetidas a quatro tratamentos:

- (1) 1/2 hora após a impregnação;
- (2) 24 horas após a impregnação;
- (3) 48 horas após a impregnação;
- (4) 72 horas após a impregnação.

Os testes tiveram 30 minutos de duração ou até que iscas (tratadas ou controle) fossem completamente transportadas. Os ninhos permaneceram sem substrato vegetal até 24 horas antes de cada teste.

Cada isca foi impregnada em 10 $\mu$ L de feromônio ou solvente. As iscas foram oferecidas na arena de forrageamento, em duas placas de Petri ( $\Phi$ = 7cm) contendo 50 iscas tratadas e 50 iscas com solvente (Fig.3).

Uma ponte de PVC permitiu o acesso das formigas à arena. O tempo de teste foi registrado a partir da ocorrência da primeira isca transportada. A posição das placas tratamento e controle foi alternada a cada teste.



Figura 3: Arena de teste para o bioensaio “persistência do feromônio de trilha em iscas”.

O número de iscas transportadas foi registrado e os dados analisados por meio de Análise de Variância (ANOVA) para três fatores: (A) iscas tratadas e iscas controle; (B) persistência das iscas; e (C) ninhos. O teste de comparação de médias utilizado foi o Teste-t de Bonferroni.

### ***Bioensaio 3: Formulação de iscas com Extrato de Glândula de Veneno***

Dois ninhos de *A. sexdens* foram conectados à arena de forrageamento contendo seis opções de iscas:

- (1) Iscas sem extrato (controle);
- (2) Iscas impregnadas individualmente com extrato;
- (3) Iscas junto a septo impregnado com extrato;
- (4) Iscas em micro-porta-isca (MIPI), impregnadas com extrato;
- (5) Iscas impregnadas com extrato em MIPI;
- (6) Iscas junto a septo impregnado com extrato em MIPI.

Em cada opção foram ofertadas cem iscas e a impregnação com extrato foi realizada 30 minutos antes dos testes: 10 $\mu$ L de extrato por isca, ou 1000 $\mu$ L de extrato por septo, ou 1000 $\mu$ L de extrato por MIPI.

As iscas foram colocadas no interior de potes plásticos (0,3L) com um acesso na base para as formigas (Fig.4A) e dispostas em fileiras, em ambos os lados da bandeja (Fig.4C). Após jejum de 24 horas as colônias foram conectadas na

bandeja com os tratamentos e registrou-se em qual câmara coleta-se a primeira isca e o tempo até a escolha. Os testes foram repetidos dez vezes em cada ninho e a posição das câmaras foi alterada em cada teste. A arena foi lavada com álcool 70%.

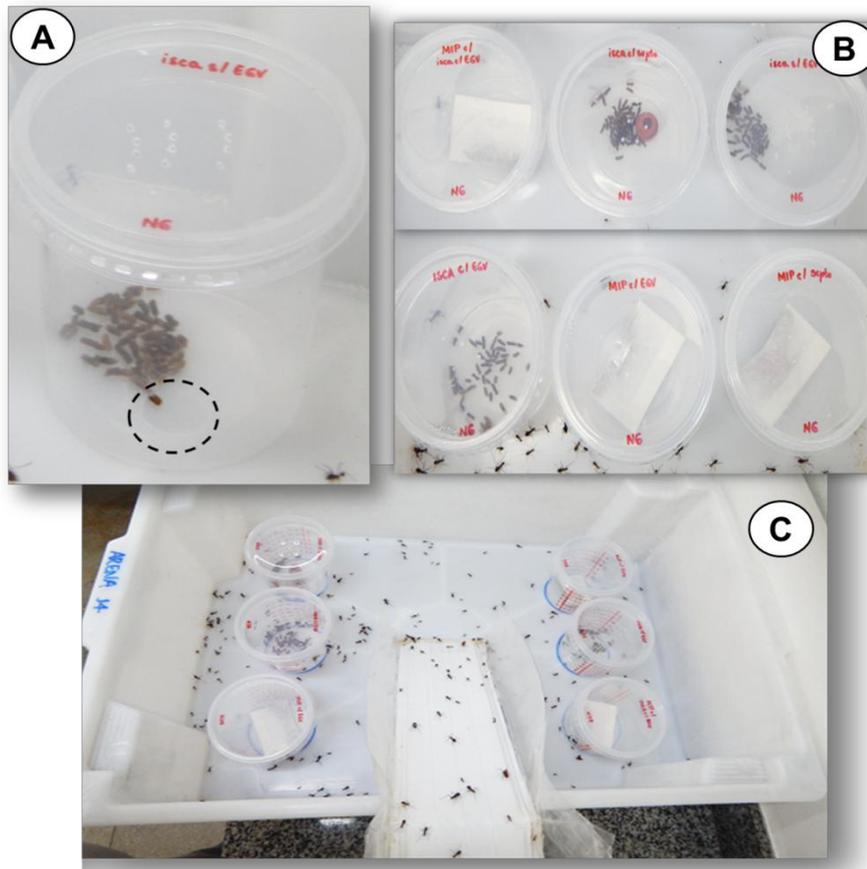


Figura 4: Disposição dos tratamentos (iscas impregnadas com extrato de glândula de veneno de *Atta sexdens*). (A) Detalhe da abertura da câmara para passagem de formigas. (B) Câmaras com os diferentes tratamentos. (C) Distribuição das câmaras na arena de forrageamento.

Utilizou-s o teste de  $\chi^2$  para comparar o número de vezes que o evento foi observado com o número de vezes que os eventos transporte da primeira isca e transporte da última isca foram esperados. A ocorrência esperada dos eventos foi obtida dividindo o número de repetições pelo número de opções de formulação de iscas ( $10:6= 1,67$  aproximadamente 2,0). O tempo gasto no transporte das iscas foi comparado pelo teste de Kruskal-Walis.

As formulações de iscas mais transportadas foram utilizadas para um novo teste de preferência no qual foram utilizados quatro ninhos. Ofereceram-se as iscas dos dois tratamentos na arena e os testes foram repetidos quatro vezes por ninho. Os dados foram analisados por meio de ANOVA para tratamentos e ninhos.

## RESULTADOS

### ***Bioensaio 1: Distribuição de Iscas com Extratos nas Câmaras do Ninho***

Iscas impregnadas com extrato de glândula de veneno foram mais transportadas que as iscas impregnadas com extrato cuticular ou com solvente ( $F_{(0,05;2)}= 9,402$ ;  $p<0,001$ ) (Fig.5).

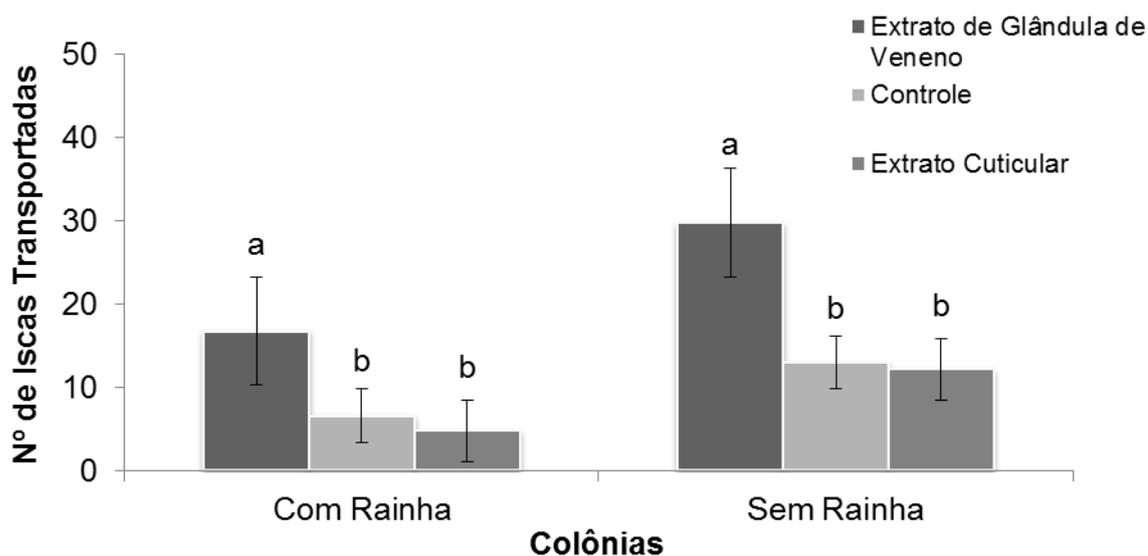


Figura 5: Número de iscas impregnadas com solvente (controle), extrato cuticular (EC) ou extrato de glândula de veneno (EGV), transportadas por operárias de *Atta sexdens* em colônia com rainha e sem rainha. Letras diferentes indicam diferença estatística (Tukey,  $p<0,005$ ).

As iscas impregnadas com solvente, com extrato cuticular e com extrato de glândula de veneno foram distribuídas de forma homogênea nas diferentes câmaras de fungo ( $\chi^2 > 0,05$ ) (Fig.6).

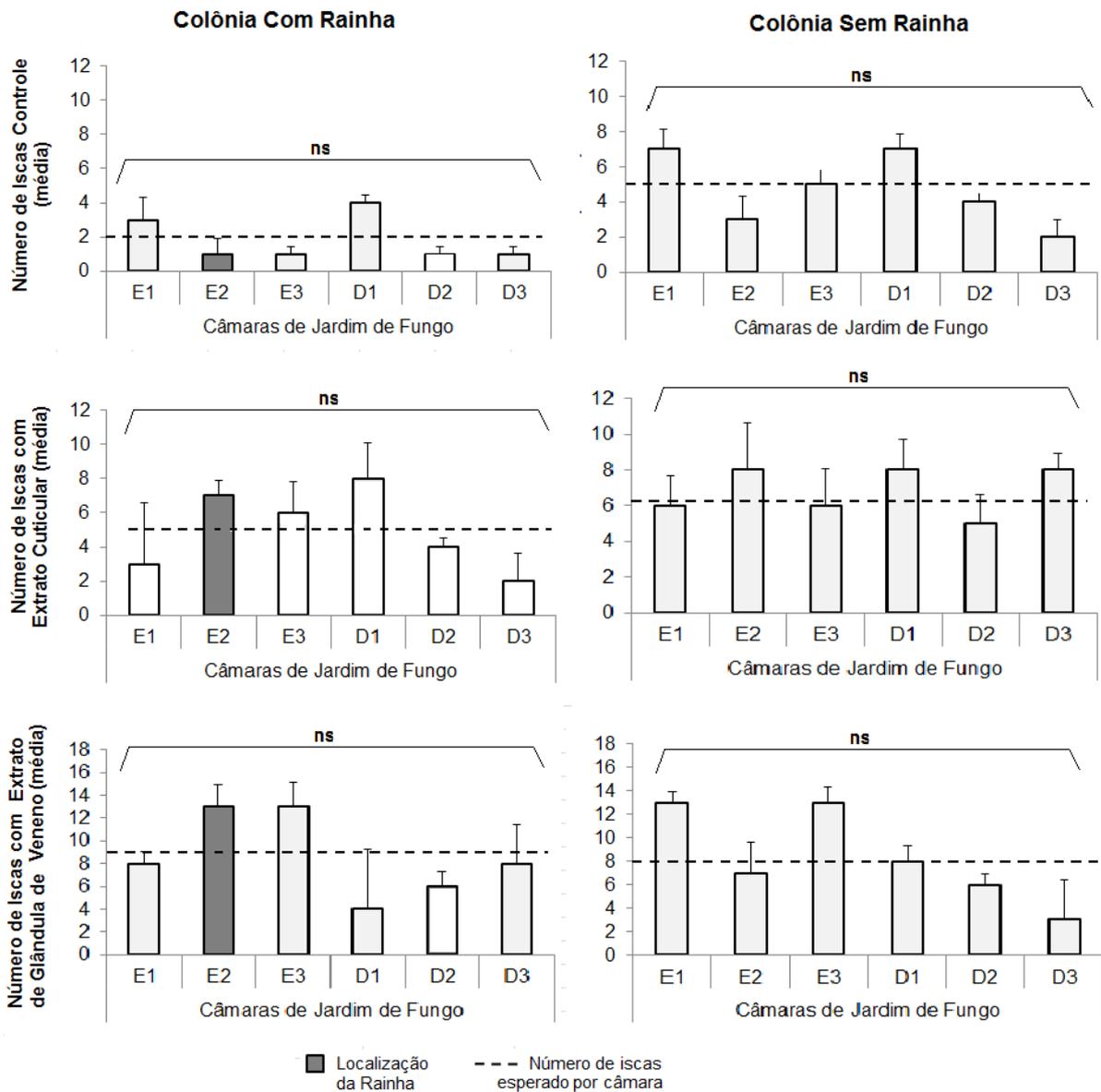


Figura 6: Número de iscas impregnadas com solvente (controle), com extrato cuticular e com extrato de glândula de veneno, transportas às distintas câmaras de fungo de uma colônia de *Atta sexdens* com rainha e sem rainha.

### Bioensaio 2: Persistência do Extrato de Glândula de Veneno em Iscas

Isclas impregnadas com extrato de glândula de veneno foram mais transportadas que isclas com solvente, até 72 horas após a impregnação ( $F_{(0,05;1)}=94,979$ ,  $p<0,001$ ) (Fig.7).

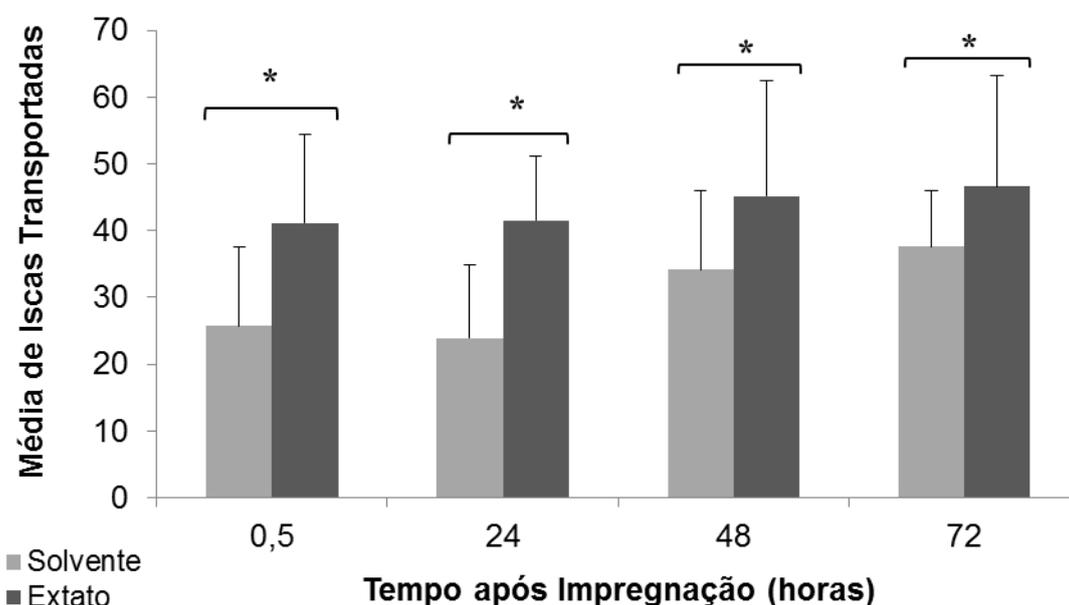


Figura 7: Número médio de isclas transportadas por operárias de *Atta sexdens* após ½, 24, 48 e 72 horas da impregnação com extrato de glândula de veneno (feromônio de trilha) ou solvente (diclorometano). \*Indica diferença estatística (ANOVA,  $p<0,05$ ). Barras indicam Desvio Padrão da Média.

Isclas impregnadas com extrato apresentaram transporte constante, com 50% de probabilidade de transportarem mais de 48 isclas (valor médio de transporte), enquanto isclas impregnadas com solvente apresentaram 50% de probabilidade de transportarem menos de 30 isclas até 24 horas após a impregnação, com transporte ascendente de isclas até 72 horas (Fig.8).

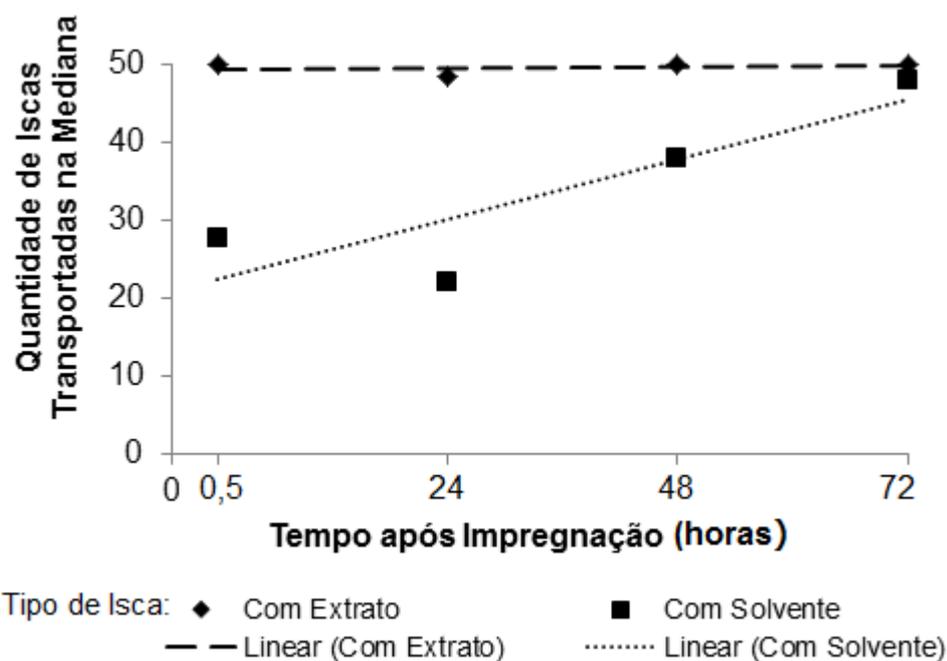


Figura 8: Número de iscas, impregnadas com extrato de glândula de veneno ou solvente (controle), transportadas por operárias de *Atta sexdens* após: 0,5h da impregnação; 24h da impregnação; 48h da impregnação; e 72h da impregnação em 50% dos testes (mediana).

O transporte das iscas impregnadas com extrato de glândula de veneno com diferentes tempos de impregnação foi diferenciado ( $F_{(0,05; 3)} = 11,521$ ,  $p < 0,001$ ). O transporte de iscas oferecidas até 24h após a impregnação foi menor do que o de iscas oferecidas a partir de 48h da impregnação (Bonferroni.  $p < 0,008$ ) (Fig.9).

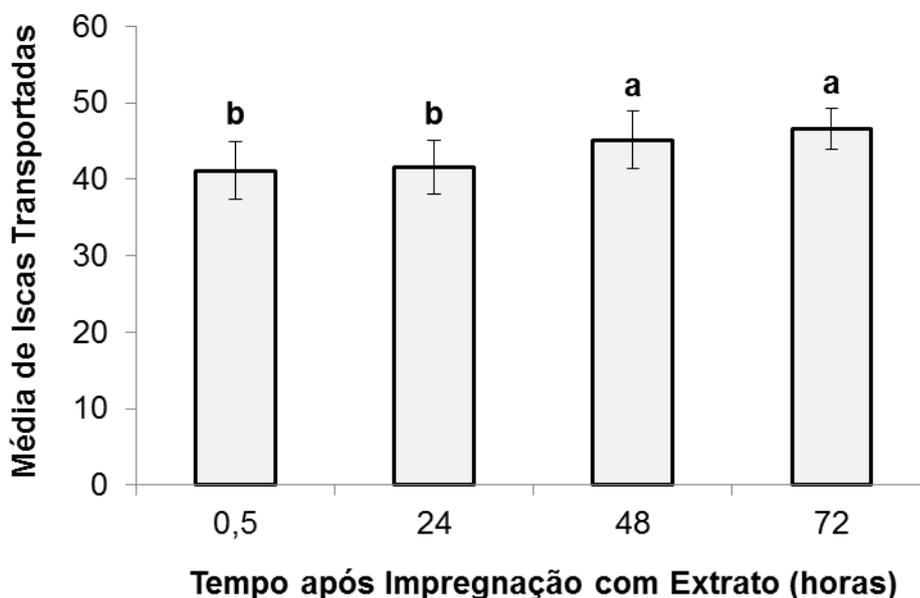


Figura 9: Número médio de iscas transportadas por operárias de *Atta sexdens* após ½, 24, 48 e 72 horas da impregnação com extrato de glândula de veneno. Letras diferentes indicam diferença estatística (Bonferroni.  $p < 0,05$ ). Barras representam Intervalo de Confiança da Média (95%).

### **Bioensaio 3: Formulação de iscas com Extrato de Glândula de Veneno**

Os tempos de transporte das diferentes formulações de iscas foram similares para ambos os ninhos (N1 e N2) (N1:  $H_{(0,05; 5)} = 3,813$ ,  $p = 0,577$ . N2:  $H_{(0,05; 5)} = 9,262$ ,  $p = 0,099$ ), mas a formulação utilizando a impregnação de extrato de glândula de veneno diretamente sobre as iscas foi a melhor, pois foi encontrada e transportada primeiro em ambos os ninhos (N1:  $\chi^2_{(0,05; 5)} = 13,0$ ,  $p < 0,02$ . N2:  $\chi^2_{(0,05; 5)} = 15,0$ ,  $p < 0,01$ ) (Fig.10).

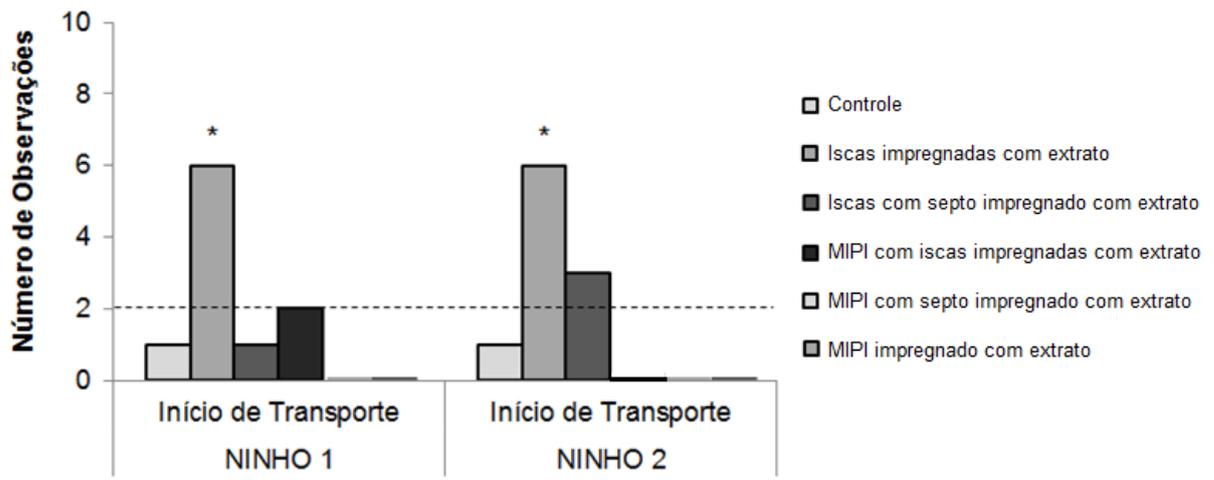


Figura 10: Número de observações em que cada formulação foi encontrada e transportada primeiro para dois ninhos de *Atta sexdens*. Linha pontilhada indica número de observações esperadas para cada formulação. Formulações (1) iscas sem extrato (controle); (2) iscas impregnadas individualmente com extrato; (3) iscas junto a septo impregnado com extrato; (4) iscas impregnadas com extrato em MIPI; (5) iscas junto a septo impregnado com extrato em MIPI; e(6) iscas em micro-porta-isca (MIPI), impregnadas com extrato. \*Indica diferença significativa ( $\chi^2$ .  $p < 0,05$ ).

Para a formulação de iscas junto a septo impregnado com extrato observou-se o transporte do próprio septo para o interior do ninho (Fig.11).



Figura 11: Operárias de *Atta sexdens* realizando tentativas para retirar septos impregnados com feromônio de trilha das câmaras de escolha e transportá-los.

As formulações selecionadas para realização de novo teste foram iscas impregnadas individualmente com extrato e iscas junto a septo impregnado com extrato, pois foram mais transportadas do que o esperado.

Verificou-se que tanto iscas impregnadas individualmente com extrato ( $F_{(0,05; 1)} = 60,488$ ,  $p < 0,01$ ) quanto iscas junto a septo impregnado com extrato ( $F_{(0,05; 1)} = 10,909$ ,  $p = 0,03$ ) provocaram transporte maior de iscas do que o controle (Fig.12).

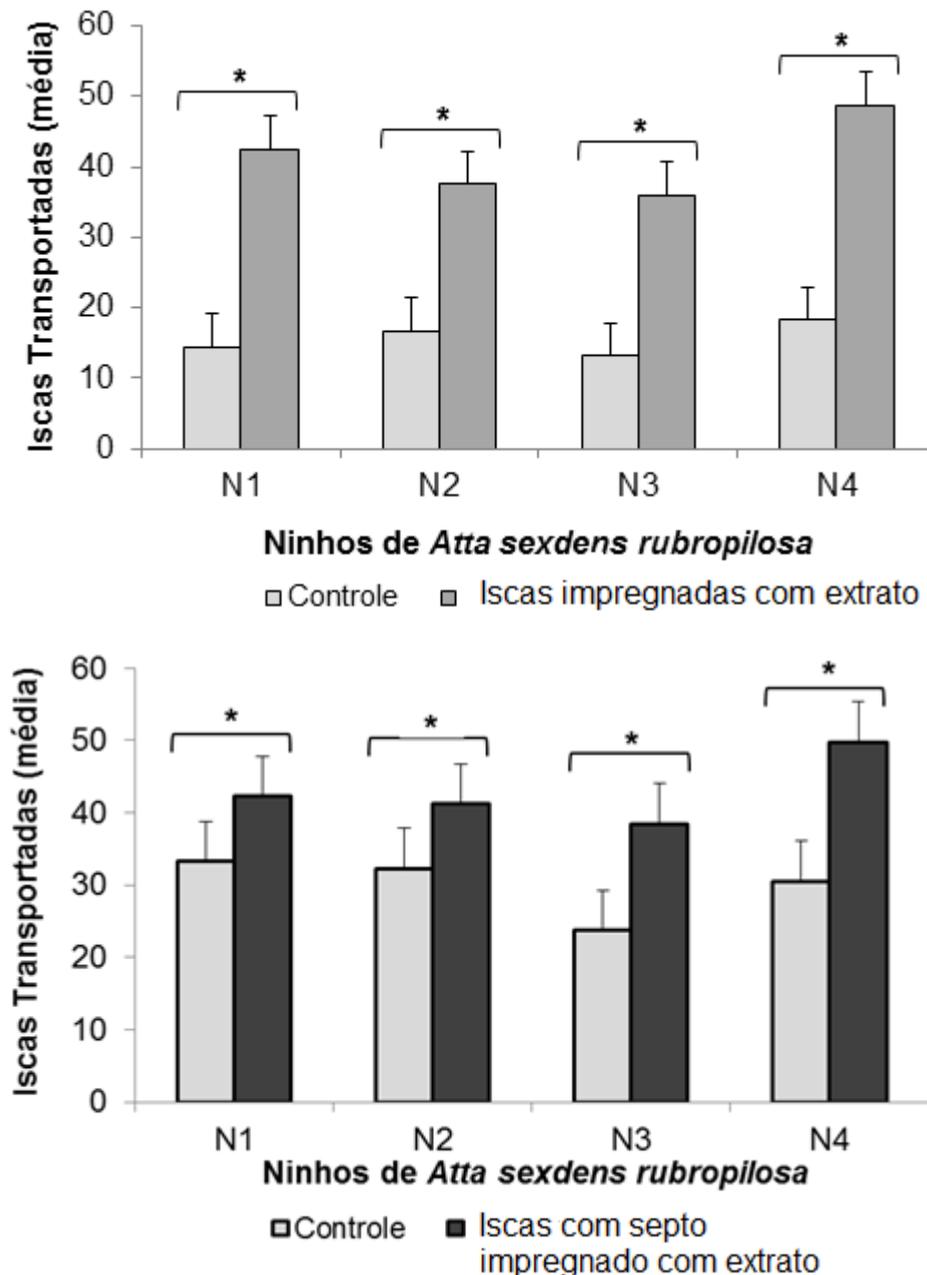


Figura 12: Número de iscas (%) transportadas por quatro ninhos de *Atta sexdens*: (A) iscas impregnadas individualmente com extrato de glândula de veneno *versus* iscas controle; (B) iscas junto a septo impregnado com extrato de glândula de veneno *versus* iscas controle. O controle utilizado em ambos os testes foram iscas sem extrato.\* Indica diferença significativa (ANOVA.  $p < 0,05$ ).

De 50 iscas oferecidas a cada repetição, 51% ( $25,5 \pm 4,637$ ) iscas impregnadas individualmente com extrato de glândula de veneno foram mais transportadas do que iscas controle, enquanto iscas junto a septo impregnado com extrato de glândula de veneno foram 25,27% ( $12,88 \pm 5,566$ ) mais transportadas do que iscas controle. Logo, iscas impregnadas individualmente com extrato foram 25,73% mais transportadas do que iscas junto a septo impregnado com extrato, quando comparado com o controle (Tab.1).

Tabela 1: Número de iscas (%) transportadas por operárias de *Atta sexdens* para dois testes com diferentes formulações: controle *versus* iscas impregnadas individualmente com extrato de glândula de veneno (iscas com EGV) e controle *versus* iscas junto a septo impregnado com extrato de glândula de veneno (septo com EGV). O controle utilizado em ambos os testes foram iscas sem extrato.

<b>FORMULAÇÃO DE ISCAS TRANSPORTADAS</b>				
<b>NINHOS</b>	Controle	Iscas com EGV	Controle	Septo com EGV
<b>1</b>	29,0%	85%	66,5%	84,5%
<b>2</b>	33,5%	75%	65,5%	82,5%
<b>3</b>	26,5%	72%	47,5%	77,0%
<b>4</b>	36,5%	97,5%	61,0%	99,5%
<b>MÉDIA</b>	31,38%	82,38%	60,12%	85,88%
<b>ERRO PADRÃO</b>		$\pm 4,637$		$\pm 5,566$
<b>DIFERENÇA DE MÉDIAS</b>		<b>51%</b>		<b>25,76%</b>

## **DISCUSSÃO**

Iscas impregnadas com extrato de glândula de veneno (feromônio de trilha) foram mais transportadas do que iscas impregnadas com solvente (diclorometano) ou com extrato cuticular. O feromônio de trilha é responsável por comunicar o local, a quantidade e a qualidade do recurso (Viana-Bailez et al., 2011), logo é

compreensível que um fluxo maior de forrageamento seja direcionado ao recurso marcado, como verificado também por Tatagiba-Araujo et al (2012) e Bastos (2014), que observaram aumento de atratividade de iscas quando incrementadas com extrato de glândula de veneno.

Verificando a distribuição das iscas duas horas após sua oferta, sugere-se que o comportamento natural de distribuição seja concentrar o substrato nas câmaras iniciais e depois redistribuí-lo, como verificado com as iscas controle tanto para as subcolônias com rainha e sem rainha, que obedeceram a um mesmo padrão de distribuição independente do tipo de subcolônia.

Iscas impregnadas com extrato cuticular foram distribuídas na subcolônia com rainha, com maior concentração para a câmara inicial do lado direito (D1) e para a câmara com rainha do lado esquerdo (E2). Contudo, na subcolônia sem rainha, as mesmas câmaras apresentaram maior concentração de iscas (D1 e E2), o que impossibilita sugerir que iscas com extrato cuticular são direcionadas à câmara da rainha.

Iscas impregnadas com extrato de glândula de veneno foram distribuídas seguindo o mesmo padrão de distribuição de iscas controle (impregnadas com solvente) na subcolônia sem rainha. Porém, na subcolônia com rainha, há uma diferenciação de distribuição entre iscas controle e iscas impregnadas com extrato de glândula de veneno. As iscas controle são mais concentradas nas câmaras iniciais (D1 e E1), enquanto iscas impregnadas com extrato de glândula de veneno se concentram mais nas câmaras à esquerda (E2 e E3), onde se encontra a rainha (E2).

Entretanto, todas essas diferenças de distribuição observadas não foram estatisticamente comprovadas, necessitando de maior número de repetições e maior quantidade de ninhos.

Outro fator que pode ter contribuído para a não verificação de diferença de distribuição foi o tempo de avaliação desta distribuição. Bastos (2014) verificou que após 24 horas iscas impregnadas com feromônio de trilha foram estatisticamente mais concentradas na câmara com rainha. Contudo, a mesma autora utilizou iscas confeccionadas com canudos plásticos, o que possibilitava a observação visual de forma segura por mais tempo. No presente trabalho, as iscas utilizadas foram confeccionadas com farinha e polpa de laranja sendo rapidamente incorporadas ao

fungo pelas operárias, o que impossibilitou a observação por um tempo maior após serem transportadas pelas operárias.

Trabalhos de campo realizados para diferentes espécies de *Atta* (Mariconi et al., 1981; Forti e Silveira Neto, 1989; Moreira e Forti, 1999; Pretto e Forti, 2000; Moreira et al., 2003) demonstraram que iscas são distribuídas de forma homogênea nas câmaras de fungo. Loeck e Nakano (1982) verificaram que substratos são distribuídos na colônia de *A. sexdens* com abastecimento setorial (mais concentradas em algum setor colonial), enquanto Forti (1985) e Forti e Silveira Neto (1989) observaram que substratos são distribuídos uniformemente em diferentes setores de colônias de *A. capiguara*, justificando que a distribuição não setorial pode ocorrer em épocas em que o material vegetal se torna escasso. Já Moreira e Forti (1999) constataram concentração maior de substratos em setores com maior presença de câmaras de fungo, para ninhos de *A. laevigata*.

No presente trabalho, câmaras de fungo foram uniformizadas, logo, esperava-se que a distribuição fosse homogênea, devido à ausência de setores no ninho. No entanto, iscas impregnadas com extrato de glândula de veneno foram mais distribuídas do lado esquerdo das subcolônias, enquanto iscas controle e iscas impregnadas com extrato cuticular foram distribuídas de forma uniforme em ambos os lados (direita e esquerda). Logo, observa-se uma diferença na distribuição das iscas impregnadas com extrato de glândula de veneno, que deve ser investigada para compreender os mecanismos envolvidos na sua distribuição.

Nos teste para verificar a persistência do extrato de glândula de veneno em iscas, independente do intervalo de tempo utilizado da impregnação até a oferta das iscas (30 min, 24h, 48h ou 72h), iscas com extrato de glândula de veneno foram sempre mais transportadas que iscas controle. Assim, o extrato foi persistente nas iscas e permaneceu ativo por um tempo suficiente até as iscas serem localizadas e levadas ao interior do ninho.

Segundo Delabie et al. (2000), iscas podem ser rejeitadas (devolvidas) após algumas horas da oferta, e a verificação da rejeição deve ser feita após 24 horas da aplicação das iscas. Desta forma, iscas que permanecem atrativas por mais de 24 horas, apresentam tendência de menor rejeição, o que aumenta a probabilidade de contaminação colonial quando por iscas formicidas.

Observou-se também que iscas com feromônio aplicadas após 30 min e 24 horas, foram bem mais transportadas do que o controle, quando se compara com

iscas com feromônio aplicadas após 48 e 72 horas. Entretanto, a quantidade de iscas transportadas, seja do controle ou do tratamento, é maior para os tempos de 48 e 72 horas. Um dos fatores que podem atuar nessas diferenças de transporte pode ser a evaporação do solvente. O diclorometano demora mais a evaporar e, após sua evaporação, as iscas se tornariam mais atrativas às formigas. Nesse sentido, até 24 horas, o solvente ainda pode estar presente nas iscas, conferindo um menor transporte geral de iscas, mas com maior percepção do feromônio, representado pela maior diferença de transporte entre iscas controle e iscas com feromônio. Enquanto, de 48 a 72 horas, o solvente já evaporou, o que intensifica o transporte geral de iscas, mas reduz a diferença de transporte entre iscas controle e iscas com feromônio.

A persistência do feromônio nas iscas também pode ser afetada pela temperatura do ambiente de deposição, como verificado por Van Ondenrove et al. (2012), que submeteram substratos impregnados com extrato de glândula de veneno (feromônio de trilha) de *Tapinoma nigerium* e *Aphaenogaster senilis* a diferentes temperaturas e observaram que a maioria dos componentes do extrato evaporou a 25°C, para *T. nigerium*, e a 35°C, para *A. senilis*. No presente trabalho, as iscas impregnadas com feromônio foram armazenadas no mesmo local, à temperatura ambiente. Contudo, devido às iscas ficarem armazenadas por períodos diferentes (de 30 min até 72 horas), a ação da temperatura pode ter evaporado compostos feromonais e do solvente e, assim, reduzido a diferença de transporte entre iscas impregnadas com solvente (controle) e de iscas impregnadas com feromônio.

Outro fator que pode ter influenciado nessa diferença de transporte é a formulação das iscas. Todas as iscas utilizadas foram confeccionadas artesanalmente, sem adição de conservantes à formulação. Desse modo, a deterioração natural das iscas pode mascarar o odor do feromônio, reduzindo a diferença de transporte entre iscas controle e iscas com feromônio, no decorrer do tempo.

Na avaliação da formulação do extrato de glândula de veneno, sabe-se que as formigas concentram seu forrageamento em recursos predominantemente atrativos, buscam alimento e decidem sobre recrutar ou não companheiras até a fonte, a depender da qualidade e quantidade do alimento (Silva, 2011).

As formigas se orientam através de odores durante o forrageamento, desta forma, segundo Ribeiro e Marinho (2011), operárias forrageadoras decidem o que será coletado, pois utilizam suas antenas e captam voláteis das plantas, que geram uma informação que será comparada com memórias positiva e negativa e, a compatibilidade da informação atual com a armazenada indicará se aceita-se ou rejeita-se o vegetal como substrato. Essa capacidade de escolha individual é fortemente presente nas cortadeiras, sendo que as pioneiras nem sempre ditam o que as operárias recrutas devem coletar. De acordo com Lopes et al. (2004), para três espécies de *Acromyrmex* testadas, quando a operária pioneira decide por um material vegetal de qualidade inferior, as recrutas rejeitam a informação recebida e buscam coletar materiais melhores, com base em suas memórias próprias aprendidas.

A formulação em que a impregnação do extrato de glândula de veneno foi realizada diretamente nas iscas foi o primeiro a ser encontrado e transportado pelas operárias, seguido pela formulação de septos impregnados com extrato e colocados junto às iscas.

A intensidade de recrutamento a um recurso é estabelecida pela quantidade de feromônio de trilha depositado pelas operárias (Hölldobler, 1976) e a qualidade nutricional do material forrageado, quando elevada, influencia em maior recrutamento e transporte mais rápido de substrato (Roces & Nunes, 1993). Logo, o feromônio aplicado diretamente em iscas demonstra-se melhor, pois mesmo quando as iscas impregnadas são colocadas em MIPI, o encontro destas pelas formigas foi favorecido, ao passo que septos impregnados com o feromônio não foram encontrados quando colocados dentro de MIPI.

O mesmo ocorre ao oferecer somente duas opções de recursos (iscas com e sem extrato; e iscas com septo com extrato e sem extrato). Observa-se que quando o recurso alimentar e a distância até o recurso foram os mesmos, o recurso mais atrativo (com extrato) tem seu transporte favorecido, visto que a escolha individual das formigas pelo alimento é influenciada por substâncias atrativas às formigas (Leal et al. 2012).

Verificou-se que o extrato em iscas e o extrato em septo foram mais transportados que iscas controle, o que é uma característica desejável, pois reflete que iscas impregnadas com extrato de glândula de veneno (feromônio de trilha) podem representar menor perda no campo, com maior transporte. Além disso,

observou-se que o septo se tornou mais atrativo do que as iscas em si, o que pode conferir em risco real, pois já foi verificado em campo que septos impregnados com extrato de glândula de veneno podem ser transportados para dentro de ninhos (Tatagiba-Araujo et al., 2012). Nesse sentido, se o transporte do septo for realizado antes das iscas, as formigas podem decidir abandonar o recurso, que já não estará tão atrativo.

Outro fator a considerar quanto à utilização do feromônio em iscas ou em septos é a possibilidade real de aplicação destes em campo. A princípio, a aplicação de iscas com feromônio pode ser mais prática, pois poderia ser realizada a granel ou em MIPI, enquanto o septo, além de ter um custo maior, só seria viável com iscas a granel.

Para melhor esclarecer a eficiência da aplicação e utilização do extrato de glândula de veneno (feromônio de trilha) em iscas, estudar metodologias de impregnação em massa e verificar se iscas formicidas disponíveis no mercado terão a atratividade incrementada com o feromônio sintético, são trabalhos a se explorar.

## **RESUMO E CONCLUSÕES**

O feromônio de trilha demonstra-se um atrativo desejável à investigação, pois além de favorecer maior transporte de iscas, apresenta distribuição diferenciada do controle, o que deve ser mais explorado para verificar em que ponto essa distribuição pode ser benéfica ao controle de saueiros ou não.

Apesar de não poder afirmar que a rainha influenciou a distribuição das iscas no ninho, os resultados desse trabalho mostram que estudos envolvendo a relação da distribuição de iscas impregnadas com extratos de formigas devem ser incentivados.

O extrato de glândula de veneno de *A. sexdens* permaneceu ativo em iscas por até 72 horas, tempo suficiente para sugerir sua utilização em campo.

A formulação mais viável, verificada nas condições realizadas neste trabalho, para o extrato de glândula de veneno em iscas foi sua aplicação direta em

iscas, pois apresentou melhor resposta de escolha, favorecendo o encontro e transporte das iscas.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Araújo, M.S.; Della-Lucia, T.M.C.; Souza, D.J. (2003) Estratégias alternativas de controle de formigas-cortadeiras. *Bahia Agrícola*, 6(1): 71-74 pp.
- Bastos, L.F. (2014) Incremento da distribuição de iscas dentro de colônias da formiga-cortadeira *Atta sexdens* (HYMENOPTERA: FORMICIDAE) mediante impregnação de feromônios. Monografia (Licenciatura em Ciências Biológicas) – Campos dos Goytacazes – RJ, Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro – UENF. 35 p.
- Boaretto, M. A. C., Forti, L. C. (1997). Perspectivas no controle de formigas cortadeiras. Série Técnica IPEF 11: 31-46 pp.
- Carlos, A.A. (2008) Influência da polpa cítrica, do óleo e de fungosfilamentosos na atratividade de iscas tóxicas à *Atta sexdens* (Hymenoptera, Formicidae).
- Delabie, J.H.C., Della Lucia, T.M.C., Pastre, L. (2000) Protocolo de experimentação para avaliar a atratividade de novas formulações de iscas granuladas utilizadas no controle das formigas cortadeiras *Acromyrmex spp.* e *Atta spp.* (Hymenoptera: Formicidae: Myrmicinae: Attini) no campo. *Anais da Sociedade Entomológica do Brasil*, 29(4): 843-848 pp.
- Della Lucia, T.M.C., Vilela, E.F., Anjos, N., Moreira, D.D.O. (1993) Criação de formigas cortadeiras em laboratório. In: Della Lucia, T.M.C. (ed) *As Formigas Cortadeiras*. Viçosa, UFV, 151-162 pp.
- Endringer, F.B. (2015) Ecologia e forrageamento da formiga cortadeira *Atta robusta* Borgmeier 1939. Tese (Doutorado em Ecologia e Recursos Naturais) - Campos dos Goytacazes - RJ, Universidade Estadual Do Norte Fluminense Darcy Ribeiro, UENF. 102 p.
- Farji-Brener A.G. e Tadey M., (2012) Trash to treasure: leaf-cutting ants repair nest-mound damage by recycling refuse dump materials. *Behavioral Ecology*, 23: 1195-1202 pp.

- Forti, L.C. (2000) Se o produtor vacilar, o exercito das formigas invade a lavoura. A granja, Rio Grande do Sul, Jan.2000, 12-17pp.
- Forti, L.C. e Silveira Neto, S. (1989) Distribuição de substrato em colônia de *Atta capiguara* Gonçalves, 1944 (Hymenoptera, Formicidae). *Anais da Sociedade Entomológica do Brasil*, 18: 347-356pp.
- Forti, L.C. Ecologia da saúva *Atta capiguara* Gonçalves, 1944 (Hymenoptera, Formicidae) em pastagem. Piracicaba, 1985. Tese (Doutorado)- Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", Universidade de São Paulo.234p.
- Forti, L.C., Andrade, A.P.P., Ramos, V.M. (1999) Biologia e comportamento de *Atta sexdens* (Hymenoptera, Formicidae): implicações no seu controle. SIMPÓSIO DO CONE SUL SOBRE MANEJO DE PRAGAS E DOENÇAS EM *Pinus*. 1. Anais... 13(33): 103-114 pp (Série Técnica).
- Glancey, B.M., Stringer, C.E., Craig, C.H., Bishop, P.M., Martin, B.B. (1970) Pheromones may induce brood tending in the fire ant *Solenopsis saevissima* (Fr. Smith). *Nature*, 226: 863-864 pp.
- Hölldobler, B. (1976). Recruitment behaviorhome range orientation and territoriality in harvester ants, *Pogonomyrmex*. *Behavioural Ecology and Sociobiology*, 1: 3-44pp.
- Jaffé, K. (1980) Theoretical analysis of the communication system for chemical mass recruitment in ants. *Journal Theoretical Biology*, 84: 589-609 pp.
- Leal, I. R., Wirth, R., Tabarelli, M. (2012) Formigas-cortadeiras e a ambiguidade de suas relações com plantas. *In: Del-Claro, K. e Torezan-Silingardi, H. M. (Eds.) Ecologia das interações plantas-animais: Uma abordagem ecológico-evolutiva. Editora Technical Books, 217-239 pp.*
- Loeck, A.E. (2011) Bioecologia, Sistemática e Controle de formigas-cortadeiras. Universidade Federal de Pelotas – UFPEL (material didático). 37 p.
- Loeck, A.E.; Nakano, O. (1982) Distribuição de substratos no interior de um sauveiro de *Atta sexdens* Forel, 1908 (Hymenoptera, Formicidae). *O Solo*, 74: 43-47pp.
- Lopes J.F.S., Forti L.C., Camargo R.S. (2004) The influence of the scout upon the decision-making process of recruited workers in three *Acromyrmex* species. *Behavioural Processes*, 67: 471-476 pp.
- Mariconi, F.A.M.; Wiendl.F.M.; Walder, J.M.M. (1981) Iscas granuladas marcadas com iodo e fósforo radioativos no estudo de saúvas (*Atta* spp.). *In: CONGRESSO BRASILEIRO DE ENTOMOLOGIA, 7, Fortaleza, Anais. 258-259pp.*

- Moreira, A.A., Forti, L.C. (1999) Distribuição de substratos nas colônias de *Atta laevigata* (F. Smith, 1858) (HYMENOPTERA: FORMICIDAE). *Scientia Agrícola*, 56: 465-469pp.
- Moreira, A.A., Forti, L.C., Boaretto, M.A.C., Andrade, A.P.P., Rossi, M.N. (2003) Substrate distribution in fungus chambers in nests of *Atta bisphaerica* Forel, 1908 (Hym., Formicidae). *Journal of Applied Entomology*, v.127: 96-8pp.
- Moreira, D.D.O., Erthal Jr., M., Samuels, R.I. (2011) Alimentação e digestão em formigas-cortadeiras. *In: Della Lucia, T.M.C. (Ed.). Formigas-cortadeiras: da biologia ao manejo*. Viçosa: UFV, 204-225pp.
- Morini, M.S.C., Bueno, O.C., Bueno, F.C., Leite, A.C., Hebling, M.J.A., Pagnocca, F.C., Fernandes, J.B., Vieira, P.C., Silva, M.F.G.F. (2005) Toxicity of sesame seed to leaf-cutting ant *Atta sexdens* (Hymenoptera: Formicidae). *Sociobiology*, 45: 195-204pp.
- Mueller, U.G., Schultz, T.R., Currie, C.R., Adams, R.M.M., Malloch, D. (2001) The origin of the Attini ant-fungus mutualism. *Quarterly Review of Biology*, 76: 169-197pp.
- Oliveira, M.A; Araújo, M.S.; Marinho, C.G.S.; Ribeiro, M.M.R.; Della Lucia, T.M.C. (2011) Manejo de formigas-cortadeiras. *In: Della Lucia, T.M.C. (Ed.). Formigas-cortadeiras: da biologia ao manejo*. Viçosa: UFV, 400-419 pp.
- Pretto, D.R. e Forti, L.C.(2000) Dyed baits distribution in nests of *Atta sexdens* L. (Hym., Formicidae). *Journal of Applied Entomology*, 124: 37-39pp.
- Ramos, V.M. e Forti, L.C. (2007) Soluções para o controle de *Atta capiguara* Gonçalves, 1954 (Hym., Formicidae) com iscas tóxicas. *Biológico*, São Paulo, v.69, suplemento 2 (Mesa Redonda), 77-80pp.
- Ribeiro M.R.R., Marinho C.G.S. (2011) Seleção e forrageamento em formigas cortadeiras. *In: Della Lucia T.M.C. (ed.) Formigas-cortadeiras: da biologia ao manejo*. UFV, Viçosa, MG, 421 p.
- Roces, F. Núñez, J. A. (1993) Information about food quality influences load size selection in recruited leaf-cutting ants. *Animal behavior*, 45: 135-143pp.
- Schneider, M. O. (2003) Comportamento de cuidado da prole da saúva-limão *Atta sexdens* Forel, 1908 (Hymenoptera, formicidae). Dissertação (Mestrado em Ciências Biológicas) - Universidade Estadual Paulista, Instituto de Biociências de Rio Claro, 80 p.

- Silva, M. B. 2011. Caracterização das trilhas de forrageamento em formigas cortadeiras de gramíneas (Formicidae, Attini): transferência de informações durante o recrutamento em *Atta bisphaerica*. Dissertação (Mestrado em Ciências Biológicas/Zoologia) – Instituto de Biociências de Botucatu – Universidade Estadual Paulista. 72p.
- Tatagiba-Araujo, G. Viana-Bailez, A. M. e Bailez, O. (2012) Increasing Attractiveness of Baits with Venom Gland Extract for *Atta sexdens* (Forel) (Hymenoptera: Formicidae). *Neotropical Entomology*, 41: 232-236 pp.
- Tatagiba-Araujo, G.D.F. (2011) Incremento da eficiência de iscas destinadas ao controle da formiga cortadeira *Atta sexdens* (Hymenoptera: Formicidae) mediante o uso de extrato de glândula de veneno e farinha foliar de gergelim. Dissertação (Mestrado em Produção Vegetal) – Campos dos Goytacazes – RJ, Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro – UENF. 56 p.
- Tofolo, V.C. e Bueno, O.C.. (2012) Variação intra e interespecífica da composição de hidrocarbonetos cuticulares em Formicidae. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE ENTOMOLOGIA, 24, Curitiba/PR. Anais.n.483.
- van Oudenhove, L., Boulay, R., Lenoir, A., Bernstein, C., Cerda, X. (2012) Substrate Temperature Constrains Recruitment and Trail Following Behavior in Ants. *Journal of Chemical Ecology*, 38: 802-809 pp.
- Viana. A.M.M. (1996) La reconnaissance coloniale du couvain et du champignon chez la fourmi champignonniste *Acromyrmex subterraneus subterraneus*. Tese (Doutorado em Biologia do Comportamento) Curso de Pós-graduação em Biologia dos Organismos, Université Paris XIII, 136 p.
- Viana-Bailez, A.M., Bailez, O., Malaquias, K.S. (2011) Comunicação química em formigas-cortadeiras. In: Della Lucia, T.M.C. (Ed.). *Formigas-cortadeiras: da biologia ao manejo*. Viçosa: UFV, 141-164pp.
- Vilela, E.F. (1994) Feromônios no controle de formigas-cortadeiras. Anais do III Curso de Atualização no Controle de Formigas Cortadeiras, PCMIP/ IPEF, 11-13pp.
- Zanetti, R. (2010) Métodos de Controle usados no MIP. Notas de aula: Manejo Integrado de pragas florestais. UFLA, 12 p.

**INIBIÇÃO DE CRESCIMENTO DO FUNGO SIMBIONTE DE *ATTA LAEVIGATA*  
(SMITH, 1958) (HYMENOPTERA: FORMICIDAE) POR ISCAS FORMULADAS  
COM *SESAMUM INDICUM* L. (PEDALIACEAE)**

**RESUMO**

A simbiose obrigatória entre formigas-cortadeiras e fungo mutualístico constitui um dos fatores que dificultam o controle dessas formigas. O método mais eficiente utiliza produtos químicos, mas estes podem provocar contaminação ambiental e riscos à saúde humana. Desta forma, a utilização de princípios ativos naturais provenientes de plantas tóxicas às formigas-cortadeiras torna-se uma alternativa de controle a ser explorada. Neste trabalho, buscou-se verificar se o crescimento do fungo simbionte de *A. laevigata* é inibido por iscas formuladas com farinha de sementes e de folhas de gergelim. Para isso, iscas preparadas com 50 ou 75% de farinha de gergelim (semente ou folha) e iscas controle (sem gergelim) foram oferecidas em dose única de 3g a quinze miniformigueiros. Quatro tratamentos estiveram representados por diferentes formulações: (1) F50: iscas formuladas com 50% de farinha de folhas de gergelim; (2) F75: iscas formuladas com 75% de farinha de folhas de gergelim; (3) S50: iscas formuladas com 50% de farinha de sementes de gergelim; (4) S75: iscas formuladas com 75% de farinha de sementes de gergelim. O controle esteve representado por iscas com base de polpa cítrica. Avaliaram-se os parâmetros: incorporação de iscas, mortalidade de operárias e crescimento do jardim de fungo. A incorporação das iscas foi analisada utilizando testes de ANOVA e Tukey. A sobrevivência das operárias foi verificada por ANOVA e uma análise descritiva de sobrevivência foi comparada por curvas pelo Teste Log-Rank e Teste-t de Bonferroni. O crescimento do jardim de fungo foi comparado por ANOVA, com comparações múltiplas pelo Teste-t de Bonferroni e análise descritiva dos dados. Iscas a base de gergelim tiveram aceitação similar ao controle (ANOVA.  $p= 0,014$ ), mas iscas a base de folhas de gergelim foram mais aceitas para incorporação (Tukey.  $p < 0,02$ ). A sobrevivência das operárias foi afetada pelo tempo

de avaliação dos bioensaios (ANOVA.  $p < 0,001$ ) e pelos tratamentos (ANOVA.  $p = 0,002$ ), que apresentaram diferença entre curvas de sobrevivência (Log-Rank.  $p < 0,001$ ), com iscas a base de 75% de farinha de folhas com menor probabilidade de sobrevivência de operárias (Bonferroni.  $p < 0,001$ ). O crescimento do jardim de fungo foi influenciado pelos tratamentos (ANOVA.  $p < 0,001$ ). Houve inibição de crescimento até 35 dias depois do início do teste para todas as iscas de gergelim oferecidas (Bonferroni,  $p > 0,05$ ). A formulação de folhas de gergelim em 75% apresentou inibição ininterrupta e perda constante de massa de fungo, o que demonstrou que iscas de gergelim apresentam potencial de utilização no controle alternativo de *A. laevigata*, com resposta de inibição mais rápida quando formuladas com 75% de farinha de folhas.

## ABSTRACT

The obligatory symbiosis between leaf cutter ants and mutualistic fungus is one of the factors that make it difficult to control of these ants, which is still efficient only with the use of chemicals, which can cause environmental contamination and risks to human health. Thus, the use of natural active principles with the use of toxic plants to leaf-cutting ants becomes an alternative control to be explored. In this sense, we tried to verify if the growth of the symbiotic fungus of *A. laevigata* is inhibited by baits formulated with sesame seed flour and by baits formulated with sesame leaf flour in high concentrations, as well as to verify if the best formulation tested may have its attractiveness increased by the addition of trail pheromone. For this, baits were pelleted with 50 or 75% sesame flour (seed or leaf) and baits were formulated with citrus pulp (control). The baits were offered in a single dose of 3g to 15 mini nests. Five treatments were performed, with three replicates each: (1) Control: baits based on citrus pulp; (2) F50: baits formulated with 50% sesame leaf flour; (3) F75: baits formulated with 75% sesame leaf flour; (4) S50: baits formulated with 50% sesame seed flour; (5) S75: baits formulated with 75% sesame seed flour. The parameters were evaluated: bait incorporation, worker mortality and fungus garden growth. The incorporation of baits was analyzed using ANOVA and Tukey tests. The survival of

the workers was verified by ANOVA and compared by the Dunnett Method, with descriptive analysis of survival by comparing curves by the Log-Rank Test and Bonferroni Test-t. The fungus garden growth was verified by ANOVA, with multiple comparisons by the Bonferroni Test-t and descriptive analysis of the data. All tests performed considered  $\alpha=0.05$ . Sesame baits had similar acceptance to control (ANOVA,  $p = 0.014$ ), but sesame leaves baits were more accepted for incorporation (Tukey,  $p < 0.02$ ). The survival of the workers was affected by the time of evaluation of the bioassays (ANOVA,  $p < 0.001$ ) and treatments (ANOVA,  $p = 0.002$ ), with difference between survival curves (Log-Rank,  $p < 0.001$ ) baits F75 was that higher worker mortality occurred (Bonferroni,  $p < 0.001$ ). The growth of the fungus garden was influenced by treatments (ANOVA,  $p < 0.001$ ), with inhibition of growth up to 35 days of evaluation, for all the sesame lures offered (Bonferroni,  $p > 0.05$ ). The F75 baits presented uninterrupted inhibition and constant loss of fungus mass. Sesame baits had potential of use in the alternative control of *A. laevigata*, with a faster inhibition response when formulated with 75% of leaf meal.

## INTRODUÇÃO

As formigas-cortadeiras são pragas severas, principalmente de cultivos florestais, pois o ponto de equilíbrio de sua densidade populacional se mantém constantemente acima do nível de dano econômico ou do nível de controle. Isto porque estas formigas cortam grande quantidade de material vegetal fresco para servir de substrato para o crescimento de um fungo basidiomiceto que vive em simbiose com a colônia (Silva-Pinhati et al., 2004).

A relação de simbiose formiga-fungo é tão singular que ambos os gêneros, *Atta* e *Acromyrmex*, cultivam a mesma espécie de fungo simbiote (Mueller, 2002, Silva-Pinhati et al., 2004), *Leucoagaricus gongylophorus* (Singer, 1986), que é responsável por disponibilizar nutrientes de fácil assimilação do material vegetal para as formigas, além de auxiliar a manter a estrutura dos ninhos subterrâneos (Camargo et al., 2013). Esta simbiose obrigatória constitui um dos fatores que

dificultam o controle das formigas-cortadeiras, que ainda só é eficiente com a utilização de produtos químicos (Marinho et al., 2006).

Recentemente compostos sintéticos precursores dos principais ingredientes ativos utilizados para o controle de formigas-cortadeiras tiveram seu uso restrito por estarem classificados como Poluentes Orgânicos Persistentes (POPs), como, por exemplo, os precursores da sulfluramida (Della Lucia et al., 2014).

A utilização de princípios ativos naturais de plantas tóxicas às formigas-cortadeiras torna-se uma alternativa de controle que merece atenção. Plantas de gergelim (*Sesamum indicum* L.) são empiricamente utilizadas para combater formigas-cortadeiras desde o século passado (Bueno e Bueno, 2011), o que motivou estudos científicos sobre os efeitos tóxicos desta planta.

Silva et al. (1987) ofereceram folhas de *Eucalyptus alba*, *Hibiscus rosa-sinensis* e *S. indicum* a colônias jovens de *A. sexdens* e verificaram que folhas de gergelim foram atrativas para as formigas, mas ocasionaram redução da massa do jardim de fungo simbiote e do número de operárias. O que provocou a morte das colônias. Os mesmos autores identificaram que operárias apresentavam taxa respiratória elevada devido à dieta com folhas de gergelim, o que foi confirmado por Hebling-Beraldo et al. (1991), o que indica efeito nocivo das folhas às operárias.

Pagnocca et al. (1990), comprovaram que tanto extratos de folha como de semente de gergelim inibiram o crescimento do fungo de *A. sexdens* “*in vitro*”. Os extratos de semente causaram resposta de inibição com concentrações menores. Para Ribeiro et al. (1998), ácidos graxos (fração hexano) presentes nas folhas de gergelim seriam responsáveis pela inibição do crescimento do fungo simbiote de *A. sexdens*.

Bueno et al. (2004a, 2004b) investigaram sobre a toxidez do gergelim às operárias de *A. sexdens* com bioensaios “*in vivo*” e verificaram que açúcares presentes em extratos de folhas de gergelim (fração metanol) (Bueno et al., 2004a) e extratos de semente (fração diclorometano) (Bueno et al., 2004b) são tóxicos às operárias por contato ou ingestão. A toxidez das sementes às operárias verificada por Morini et al. (2005) seria provocada pela ação de triglicerídeos, como a sesamolina ou a combinação de sesamolina com sesamina.

Peres-Filho e Dorval (2003) compararam iscas a base de folhas e a base de sementes de gergelim com iscas a base de sulfluramida, fipronil ou clorpirifós, sobre colônias de *A. sexdens* a campo. As iscas a base de folhas (15%) apresentaram

controle mais eficiente após 90 dias da aplicação de iscas que iscas a base de clorpirifós. Giesel et al. (2011) utilizaram iscas a base de sementes de gergelim contra ninhos de *Acromyrmex spp.* e observaram redução do número de formigas nas trilhas após quatro dias de aplicação consecutiva de iscas, mas não escavaram os ninhos para avaliar outros danos às colônias.

Desta forma, o presente trabalho buscou verificar, em laboratório, se o crescimento do fungo simbiote de *A. laevigata* é inibido por iscas formuladas com farinha de sementes de gergelim e por iscas formuladas com farinha de folhas de gergelim, em altas concentrações.

## MATERIAL E MÉTODOS

### ***Iscas***

Iscas de gergelim foram preparadas em forma de peletes (5 mm de comprimento x 1 mm de diâmetro) com 50% e 75% de farinha de gergelim (semente ou folha) na composição. A proporção utilizada nas iscas em 50% foi de 3 partes de farinha de trigo, 3 partes de farinha de gergelim (semente ou folha), 2,5 partes de suco de laranja e 1,5 parte de óleo de soja, enquanto iscas em 75% tiveram a proporção de 1,5 parte de farinha de trigo, 4,5 partes de farinha de gergelim (semente ou folha), 2,5 partes de suco de laranja e 1,5 parte de óleo de soja. Como controle, iscas foram confeccionadas com a mesma composição, porém a farinha de gergelim foi substituída por farinha de laranja: 4 partes de farinha de trigo, 2 partes de farinha de laranja, 2,5 partes de suco de laranja e 1,5 parte de óleo de soja (4: 2: 2,5: 1,5) (Fig.1).



Figura 1: Iscas confeccionadas com: 75% de farinha de folha de gergelim (F75); 75% de farinha de semente de gergelim (S75); 50% de farinha de laranja (controle – C); 50% farinha de folha de gergelim (F50); 50% de farinha de semente de gergelim (S50).

As folhas de gergelim foram cedidas pela Embrapa Algodão e as sementes de gergelim foram adquiridas comercialmente (Mendes e Amaral Indústria e Comércio de Alimentos Ltda., lote 060, validade 12.2015).

### **Miniformigieiros**

Miniformigieiros (Fig.2) são um método de criação de formigas-cortadeiras na ausência de rainha (Loeck et al., 1994) utilizado em testes com princípios ativos, quando se deseja preservar a colônia.

Para o primeiro bioensaio foram retirados quinze miniformigieiros de 300 mL de fungo cada, contendo indivíduos adultos e imaturos de formigas, a partir de uma colônia adulta de *A. laevigata*. Estes foram individualizados em bandejas plásticas de 3L (6,5 x 19,5 x 31,0 cm). Da mesma forma, para o segundo bioensaio, foram retirados quinze miniformigieiros de uma colônia de *A. laevigata* e dezesseis miniformigieiros de quatro colônias de *A. sexdens* (quatro miniformigieiros por ninho).



Figura 2: Miniformigieiro de *Atta laevigata*.

### **Bioensaio**

A quinze miniformigieiros se aplicaram iscas com base de polpa cítrica (controle) e quatro tratamentos, com três repetições cada:

- (1) F50: iscas formuladas com 50% de farinha de folhas de gergelim;
- (2) F75: iscas formuladas com 75% de farinha de folhas de gergelim;
- (3) S50: iscas formuladas com 50% de farinha de sementes de gergelim;
- (4) S75: iscas formuladas com 75% de farinha de sementes de gergelim.

A massa inicial de cada miniformigieiro foi inferida mediante pesagem. A alimentação dos miniformigieiros foi suspensa 24 horas antes da aplicação das iscas.

Após 24 horas, 3 g de isca/ miniformigieiro foram oferecidas. Iscas não transportadas e/ou rejeitadas foram pesadas e, por diferença, obteve-se a quantidade de iscas incorporadas ao jardim de fungo, parâmetro utilizado para verificar a aceitação das iscas. Em seguida, o alimento (*Acalipha sp.*) foi restituído a todos os miniformigieiros.

O desenvolvimento do jardim de fungo simbiote foi monitorado mediante pesagem dos miniformigieiros, com início 7 dias após a aplicação das iscas e totalizando 9 medições em 68 dias.

A massa inicial do jardim de fungo foi fixada como zero, e as massas obtidas após a oferta das iscas foram transformadas para porcentagem a partir da seguinte fórmula:

$$\left(\frac{M_n - M_i}{M_i}\right) * 100 = M_n(\%) \begin{cases} M_i = \text{massa inicial aferida antes da oferta das iscas} \\ M_n = \text{massa aferida no dia } n \text{ após oferta das iscas} \end{cases}$$

Além do efeito das iscas sobre o fungo, a sobrevivência de operárias também foi observada. Para isso, indivíduos mortos foram retirados e contabilizados semanalmente, até a finalização dos testes, quando a população sobrevivente de cada miniformigueiro foi contabilizada. A partir do somatório desses dados, mortalidade semanal e sobrevivência final e população inicial foi determinada para cada miniformigueiro. Os dados de mortalidade semanal foram cumulativamente descontados da população inicial, que representou 100% dos indivíduos da colônia.

### **Análise dos Dados**

A massa de iscas incorporadas ao jardim de fungo simbiote e a sobrevivência das operárias foram comparadas entre tratamentos mediante ANOVA.

A verificação do tempo de sobrevida foi realizada por análise descritiva de sobrevivência (Kaplan-Meier), através da comparação de curvas utilizando o Teste Log-Rank e Teste-t de Bonferroni para identificar curvas diferentes (eventos foram categorizados como “1” para ocorrência de morte).

O efeito das iscas sobre o desenvolvimento do jardim de fungo foi verificado por ANOVA, com comparações entre médias realizadas pelo Teste-t de Bonferroni. A análise descritiva dos dados também foi utilizada.

## RESULTADOS

### ***Aceitação de Iscas***

Iscas a base de gergelim tiveram aceitação similar ao controle ( $F_{(0,05; 4)}=5,408$ ;  $p= 0,014$ ). Entretanto, a formulação a base de 50% de folhas de gergelim foi mais incorporada no jardim de fungo simbiote que formulações a base de farinha de sementes (Tukey.  $p< 0,02$ ) (Fig.3).

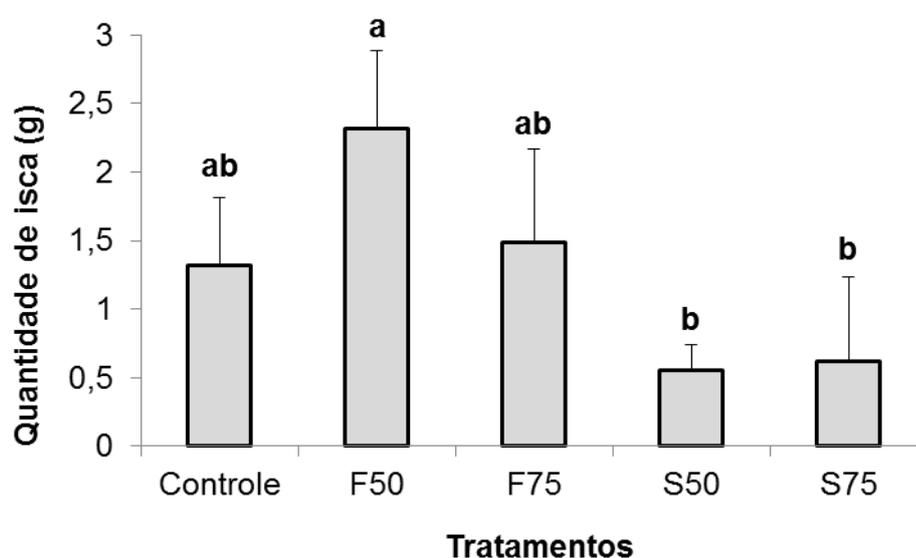


Figura 3: Quantidade de iscas (g) incorporadas no jardim de fungo simbiote de *Atta laevigata*. Controle: iscas formuladas com polpa cítrica. F50 e F75: iscas formuladas com 50% ou 75% de farinha de folhas de gergelim. S50 e S75: iscas formuladas com 50% ou 75% de farinha de sementes de gergelim (Tukey.  $p< 0,02$ ).

### ***Mortalidade de operárias***

A sobrevivência das operárias foi afetada tanto pelo tempo de avaliação dos bioensaios (ANOVA.  $F= 21,594$ ;  $GL= 9$ ;  $p<0,001$ ), como pelos tratamentos realizados (ANOVA.  $F= 4,531$ ;  $GL= 4$ ;  $p= 0,002$ ).

Ao Comparar a sobrevivência inicial com a semanal, a formulação a base de 75% de farinha foliar de gergelim apresentou sobrevivência significativamente inferior à inicial a partir de 42 dias de avaliação, provocando mortalidade mais rápida

do que as outras formulações testadas, que causaram mortalidade significativa a partir dos 49 dias (Dunnett.  $p < 0,043$ ). Através da análise de sobrevivência descritiva foi possível confirmar que iscas com 75% de farinha de folhas de gergelim foi o tratamento que teve maior mortalidade em menor tempo.

As curvas de sobrevivência apresentaram diferença (Log-Rank= 166,244. GL= 4.  $p < 0,001$ ) identificada na curva representativa de miniformigueiros que receberam iscas a base de 75% de farinha de folhas, que apresentou menor probabilidade de sobrevivência de operárias (Bonferroni.  $p < 0,001$ ), com mediana do tempo de sobrevida atingida entre 56 e 63 dias (Fig.4).

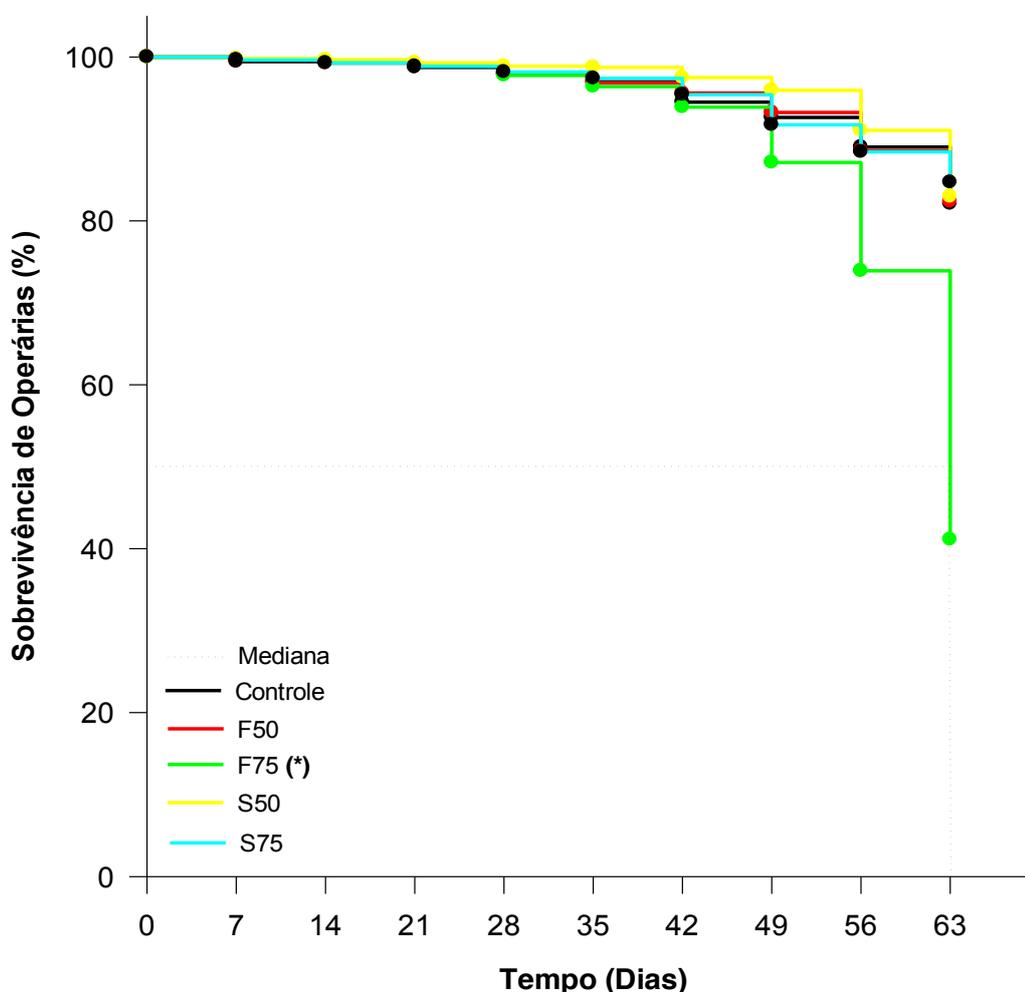


Figura 4: Análise de sobrevivência de operárias de *Atta laevigata* após a aplicação de iscas com diferentes formulações: a base de polpa cítrica (controle), farinha de folhas de gergelim a 50 ou 75% (F50, F75) e farinha de sementes de gergelim a 50 ou 75% (S50, S75). \*Indica a curva com diferença significativa (Log-Rank,  $p < 0,001$ . Bonferroni,  $p < 0,001$ ).

O tempo da mediana, na qual 50% da população avaliada se encontra com vida, só foi atingida para miniformigueiros que receberam iscas F75, o que ratifica que esta população amostral sobreviveu por menos tempo, visto que os miniformigueiros que receberam as outras formulações de isca aplicadas permaneceram com sobrevivência superior a 50% durante todo o período de avaliação.

### ***Inibição de Crescimento do Fungo Simbionte***

O desenvolvimento do jardim de fungo dos miniformigueiros foi influenciado pelos tratamentos (GL=4; F=130,052;  $p < 0,001$ ) e pelo tempo decorrido da aplicação (GL=9; F=2,707;  $p = 0,007$ ).

Miniformigueiros que receberam iscas controle apresentaram ganho elevado e constante de massa de jardim de fungo simbionte durante todo o período de avaliação experimental (Bonferroni.  $p < 0,001$ ). As formulações a base de farinha de gergelim, com exceção da formulação com farinha de folhas a 50%, inibiram o crescimento do jardim de fungo simbionte até 68 dias após a aplicação das iscas (Bonferroni.  $p > 0,164$ ). A formulação com farinha de folhas a 50% provocou crescimento do fungo similar ao controle (Bonferroni.  $p > 0,403$ ) a partir dos 35 dias (Tab.1).

Até 21 dias após aplicação, iscas formuladas com farinha de folhas de gergelim a 50% tiveram efeito de inibição do crescimento do fungo simbionte, apresentando início de recuperação do jardim de fungo a partir deste período; enquanto iscas formuladas com farinha de semente a 50 ou 75% apresentaram resposta lenta de inibição e iscas formuladas com farinha de folhas de gergelim a 75% provocaram inibição ininterrupta e perda constante de massa de fungo nesse período. Visto que a formulação com folhas de gergelim a 50% apresentou perda significativa do efeito de inibição do crescimento do jardim de fungo (Bonferroni.  $p < 0,05$ ), considerou-se os dados de massa de fungo registrados até 35 dias (Fig.5).

Tabela 1: Crescimento médio (%) do jardim de fungo simbiote de miniformigueiros de *Atta laevigata* alcançado 63 dias após o fornecimento de iscas formuladas com polpa cítrica ou farinha de folhas de gergelim em 50 ou 75% (F50, F75) ou farinha de sementes de gergelim em 50 ou 75% (S50, S75) (n=3).

TEMPO (dias)	MASSA MÉDIA DO JARDIM DE FUNGO (%)				
	Controle	F50	F75	S50	S75
00	0,00 <b>bA</b>	0,00 <b>bA</b>	0,00 <b>aA</b>	0,00 <b>aA</b>	0,00 <b>aA</b>
07	451,87 <b>aA</b>	-8,54 <b>bB</b>	-56,25 <b>aB</b>	24,99 <b>aB</b>	0,86 <b>aB</b>
14	453,46 <b>aA</b>	-7,86 <b>bB</b>	-57,90 <b>aB</b>	24,12 <b>aB</b>	5,05 <b>aB</b>
21	416,85 <b>aA</b>	149,99 <b>abAB</b>	-58,28 <b>aC</b>	-3,75 <b>aBC</b>	-16,24 <b>aBC</b>
28	401,68 <b>aA</b>	111,65 <b>abAB</b>	-31,82 <b>aB</b>	-1,91 <b>aB</b>	-14,72 <b>aB</b>
35	400,55 <b>aA</b>	263,36 <b>aA</b>	-50,59 <b>aB</b>	-2,37 <b>aB</b>	-16,14 <b>aB</b>
42	412,01 <b>aA</b>	270,45 <b>aA</b>	-53,62 <b>aB</b>	-4,98 <b>aB</b>	-20,31 <b>aB</b>
49	384,85 <b>aA</b>	264,47 <b>aA</b>	-53,04 <b>aB</b>	-10,73 <b>aB</b>	-34,24 <b>aB</b>
56	402,79 <b>aA</b>	269,68 <b>aA</b>	-56,30 <b>aB</b>	-11,78 <b>aB</b>	-33,50 <b>aB</b>
63	377,61 <b>aA</b>	252,43 <b>aA</b>	-41,17 <b>aB</b>	-8,95 <b>aB</b>	-36,46 <b>aB</b>

Letras minúsculas diferentes indicam diferença entre médias por coluna.

Letras maiúsculas diferentes indicam diferença entre médias por linha.

Teste t de Bonferroni para comparações múltiplas pareadas ( $p < 0,05$ ).

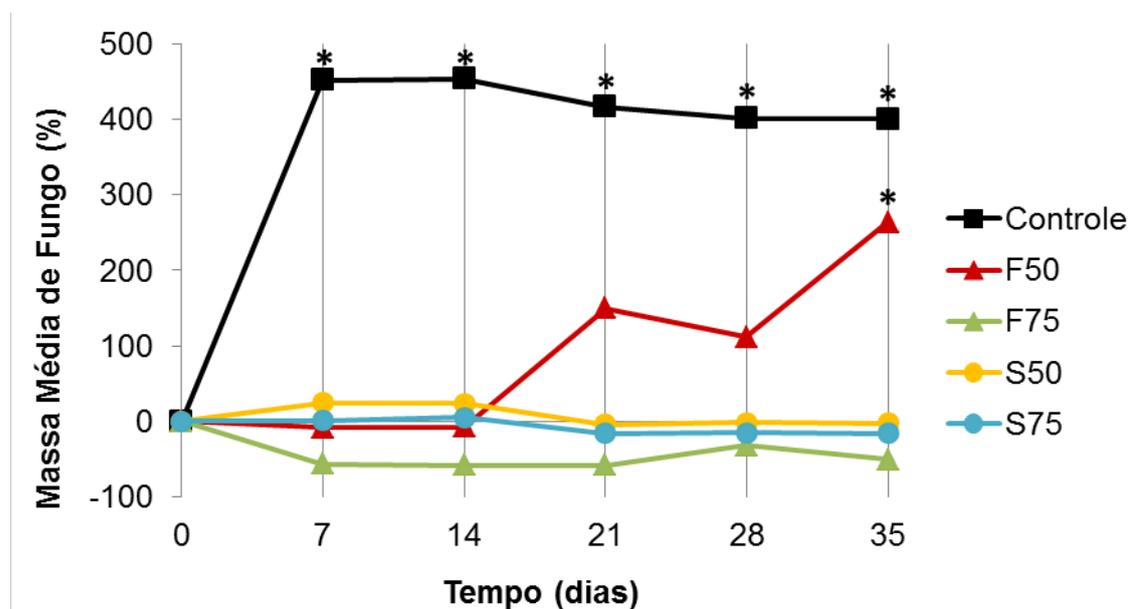


Figura 5: Desenvolvimento do jardim de fungo simbiote de miniformigueiros de *Atta laevigata* após receberem dose única de iscas de polpa cítrica (controle), ou iscas a base de folhas de gergelim a 50 ou 75% (F50 e F75), ou a base de sementes de gergelim a 50 ou 75% (S50 e S75). \*Indica diferença significativa da massa inicial (Bonferroni.  $p < 0,05$ ).

## DISCUSSÃO

A similaridade de aceitação de iscas de gergelim com iscas a base de polpa cítrica, demonstra viabilidade de utilização do gergelim em formulações de iscas. Principalmente, a formulação a base de folhas de gergelim, que foi mais transportada pelas formigas do que iscas a base de sementes. A maior incorporação de iscas a base de folhas pode ser explicada pelo fato de as folhas de gergelim serem atrativas às formigas (Silva et al., 1987, Bueno et al., 1995), enquanto que iscas a base de sementes podem conter substâncias diretamente tóxicas a elas, como triglicerídeos, sesamolina e sesamina (Morini et al., 2005), isto possivelmente, causou efeito repelente/deterrente, provocando a menor aceitação destas iscas.

As iscas a base de 75% de folhas de gergelim apresentaram aceitação similar às iscas formuladas com sementes de gergelim. Possivelmente, a maior concentração da farinha de folhas na isca tenha aumentado a toxicidade da isca para as operárias, o que levou a sua menor aceitação comparado com as iscas a base de 50% de folhas. Silva et al. (1987) e Hebling-Beraldo et al. (1991) verificaram que colônias que receberam folhas de gergelim "*in natura*" como substrato apresentaram operárias com taxas respiratórias elevadas, este efeito de toxidez também foi observado por Bueno et al. (2004a), após oferecer extrato aquoso de folhas de gergelim aplicado na dieta ou via contato direto nas formigas.

Para que uma isca seja eficiente no controle de formigas-cortadeiras, além de ser atrativa, é fundamental que seu ingrediente ativo apresente ação tóxica retardada (Boaretto e Forti, 1997), o que possibilita que as operárias a distribuam por toda colônia. A isca com 75% de farinha de folhas de gergelim resultou na menor sobrevivência das operárias após 42 dias de avaliação, apresentando ação retardada. Porém, este período foi demasiado longo para sugerir efeito de toxicidade às formigas, pois uma isca ideal deveria causar mortalidade menor ou igual a 15% após 24h da oferta das iscas (Boaretto e Forti, 1997; Nagamoto, 2003) e maior que 85% após 14 dias (Boaretto e Forti, 1997) ou maior ou igual a 90% após 21 dias da oferta das iscas (Nagamoto, 2003). Sugere-se que a mortalidade deve estar relacionada com a menor disponibilidade de alimento para a colônia, a farinha de gergelim afetou o desenvolvimento do jardim de fungo.

Efeitos de inibição do crescimento do jardim de fungo foram verificados desde a primeira avaliação, aos sete dias após a aplicação, sendo observado o crescimento elevado do jardim de fungo dos miniformigueiros que receberam iscas controle, em contraste aos miniformigueiros que receberam iscas contendo gergelim. Iscas a base de 50% de folhas apresentaram período curto de inibição, que possibilitou a recuperação do jardim de fungo aos 35 dias. A recuperação do crescimento do fungo simbiote representa um aspecto comum aos defensivos botânicos, que apresentam a vantagem de possuir princípios ativos que se degradam mais rápido no ambiente (Aguar-Menezes, 2005). Desta forma, considerando que ambas as iscas a base de folhas (50% e 75%) contêm os mesmos compostos inibitórios de crescimento, sugere-se que a formulação de maior concentração (75%) seja mais eficiente em inibir o desenvolvimento do fungo, visto que mesmo quando o fungo retoma seu crescimento, após 21 dias, não consegue recuperar nem superar sua massa inicial.

Além disso, a formulação a base de 75% de farinha de folhas de gergelim apresentou redução na massa do jardim de fungo simbiote superior a 50%, aos sete dias de avaliação, que representa um resultado bastante promissor quando se compara com pesquisas envolvendo extratos botânicos. Leite (2015), verificou para o mesmo período de avaliação (sete dias), redução de 43% do jardim de fungo de *A. sexdens rubropilosa* para iscas a base de extrato etanólico de alecrim (4%) e Souza et al. (2011) verificaram mais de 50% na redução do jardim de fungo de colônias de *A. sexdens rubropilosa*, aos cinco dias após aplicação de diferentes extratos botânicos (Nim, timbó, cerejeira e ipê-amarelo-liso) diretamente sob o fungo.

Isclas a base de sementes também foram eficientes em inibir o jardim de fungo, pois os miniformigueiros que receberam estas isclas não conseguiram recuperar significativamente seu crescimento, mas, assim como para isclas a base de folhas, a formulação com 75% de sementes demonstrou melhor efeito de inibição expressa em maior perda de massa do que formulações de sementes a 50%.

O efeito tóxico demonstrado pelas isclas, principalmente pela formulação com 75% de farinha de folhas de gergelim demonstrou ser a mais promissora, por conferir aceitação de isca similar ao controle; manter o jardim de fungo com massa abaixo da inicial; provocar efeito de inibição mais rápido; e causar mortalidade mais rápida de operárias. Fatos que proporcionaram a escolha desta isca para sua impregnação com feromônio de trilha.

A impregnação do feromônio de trilha em iscas a base de gergelim não incrementou a atratividade das iscas, somente aumentou a investigação das iscas pelas formigas. Porém, sugerimos que mais testes sejam feitos com diferentes feromônios. Vilela (1994) sugere que iscas podem ter sua atração elevada com a adição de feromônios específicos que também ocultam o efeito nocivo das iscas.

Em outra via, considerando que iscas a base de gergelim são tóxicas às formigas, sugere-se que alguns compostos ativos tóxicos sejam mais fáceis de mascarar do que outros, fazendo com que o feromônio de trilha não seja adequado em mascarar o gergelim. Link et al (1995), utilizaram iscas a base de três diferentes ingredientes químicos ativos, contra 130 ninhos de *Ac. heyeri* e observaram que duas iscas (a base de sulfluramida e fipronil) apresentaram aceitação superior a 80%, enquanto a outra (a base de clorpirifós) apresentou aceitação de 30 a 70%, sugerindo que há diferenças na aceitação de iscas conforme o princípio ativo utilizado.

Desta forma, a isca a base de gergelim, independente da formulação, ainda precisa ser mais investigada, pois geralmente defensivos botânicos necessitam de reaplicação para atingir resultado satisfatório, sugerindo-se trabalhos que avaliem os efeitos da reaplicação dessa isca, bem como a busca por algum composto capaz de aumentar sua atratividade.

## RESUMO E CONCLUSÕES

Isclas a base de sementes de gergelim inibem o crescimento do fungo simbiote de *A. laevigata* e isclas a base de folhas de gergelim apresentam resposta de inibição mais rápida quando formuladas em maior concentração.

A isca que demonstrou maior potencial para utilização no campo foi a base de farinha de folhas de gergelim a 75%, pela maior aceitação e inibição da massa de jardim de fungo, o que contribuiu para uma queda na sobrevivência das operárias.

A reaplicação da isca com folhas de gergelim a 75% deve ser experimentada em laboratório para melhor avaliar o potencial de toxidez desta isca e o comportamento das formigas frente a uma segunda dose dessas isclas, e assim,

verificar sua viabilidade de aplicação no campo. Paralelamente, deve-se explorar também a investigação sobre compostos que possam incrementar a atratividade dessas iscas, o que possibilitaria reaplicações com menores chances de rejeição.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Aguiar-Menezes, E. L. (2005) Inseticidas botânicos: seus princípios ativos, modo de ação e uso agrícola. Seropédica: Embrapa Agrobiologia (Documentos, 205) 58 p.
- Boaretto, M. A. C., Forti, L. C. (1997). Perspectivas no controle de formigas cortadeiras. Série Técnica IPEF 11: 31-46 pp.
- Bueno, O.C. Hebling, M. J. A., Silva, O. A., Matenhauer, A. M. C. (1995) Effect of Sesame (*Sesamum indicum* L.) on nest development of *Atta sexdens rubropilosa* Forel (Hymenoptera, Formicidae). *Journal Applied of Entomology*, 119: 341-343 p.
- Bueno, O.C., Bueno, F.C., Brochini, J., Sinhori, K., Morini, M.S.C., Hebling, M.J.A., Pagnocca, F.C., Vieira, P.C., Leite, A.C., Fernandes, J.B. (2004a) Activity of sesame extracts to the leaf-cutting ant *Atta sexdens rubropilosa* (Hymenoptera: Formicidae). *Sociobiology*, 44 (3): 511-518 p.
- Bueno, O.C., Bueno, F.C., Betella, G., Morini, M.S.C., Hebling, M.J.A., Pagnocca, F.C., Leite, A.C., Vieira, P.C., Fernandes, J.B. (2004b) Toxicity of sesame extracts to leaf-cutting ant *Atta sexdens rubropilosa* (Hymenoptera: Formicidae). *Sociobiology*, 44 (3): 599-606 p.
- Bueno, O.C.; Bueno, F.C. (2011) Plantas inseticidas: perspectivas de uso no controle de formigas-cortadeiras. *In: Della Lucia, T.M.C. Formigas-cortadeiras – da biologia ao manejo*. Viçosa: Editora UFV. Cap. 21. 359-372 p.
- Camargo, R.S.; Lopes, J.F.S.; Forti, L.C. (2013) Fungus garden acts as a template for the construction of chambers in ants? *Ciência Rural*, 43: 565–570 p.
- Della Lucia, T. M. C.; Gandra, L.C., Guedes, R.N.C. (2014) Managing leaf-cutting ants: peculiarities, trends and challenges. *Pest Management Science*, 70: 14–23 p.

- Giesel, A., Boff, M. I. C., Boff, P. (2011) Iscas agroecológicas no manejo de formigas *Acromyrmex spp.* *Cadernos de Agroecologia*, 6: 1-5 p.
- Hebling-Beraldo, M. J. A., Bueno, O. C., Almeida, R. E., Silva, O. A., Pagnocca, F. C. (1991) Influência do tratamento com folhas de *Sesamum indicum* sobre o metabolismo respiratório de *Atta sexdens rubropilosa* Forel, 1908 (Hymenoptera, Formicidae). *Anais da Sociedade Entomológica do Brasil*, 20: 27-33 p.
- Leite, R. G. F. (2015) Ação de extratos etanólicos botânicos no controle da formiga cortadeira *Atta sexdens rubropilosa* (Hym. Formicidae). Dissertação (Mestrado em Agronomia) – Universidade do Oeste Paulista, UNOESTE, Presidente Prudente, SP, 61 p.
- Link, D., Link, F.M., Link, H.M. (1995) Eficácia de sulfluramida-isca granulada, no combate à formiga vermelha de monte, *Acromyrmex heyeri*. *Ciência Florestal*, 5(1): 103-111 pp.
- Loeck, A.E., Rosenthal, M.D., Gusmão, L.G. (1994) Miniformigueiro: método de criação de formigas cortadeiras na ausência da rainha. *Anais da Sociedade de Entomologia do Brasil*, 23: 359-362p.
- Morini, M.S.C. Bueno, O.C., Bueno, F.C., Leite, A.C., Hebling, M.J.A., Pagnocca, F.C., Fernandes, J.B., Vieira, P.C., Silva, M.F.G.F. (2005) Toxicity of sesame seeds to leaf-cutting ant *Atta sexdens rubropilosa* (Hymenoptera: Formicidae). *Sociobiology*, 45 (1): 195-204 p.
- Mueller, U. G. (2002) Ant versus fungus versus mutualism: ant-cultivar conflict and the deconstruction of the Attine ant-fungus symbiosis. *The American Naturalist, Supplement*, 160: 67-98 p.
- Nagamoto, N. S. (2003) Estudos toxicológicos de princípios ativos utilizando como modelo *Atta sexdens rubropilosa* (Hymenoptera, Formicidae). Tese (Doutorado em Agronomia) – Universidade Estadual Paulista, UNESP, Botucatu, SP, 241 p.
- Pagnocca, F.C., Silva, O. A., Hebling-Beraldo, M. J., Bueno, O. C., , Fernandes, J. B., Vieira, P. C.,(1990) Toxicity of sesame extracts to the symbiotic fungus of leaf-cutting ants. *Bulletin of Entomological Research*, 80: 349-352 p.
- Peres-Filho, O.; Dorval, A. (2003) Efeito de formulações granuladas de diferentes produtos químicos e à base de folhas e de sementes de gergelim, *Sesamum*

*indicum*, no controle de formigueiros de *Atta sexdens*. *Ciência Florestal*, 13(2): 67-70p.

Ribeiro, S.B. Pagnocca, F. C., Victor, S. R., Bueno, O. C., Hebling, M. J., Bacci Jr, M., Silva, O. A., Fernandes, J. B., Vieira, P. C., Silva, M. F. G. F. (1998) Activity of sesame leaf extracts against the symbiotic fungus of *Atta sexdens* L. *Anais da Sociedade Entomológica do Brasil*, 27: 421-426 p.

Silva, D. G. (2016) Efeito do fungo *Trichoderma harzianum* e do zinco em colônias de *Atta sexdens*. Dissertação (Mestrado em Ciências Florestais e Ambientais) – Universidade Federal do Tocantins, UFT, Gurupi, TO, 67 p.

Silva, O.A., Hebling-Beraldo, M.J.A., Bueno, O.C., Pagnocca, F.C. (1987) Plantas tóxicas: toxicidade vegetal e o desenvolvimento de formigueiro da tribo Attini. *In: Pacheco, P., Berti-Filho, E. (org.) Formigas cortadeiras e o seu controle*. IPEF, Piracicaba/ SP. 23-36 p.

Silva-Pinhati, A. C.; Bacci Jr., M.; Hinkle, M. L.; Sogin, M. L.; Pagnocca, F. C.; Martins, V. G.; Bueno, O. C.; Hebling, M. J. A. (2004) Low variation in ribosomal DNA and internal transcribed spacers of the symbiotic fungi of leaf-cutting ants (Attini: Formicidae). *Brazilian Journal of Medical and Biological Research*, 37(10): 1463-1472 p.

Singer, R. (1986) The Agaricales in modern taxonomy. *In: Fisher, P. J.; Stradling, D. J.; Pegler, D. N. (1994) Leaf cutting ants, their fungus gardens and the formation of basidiomata o *Leucoagaricus gongylophorus**. *Mycologist*, 8 (3): 541-546 p.

Tatagiba-Araujo, G. Viana-Bailez, A. M. e Bailez, O. (2012) Increasing Attractiveness of Baits with Venom Gland Extract for *Atta sexdens rubropilosa* (Forel) (Hymenoptera: Formicidae). *Neotropical Entomology*, 41: 232-236 pp.

#### 4. RESUMOS E CONCLUSÕES

A busca por métodos alternativos ao controle de formigas-cortadeiras é urgente, devido ao enquadramento dos principais ingredientes ativos disponíveis no mercado como POPs.

O controle por comportamento, através da utilização de semioquímicos, vem sendo sugerido para manejo integrado dessa praga, podendo visar à desorganização da colônia ou a atratividade de iscas formicidas.

O presente trabalho poderá servir de base para trabalhos futuros que poderão aprimorar as metodologias propostas, realizar experimentações de campo e comprovar se há real potencial do feromônio de trilha e da farinha de gergelim para recomendações práticas.

O feromônio de trilha (extrato de glândula de veneno) foi estudado com a finalidade de responder a algumas questões inerentes à sua utilização em iscas: (1) além de atrativo, o feromônio pode influenciar na uniformidade de distribuição de iscas no ninho? (2) Qual o tempo de persistência do feromônio? (3) Qual a melhor forma de utilização do feromônio para incrementar a atratividade de iscas?

Verificou-se que iscas impregnadas com feromônio de trilha são distribuídas de forma heterogênea em todas as câmaras de jardim de fungo, mas com concentração maior no setor com rainha. Contudo, devido ao número de repetições e de ninhos utilizados não se pode afirmar que a rainha foi fator determinante nesta distribuição.

Além de conferir distribuição diferenciada de iscas dentro dos ninhos, o feromônio persiste atrativo por até 72h em iscas granuladas. Também foi observado que iscas impregnadas diretamente com o feromônio são encontradas e transportadas primeiro pelas formigas. Logo, o feromônio de trilha possui características desejáveis a serem incrementadas em iscas, que podem melhorar a eficiência das iscas em campo.

Iscas a base de sementes de gergelim inibiram o crescimento do fungo simbiote de *A. laevigata* e iscas a base de folhas de gergelim apresentaram resposta de inibição mais rápida quando formuladas em maior concentração. A isca que demonstrou maior potencial para utilização no campo foi a base de farinha de folhas de gergelim a 75%, que provocou redução de 60% na massa do jardim de fungo dentro dos primeiros 21 dias. Desta forma, podem constituir boa alternativa aos princípios ativos sintéticos, principalmente para agricultura familiar e orgânica.

Contudo, os resultados demonstrados nesta tese exprimem que o tema abordado merece atenção e incentivo à pesquisa.

## 5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Acácio-Bigi, M.F.M., Hebling, M.J.A., Bueno, O.C., Pagnocca, F.C., Silva, O.A., Fernandes, J.B., Vieira, P.C. (1998) Toxicidade de extratos foliares de *Ricinus communis* L. para operárias de *Atta sexdens rubropilosa* Forel, 1908 (Hymenoptera:Formicidae). *Revista Brasileira de Entomologia*, 41(2-4):239-243 pp.
- Acácio-Bigi, M.F.M., Torkomian, V.L.V., De Grootte, S.T.C., Hebling, M.J.A., Bueno, O.C., Pagnocca, F.C., Fernandes, J.B., Vieira, P.C., Silva, M.F.G.F. (2004) Activity of the *Ricinus communis* (Euphorbiaceae) and ricinine to the leaf cutting ants *Atta sexdens rubropilosa* Forel, 1908, (Hymenoptera, Formicidae) and to the symbiotic fungus *Leucoagarzcus gongylophorus* (Singer) Möller. *Pest Manager Science*, 60: 933-938 pp.
- Aguiar-Menezes, E. L. (2005) Inseticidas botânicos: seus princípios ativos, modo de ação e uso agrícola. Seropédica: Embrapa Agrobiologia (Documentos, 205) 58 p.
- Araújo, M.S.; Della-Lucia, T.M.C.; Souza, D.J. (2003) Estratégias alternativas de controle de formigas-cortadeiras. *Bahia Agrícola*, 6(1): 71-74 pp.
- Attygalle, A. B. e Morgan, E. D. (1985) Ant Trail Pheromones. *Advances in Insect Physiology*, 18: 1-30 pp.
- Bansho J.Y., Carneiro D.A., Cordeiro L. (1994) Controle de Formigas Cortadeiras na KFPC-PR. Anais do III Curso de Atualização no Controle de Formigas Cortadeiras/ PCMIP/ IPEF, 41-50 pp.
- Bastos, L.F. (2014) Incremento da distribuição de iscas dentro de colônias da formiga-cortadeira *Atta sexdens rubropilosa* (HYMENOPTERA: FORMICIDAE) mediante impregnação de feromônios. Monografia (Licenciatura em Ciências Biológicas) – Campos dos Goytacazes – RJ, Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro – UENF. 35 p.
- Billen, J. (1991) Ultrastructural organization of the exocrine glands in ants. *Ethology, Ecology and Evolution*, 1: 67-73 pp.
- Billen, J., Beeckman, W., Morgan, E.D. (1992) Active trail pheromone compounds and trail following in the ant *Atta sexdens sexdens* (Hymenoptera: Formicidae). *Ethology, Ecology and Evolution*, 4: 197-202 pp.
- Boaretto, M. A. C., Forti, L. C. (1997). Perspectivas no controle de formigas cortadeiras. Série Técnica IPEF 11: 31-46 pp.
- Bueno, O.C. e Bueno, F.C. (2011) Plantas inseticidas: perspectivas de uso no controle de formigas-cortadeiras. In: Della Lucia, T. M. C. (ed.) Formigas-cortadeiras: da biologia ao manejo. Viçosa, MG, UFV, 359-372 pp.

- Bueno, O.C., Bueno, F.C., Brochini, J., Sinhori, K., Morini, M.S.C., Hebling, M.J.A., Pagnocca, F.C., Vieira, P.C., Leite, A.C., Fernandes, J.B. (2004a) Activity of sesame extracts to the leaf-cutting ant *Atta sexdens rubropilosa* (Hymenoptera: Formicidae). *Sociobiology*, v.44: 511-518pp.
- Bueno, O.C. Bueno, F.C., Betella, G., Morini, M.S.C., Hebling, M.J.A., Pagnocca, F.C., Leite, A.C., Vieira, P.C., Fernandes, J.B. (2004b) Toxicity of sesame extracts to leaf-cutting ant *Atta sexdens rubropilosa* (Hymenoptera: Formicidae). *Sociobiology*, v.44: 599-606pp.
- Bueno, O.C., Campos-Farinha, A.E.C. (1999) As formigas domésticas. In: Mariconi, F.A.M. (Ed.). *Insetos e outros invasores de residência*. Piracicaba: FEALQ, 135-180 p.
- Bueno, O.C. Hebling, M. J. A., Silva, O. A., Matenhauer, A. M. C. (1995) Effect of Sesame (*Sesamum indicum* L.) on nest development of *Atta sexdens rubropilosa* Forel (Hymenoptera, Formicidae). *Journal Applied of Entomology*, 119: 341-343 p.
- Camargo, R.S.; Lopes, J.F.S.; Forti, L.C. (2013) Fungus garden acts as a template for the construction of chambers in ants? *Ciência Rural*, 43: 565–570 p.
- Cantarelli, E. B. (2005) Silvicultura de precisão no monitoramento e controle de formigas cortadeiras em plantios de *Pinus*. Tese (Doutorado em Engenharia Florestal) – Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria. 95 p.
- Carlos, A.A. (2008) Influência da polpa cítrica, do óleo e de fungos filamentosos na atratividade de iscas tóxicas à *Atta sexdens rubropilosa* (Hymenoptera, Formicidae).
- Castellani, M. A., Forti L. C., Moreira A. A., Crusciol A.P.P.A. (2007) Biologia de formigas cortadeiras de gramíneas: uma visão prática. XVIII Simpósio de Myrmecologia (Mesa Redonda), *Biológico*, 69: 73-76 pp.
- Cherrett, J.M. (1972) Some Factors Involved in the Selection of Vegetable Substrate by *Atta cephalotes* (L.)(Hymenoptera: Formicidae) in Tropical Rain Forest. *Journal of Animal Ecology*, 41:647-660.
- CONAB. Acompanhamento da safra brasileira, cana-de-açúcar, safra 2007/2008, terceiro levantamento. Disponível em: <http://www.conab.gov.br/conabweb/download/safra/3lev-cana.pdf>. Acesso em: 20/jul/2013.
- Costa, E.L.N., Silva, R.F.P., Fiuza, L.M. (2004) Efeitos, aplicações e limitações de extratos de plantas inseticidas. *Acta Biologica Leopoldensia*, v.26:173-85pp.
- Cross, J. H., Byler, R. C., Ravid, U., Silverstein, R. M., Jutsum, A. R., Cherret, J. M. (1979) The major component of the trail pheromone of the leaf-cutting ant *Atta sexdens rubropilosa* Forel: 3-ethyl-2-5-dimethylpyrazine. *Journal Chemistry Ecology*, 5: 187-203 pp.
- Delabie, J.H.C., Della Lucia, T.M.C., Pastre, L. (2000) Protocolo de experimentação para avaliar a atratividade de novas formulações de iscas granuladas utilizadas no controle das formigas cortadeiras *Acromyrmex spp.* e *Atta spp.* (Hymenoptera: Formicidae: Myrmicinae: Attini) no campo. *Anais da Sociedade Entomológica do Brasil*, 29(4): 843-848 pp.
- Della Lucia, T. M. C.; Gandra, L.C., Guedes, R.N.C. (2014) Managing leaf-cutting ants: peculiarities, trends and challenges. *Pest Managment Science*, 70: 14–23 p.

- Della Lucia, T.M.C. (1999) *Atta bisphaerica*: uma ilustre desconhecida. *Naturalia*, 24: 53-59 pp.
- Della Lucia, T.M.C. (2003) Hormigas de importância econômica em la región Neotropical. *In*: Fernández, F. (ed.) *Introducción a las hormigas de la región Neotropical*, p. 337-349. Ed. Instituto de Investigación de Recursos Biológicos Alexander von Humboldt.
- Della Lucia, T.M.C. e Oliveira, P.S. (1993) Forrageamento. *In*: Della Lucia, T.M.C. (ed.). *As formigas cortadeiras*, p. 84-105. Ed. Folha de Viçosa, 262p.
- Della Lucia, T.M.C. e Souza, D. J. (2011) Importância e história de vida das formigas-cortadeiras. *In*: Della-Lucia, T.M.C. (ed.) *Formigas-cortadeiras: da bioecologia ao manejo*, p. 15-26. Ed. UFV, 421p.
- Della Lucia, T.M.C., Gandra, L.C., Guedes, R.N.C. (2014) Managing leaf-cutting ants: peculiarities, trends and challenges. *Pest Management Science (Print)*, v. 70: 14-23pp.
- Della Lucia, T.M.C., Vilela, E.F., Anjos, N., Moreira, D.D.O. (1993) Criação de formigas cortadeiras em laboratório. *In*: Della Lucia, T.M.C. (ed) *As Formigas Cortadeiras*. Viçosa, UFV, 151-162 pp.
- Detrain, C., Tasse, O., Versaen, M., Pasteels, J.M. (2000) A field assessment of optimal foraging in ants: trail patterns and seed retrieval by the European harvester ant *Messor barbarus*. *Insectes Sociaux*, 47:56–62.
- Dow Agrosiences (1998) Controle de formigas-cortadeiras (folheto).
- Duncan, E. J. e Ratnieks, F. L. W. (2006) Communication in ants. *Current Biology*, 16: 570-574 pp.
- Endringer, F. B., Viana-Bailez, A. M., Bailez, O., Teixeira, M. C., Lima, V. L. S., Souza J. H. (2012) Load capacity of workers of *Atta robusta* during foraging (Hymenoptera: Formicidae). *Sociobiology*, 59: 1-10 pp.
- Endringer, F.B. (2011) Comportamento de forrageamento da formiga *Atta robusta* Borgmeier 1939 (Hymenoptera: Formicidae). Dissertação (Mestrado em Produção Vegetal) - Campos dos Goytacazes - RJ, Universidade Estadual Do Norte Fluminense Darcy Ribeiro, UENF. 66 p.
- Erthal, M.J. (2004) Enzimas digestivas presentes no intestino da formiga cortadeira *Acromyrmex subterraneus* Forel, 1893 (Hymenoptera: Formicidae) e no seu fungo mutualístico. Tese (Doutorado em Produção Vegetal) – Campos dos Goytacazes – RJ, Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro – UENF. 138p.
- Etheridge, P., e Phillips, F.T. (1976) Laboratory evaluation of new insecticides and bait matrices for the control of leaf-cutting ants (Hymenoptera, Formicidae). *Bulletin of Entomological Research*, 66: 569-578pp.
- Evershed, R. P. e Morgan, E. D. (1983) The amounts of trail pheromone substance in the venom of workers of four species of attine ants. *Insect Biochemistry*, 13: 469-474 pp.
- Farji-Brener A.G. e Tadey M., (2012) Trash to treasure: leaf-cutting ants repair nest-mound damage by recycling refuse dump materials. *Behavioral Ecology*, 23: 1195-1202 pp.

- Fernandes, M. A. C., Brugger, M. S., Reis, M. N., Espírito Santo, N. B., Evangelista, V. M., Lopes, J. F. S. (2007) Comparação da atratividade de iscas artificiais confeccionadas com *Azadirachta indica* (nim) e polpa cítrica em *Acromyrmex rugosus* (Hymenoptera, Formicidae). *Biológico*, 69: 395-396 pp.
- Forti, L.C. (2000) Se o produtor vacilar, o exército das formigas invade a lavoura. A granja, Rio Grande do Sul, Jan.2000, 12-17pp.
- Forti, L.C. e Silveira Neto, S. (1989) Distribuição de substrato em colônia de *Atta capiguara* Gonçalves, 1944 (Hymenoptera, Formicidae). *Anais da Sociedade Entomológica do Brasil*, 18: 347-356pp.
- Forti, L.C. Ecologia da saúva *Atta capiguara* Gonçalves, 1944 (Hymenoptera, Formicidae) em pastagem. Piracicaba, 1985. Tese (Doutorado)- Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", Universidade de São Paulo. 234p.
- Forti, L.C., Andrade, A.P.P., Ramos, V.M. (1999) Biologia e comportamento de *Atta sexdens rubropilosa* (Hymenoptera, Formicidae): implicações no seu controle. SIMPÓSIO DO CONE SUL SOBRE MANEJO DE PRAGAS E DOENÇAS EM *Pinus*. 1. Anais... 13(33): 103-114 pp (Série Técnica).
- Forti, L.C., Della Lucia, T.M.C., Yassu, W.K., Bento, J.M.S., Pinhão, M.A.S. (1993) Metodologias para experimentos com iscas granuladas para formigas cortadeiras. In: Della Lucia, T.M.C. (ed.). As formigas cortadeiras. Viçosa: Folha de Viçosa, 191-211pp.
- Fowler, H. G. e Robinson, S. W. (1979) Foraging by *Atta sexdens* (Formicidae: Attini): seasonal patterns, caste and efficiency. *Ecological Entomology*, 4: 239-247 pp.
- Fowler, H. G., Pagani, M. I., da Silva, A., Forti, L. C., Pereira da Silva, U., Vasconcelos, H. G. (1989) A pest is a pest? The dilemma of Neotropical leaf-cutting ants: keystone taxa of natural ecosystems. *Environmental Management*, 13: 671-675 pp.
- Giesel, A., Boff, M. I. C., Boff, P. (2011) Iscas agroecológicas no manejo de formigas *Acromyrmex* spp. *Cadernos de Agroecologia*, 6: 1-5 p.
- Glancey, B.M., Stringer, C.E., Craig, C.H., Bishop, P.M., Martin, B.B. (1970) Pheromones may induce brood tending in the fire ant *Solenopsis saevissima* (Fr. Smith). *Nature*, 226: 863-864 pp.
- Hebling, M. J. A., Bueno, O. C., Pagnocca, F. C., da Silva, O. A., Maroti, P. S. (2000a) Toxic effects of *Canavalia ensiformes* L. (Leguminosae) on laboratory colonies of *Atta sexdens* L. (Hym., Formicidae). *Journal of Applied Entomology*, 124: 33-35 pp.
- Hebling, M. J. A., Bueno, O. C., Maroti, P. S., Pagnocca, F. C., da Silva, O. A. (2000b) Effects of leaves of *Ipomoema batatas* (Convolvulaceae) on nest development and on respiratory metabolism of leaf-cutting ants *Atta sexdens* L. (Hym., Formicidae). *Journal of Applied Entomology*, 124: 249-252 pp.
- Hebling-Beraldo, M. J. A., Bueno, O. C., Almeida, R. E., Silva, O. A., Pagnocca, F. C. (1991) Influência do tratamento com folhas de *Sesamum indicum* sobre o metabolismo respiratório de *Atta sexdens rubropilosa* Forel, 1908 (Hymenoptera, Formicidae). *Anais da Sociedade Entomológica do Brasil*, 20: 27-33 p.

- Hölldobler, B. (1976). Recruitment behavior home range orientation and territoriality in harvester ants, *Pogonomyrmex*. *Behavioural Ecology and Sociobiology*, 1: 3-44pp.
- Hölldobler, B. e Wilson, E.O. (2008) The Super-Organism: The beauty, elegance, and strangeness of insect societies. 1ed. New York: W.W. Norton e Company. 522p.
- Hölldobler, B., Wilson, E.O. (1990) The ants. The Belknap Press of Harvard University, Cambridge, Massachusetts. 732 p.
- Isenring, R. e Neumeister, L. (2010) Recommendations regarding derogations to use alpha-cypermethrin, deltamethrin, fenitrothion, fipronil and sulfluramidin FSC certified forests in Brazil. Forest Stewardship Council, Bonn, Germany.
- Isman, M.B. (2000) Plant essential oils for pest and disease management. *Crop Protection*, v.19: 603-8pp.
- Jaffé, K. (1980) Theoretical analysis of the communication system for chemical mass recruitment in ants. *Journal Theoretical Biology*, 84: 589-609 pp.
- Jaffé, K. e Howse, P. E. (1979) The mass recruitment system of the leaf-cutting ant *Atta cephalotes*. *Animal Behaviour*, 27: 9-930 pp.
- Jaffé, K.C. (2004) El mundo de las hormigas. 2ª ed. Equinoccio: Caracas, Bolívia. 183p.
- Kim, S.I., Roh, J.Y., Kim, D.H., Lee, H.S., Ahn, Y.J. (2003) Insecticidal activities of aromatic plant extracts and essential oils against *Sitophilus oryzae* and *Callosobruchus chinensis*. *Journal of Stored Products Research*, v.39: 293-303pp.
- Laranjeiro, A. J. (1994) Manejo integrado de formigas cortadeiras na Aracruz Celulose. Anais do III Curso de Atualização no controle de formigas cortadeiras, IPEF, 28-33 pp.
- Leal, I. R., Wirth, R., Tabarelli, M. (2012) Formigas-cortadeiras e a ambiguidade de suas relações com plantas. In: Del-Claro, K. e Torezan-Silingardi, H. M. (Eds.) Ecologia das interações plantas-animais: Uma abordagem ecológico-evolutiva. Editora Technical Books, 217-239 pp.
- Leite, A.C., Bueno, F.C., Oliveira, C.G., Fernandes, J.B., Vieira, P.C., Fernandes da Silva, M.F.G., Bueno, O.C., Pagnocca, F.C., Hebling, M.J.A., Bacci, M.J. (2005) Limonoids from *Cipadessa fruticosa* and *Cedrela fissilis* and their insecticidal activity. *Journal of Brazilian Chemical Society*, v.16:, 1391-1385pp.
- Lenoir, A., Fresneau, D., Errard, C., Hefetz, A. (1999) Individuality and colonial identity in ants: the emergence of the social representation concept. In: Detrain, C. et al. (eds) Information processing in social insects, Biskhauser Verlag Basel, 219-237pp.
- Lima, C.A., Della Lucia, T.M.C., Silva, N.A. (2001) Formigas cortadeiras biologia e controle. *Boletim de Extensão da Universidade Federal de Viçosa*. N° 44, 28 p.
- Link, D., Link, F.M., Link, H.M. (1995) Eficácia de sulfluramida-isca granulada, no combate à formiga vermelha de monte, *Acromyrmex heyeri*. *Ciência Florestal*, 5(1): 103-111 pp.
- Loeck, A.E. (2011) Bioecologia, Sistemática e Controle de formigas-cortadeiras. Universidade Federal de Pelotas – UFPEL (material didático). 37 p.

- Loeck, A.E., Rosenthal, M.D., Gusmão, L.G. (1994) Miniformigueiro: método de criação de formigas cortadeiras na ausência da rainha. *Anais da Sociedade de Entomologia do Brasil*, 23: 359-362p.
- Loeck, A.E.; Nakano, O. (1982) Distribuição de substratos no interior de um saúveiro de *Atta sexdens rubropilosa* Forel, 1908 (Hymenoptera, Formicidae). *O Solo*, 74: 43-47pp.
- Lopes J.F.S., Forti L.C., Camargo R.S. (2004) The influence of the scout upon the decision-making process of recruited workers in three *Acromyrmex* species. *Behavioural Processes*, 67: 471-476 pp.
- Mariconi, F.A.M.; Wiendl.F.M.; Walder, J.M.M. (1981) Iscas granuladas marcadas com iodo e fósforo radioativos no estudo de saúvas (*Atta* spp.). In: CONGRESSO BRASILEIRO DE ENTOMOLOGIA, 7, Fortaleza, Anais. 258-259pp.
- Matrangolo, C. A. R., Castro, R. V. O., Della Lucia, T. M. C., Della Lucia, R. M., Mendes, A. F. N., Costa, J. M. F. M., Leite, H. G. (2010) Crescimento de eucalipto sobre efeito de desfolhamento artificial. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, 45: 952-957 pp.
- Menezes, E.L.A. (2005) Inseticidas botânicos: seus princípios ativos, modo de ação e uso agrícola. Seropédica, Rio de Janeiro: Embrapa Agrobiologia. 58p.
- Moreira, A.A., Forti, L.C. (1999) Distribuição de substratos nas colônias de *Atta laevigata* (F. Smith, 1858) (HYMENOPTERA: FORMICIDAE). *Scientia Agrícola*, 56: 465-469pp.
- Moreira, A.A., Forti, L.C., Boaretto, M.A.C., Andrade, A.P.P., Rossi, M.N. (2003) Substrate distribution in fungus chambers in nests of *Atta bisphaerica* Forel, 1908 (Hym.,Formicidae). *Journal of Applied Entomology*, v.127: 96-8pp.
- Moreira, D. D. O. e Della Lucia, T. C. M. (1993) Duração do feromônio de trilha de *Acromyrmex subterraneus subterraneus* e sua capacidade de atração em diferentes concentrações. *Revista Árvore*, 17: 202-212 pp.
- Moreira, D.D.O., Erthal Jr., M., Samuels, R.I. (2011) Alimentação e digestão em formigas-cortadeiras. In: Della Lucia, T.M.C. (Ed.). *Formigas-cortadeiras: da biologia ao manejo*. Viçosa: UFV, 204-225pp.
- Moreira, D.O.O., Della Lucia, T.M.C., Vilela, E.F. (1994) Orientação de operárias de *Acromyrmex subterraneus subterraneus* no retorno ao ninho. *Anais da Academia Brasileira de Ciências*, 66: 199-203pp.
- Morgan, E. D.(2009) Trail pheromones of ants. *Physiological Entomology*,34: 1-17 pp.
- Morgan, E.D., Keegans, S.J., Tits, J., Wenseleers, T., Billen, J. (2006) Preferences and differences in the trail pheromone of the leaf-cutting ant *Atta sexdens sexdens* (Hymenoptera: Formicidae). *European Journal of Entomology*, 103: 553-558pp.
- Morini, M.S.C.; Bueno, O.C.; Bueno, F.C.; Leite, A.C.; Hebling, M.J.A.; Pagnocca, F.C.; Fernandes, J.B.; Vieira, P.C.; Silva, M.F.G.F. (2005) Toxicity of sesame seed to leaf-cutting ant *Atta sexdens rubropilosa* (Hymenoptera: Formicidae). *Sociobiology*, 45(1): 195-204 pp.
- Moser, J. C. e Silverstein, R. M. (1967) Volality of trail marking substance of the town ant. *Nature*, 215: 206-207 p. apud Viana-Bailez, A. M., Bailez, O., Malaquias, K. S. (2011) Comunicação Química em formigas-cortadeiras. In: Della Lucia, T. M. C.

- (ed.) Formigas-cortadeiras: da biologia ao manejo. Viçosa, MG, UFV, 141-164 pp.
- Mueller, U. G. (2002) Ant versus fungus versus mutualism: ant-cultivar conflict and the deconstruction of the Attine ant-fungus symbiosis. *The American Naturalist, Supplement*, 160: 67-98 p.
- Mueller, U.G., Schultz, T.R., Currie, C.R., Adams, R.M.M., Malloch, D. (2001) The origin of the Attini ant-fungus mutualism. *Quarterly Review of Biology*, 76: 169-197pp.
- Nascimento, R. R. e Sant'Ana, A. (2001) Isolamento e identificação dos semioquímicos de insetos sociais. In: Vilela, E. F., Della Lucia, T. M. C. (eds.) Feromônio de insetos: biologia, química e emprego no manejo de pragas. 2 ed., Ribeirão Preto, SP, Holos, 65-71 pp.
- Oliveira, M. F. S. S. (2006) Controle de formigas cortadeiras (Hymenoptera: Formicidae) com produtos naturais. Tese (Doutorado em Ciências Biológicas) – Rio Claro – SP, Universidade Estadual Paulista – USP, 119 p.
- Oliveira, M.A; Araújo, M.S.; Marinho, C.G.S.; Ribeiro, M.M.R.; Della Lucia, T.M.C. (2011) Manejo de formigas-cortadeiras. In: Della Lucia, T.M.C. (Ed.). Formigas-cortadeiras: da biologia ao manejo. Viçosa: UFV, 400-419 pp.
- Pagnocca, F.C., Silva, O. A., Hebling-Beraldo, M. J., Bueno, O. C., , Fernandes, J. B., Vieira, P. C., (1990) Toxicity of sesame extracts to the symbiotic fungus of leaf-cutting ants. *Bulletin of Entomological Research*, 80: 349-352 p.
- Paul, J., Roces, F. (2003) Fluid intake rates in ants correlate with their feeding habits. *Journal of Insect Physiology*, 49:347-357.
- Peñaflor, M.F.G.V., Almeida, R.N.A., Simote, S.Y., Yamane, E., Bueno, O.C., Hebling, J.A., Fernandes, J.B., Vieira, P.C., Silva, M.F.G.F., Pagnocca, F. (2009) Toxicidade de substâncias isoladas de *Simarouba versicolor* St. Hil. (Simaroubaceae) para formigas-cortadeiras *Atta sexdens* L. (Hymenoptera: Formicidae) e para o seu fungo simbionte *Leucoagaricus gongylophorus* (Singer) Möller. *Sociedade Entomológica do Brasil*, 4: 1-7pp.
- Peres-Filho, O.; Dorval, A. (2003) Efeito de formulações granuladas de diferentes produtos químicos e à base de folhas e de sementes de gergelim, *Sesamum indicum*, no controle de formigueiros de *Atta sexdens*. *Ciência Florestal*, 13(2): 67-70 p.
- Picanço, M. C. (2000) Apostila de Entomologia Agrícola. Ed. UFV, Universidade Federal de Viçosa (texto acadêmico), 308 p.
- Pretto, D.R. e Forti, L.C. (2000) Dyed baits distribution in nests of *Atta sexdens* L. (Hym., Formicidae). *Journal of Applied Entomology*, 124: 37-39pp.
- Ramos, V.M. e Forti, L.C. (2007) Soluções para o controle de *Atta capiguara* Gonçalves, 1954 (Hym., Formicidae) com iscas tóxicas. *Biológico*, São Paulo, v.69, suplemento 2 (Mesa Redonda), 77-80pp.
- Ribeiro M.R.R., Marinho C.G.S. (2011) Seleção e forrageamento em formigas cortadeiras. In: Della Lucia T.M.C. (ed.) Formigas-cortadeiras: da biologia ao manejo. UFV, Viçosa, MG, 421 p.
- Ribeiro, S. B., Pagnocca, F. C., Victor, S. R., Bueno, O. C., Hebling, M. J., Bacci Jr, M., Silva, O. A., Fernandes, J. B., Vieira, P. C., Silva, M. F. G. F. (1998) Activity of

- Sesame leaf extracts against the symbiotic fungus of *Atta sexdens* L. *Anais da Sociedade Entomológica do Brasil*, 27: 421-426 pp.
- Robinson, S. W., Cherrett, J. M. (1978) The possible use of methyl-4-methylpyrrole-2-carboxylate, an ant trail pheromone, as a component of an improved bait for leaf-cutting ants. *Bulletin of Entomological Research*. 68: 159-170 pp.
- Roces, F. Núñez, J. A. (1993) Information about food quality influences load size selection in recruited leaf-cutting ants. *Animal behavior*, 45: 135-143pp.
- Röschard J., Roces, F. (2003) Fragment-size determination and size-matching in the grass-cutting ant *Atta vollenweideri* depend on the distance from the nest. *Journal of Tropical Ecology*, 19:647-653.
- Santos, J.C. (2013) Toxicidade de extratos vegetais e suas frações para *Atta sexdens* Linnaeus, 1758 (Hymenoptera: Formicidae) e seu fungo simbiote *Leucoagaricus gongylophorus* (Moller) Singer (Agaricales: Agaricaceae). Tese (Doutorado em Agronomia) – Lavras – MG, Universidade Federal de Lavras – UFLA. 221p.
- Schlundwein, M.N. (2004) Dinâmica do ataque de *Atta sexdens rubropilosa* Forel, 1908 sobre a vegetação: Uso de manipulação de recursos e armadilha de solo para se estimar o comportamento de forrageamento. *Revista Uniara*, 15: 153-166.
- Schneider, M. O. (2003) Comportamento de cuidado da prole da saúva-limão *Atta sexdens rubropilosa* Forel, 1908 (Hymenoptera, formicidae). Dissertação (Mestrado em Ciências Biológicas) - Universidade Estadual Paulista, Instituto de Biociências de Rio Claro, 80 p.
- Silva A., Bacci Jr. M., Siqueira C.G. de, Bueno O.C., Pagnocca F.C., Hebling M.J.A. (2003) Survival of *Atta sexdens* workers on different food sources. *J. Insect. Physiol.* 49:307-313.
- Silva, A.S., Zanetti, R., Calegário, N. (2011) Nível de Dano Econômico para Formigas-Cortadeiras em Função do Índice de Produtividade Florestal de Eucaliptais em uma Região de Mata Atlântica. *Neotropical Entomology* , 40: 483-488 pp.
- Silva, M. B. 2011. Caracterização das trilhas de forrageamento em formigas cortadeiras de gramíneas (Formicidae, Attini): transferência de informações durante o recrutamento em *Atta bisphaerica*. Dissertação (Mestrado em Ciências Biológicas/Zoologia) – Instituto de Biociências de Botucatu – Universidade Estadual Paulista. 72p.
- Silva, O.A., Hebling-Beraldo, M.J.A., Bueno, O.C., Pagnocca, F.C. (1987) Plantas tóxicas: toxicidade vegetal e o desenvolvimento de formigueiro da tribo Attini. In: Pacheco, P., Berti-Filho, E. (org.) Formigas cortadeiras e o seu controle. IPEF, Piracicaba/ SP. 23-36 p.
- Silva-Pinhati, A. C.; Bacci Jr., M.; Hinkle, M. L.; Sogin, M. L.; Pagnocca, F. C.; Martins, V. G.; Bueno, O. C.; Hebling, M. J. A. (2004) Low variation in ribosomal DNA and internal transcribed spacers of the symbiotic fungi of leaf-cutting ants (Attini: Formicidae). *Brazilian Journal of Medical and Biological Research*, 37(10): 1463-1472 p.
- Singer, R. (1986) The Agaricales in modern taxonomy. In: Fisher, P. J.; Stradling, D. J.; Pegler, D. N. (1994) Leaf cutting ants, their fungus gardens and the formation of basidiomata o *Leucoagaricus gongylophorus*. *Mycologist*, 8 (3): 541-546 p.

- Sixel, R. M. M. e Gomez, F. M. (2008) Produção de florestas com qualidade: técnicas de plantio. Série Técnica, IPEF, 28p.
- Sousa, N. J. (1996) Avaliação do uso de três tipos de porta-isca no controle de formigas cortadeiras, em áreas preparadas para a implantação de povoamentos de *Pinus taeda* L. Dissertação (Mestrado em Engenharia Florestal) – Curitiba – PR, Universidade Federal do Paraná – UFPR, 88 p.
- Stockholm Convention on Persistent Organic Pollutants (2011) Entry into force of the amendments to Annexes A, B and C to the Stockholm Convention on Persistent Organic Pollutants to list nine new chemicals. Disponível em: <http://chm.pops.int/Convention/ConferenceofthePartiesCOP/Meetings/COP5/COP5Documents/tabid/1268/Default.aspx>; acessado em 28.09.2012.
- Tatagiba-Araujo, G. Viana-Bailez, A. M. e Bailez, O. (2012) Increasing Attractiveness of Baits with Venom Gland Extract for *Atta sexdens rubropilosa* (Forel) (Hymenoptera: Formicidae). *Neotropical Entomology*, 41: 232-236 pp.
- Tatagiba-Araujo, G.D.F. (2011) Incremento da eficiência de iscas destinadas ao controle da formiga cortadeira *Atta sexdens rubropilosa* (Hymenoptera: Formicidae) mediante o uso de extrato de glândula de veneno e farinha foliar de gergelim. Dissertação (Mestrado em Produção Vegetal) – Campos dos Goytacazes – RJ, Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro – UENF. 56 p.
- Tofolo, V.C. e Bueno, O.C.. (2012) Variação intra e interespecífica da composição de hidrocarbonetos cuticulares em Formicidae. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE ENTOMOLOGIA, 24, Curitiba/PR. Anais. n.483.
- Torres, A.F, Lasmar, O., Carvalho, G.A., Santa-Cecília, L.V.C., Zanetti, R., Oliveira, D. (2014) Atividade inseticida de extratos de plantas no controle de formiga-cortadeira em cafeeiro. *Coffee Science*, 8: 371-378pp.
- Tumlinson, J. H., Moser, J. C., Silverstein, R. M., Brownlee, R. G., Ruth, J. M. (1972) A volatile trail pheromone of the leaf-cutting ant, *Atta texana*. *Journal of Insect Physiology*, 18: 809-814 pp.
- United Nations Treaty Collection. (2009) Stockholm Convention On Persistent Organic Pollutants. Disponível em: <http://treaties.un.org/doc/Publication/CN/2009/CN.524.2009-Eng.pdf>. Acessado em: set./ 2013.
- van Oudenhove, L., Boulay, R., Lenoir, A., Bernstein, C., Cerda, X. (2012) Substrate Temperature Constrains Recruitment and Trail Following Behavior in Ants. *Journal of Chemical Ecology*, 38: 802-809 pp.
- Viana. A.M.M. (1996) La reconnaissance coloniale du couvain et du champignon chez la fourmi champignoniste *Acromyrmex subterraneus subterraneus*. Tese (Doutorado em Biologia do Comportamento) Curso de Pós-graduação em Biologia dos Organismos, Université Paris XIII, 136 p.
- Viana-Bailez, A. M., Bailez, O., Malaquias, K. S. (2011) Comunicação Química em formigas-cortadeiras. In: Della Lucia, T. M. C. (ed.) Formigas-cortadeiras: da biologia ao manejo. Viçosa, MG, UFV, 141-164 pp.
- Vilela, E. F. e Howse, P. E. (1988) Pheromone performance as na attractive component in baits for the control of the leaf-cutting ant *Atta sexdens rubropilosa* Forel, 1908 (Hymenoptera: Formicidae), *Anais da Sociedade Entomológica do Brasil*, 7: 107-124 pp.

- Vilela, E.F. (1994) Feromônios no controle de formigas-cortadeiras. Anais do III Curso de Atualização no Controle de Formigas Cortadeiras, PCMIP/ IPEF, 11-13pp.
- Wiesbrook, M. L. (2004) Natural indeed: Are natural insecticides safer and better than conventional insecticides? Illinois Pesticide Review, Urbana, 17 (3): 1-8 p.
- Wilson, E.O. (1980) Caste and division of labour in leaf-cutter ants (Hymenoptera: Formicidae: *Atta*). The overall pattern in *Atta sexdens*. Behavioral Ecology and Sociobiology, v.7: 143-56pp.
- Zanetti, R. (2007) Manejo Integrado de Formigas Cortadeiras e Cupins em Áreas de Eucalipto da CENIBRA. Laudo Técnico FSC-CENIBRA, 74 p.
- Zanetti, R. (2010) Métodos de Controle usados no MIP. Notas de aula: Manejo Integrado de pragas florestais. UFLA, 12 p.
- Zanetti, R., Jaffé, K., Vilela, E. F., Zanuncio, J. C., Leite, H. G. (2000) Efeito da densidade e do tamanho de saueiros sobre a produção de madeira em eucaliptais. Anais da Sociedade Entomológica do Brasil, 29: 105-117pp.
- Zanetti, R., Zanuncio, J. C., Vilela, E. F., Leite, H. G., Jaffé, K., Oliveira, A. C. (2003) Level of economic damage for leaf-cutting ants (Hymenoptera: Formicidae) in Eucalyptus plantations in Brazil. Sociobiology, 42: 433-442 pp.
- Zanetti, R.; Zanuncio, J., Santos, J., Da Silva, W., Ribeiro, G., Lemes, P. (2014). An overview of integrated management of leaf-cutting ants (Hymenoptera: Formicidae) in brazilian forest plantations. Forests, 5: 439-454pp.
- Zanuncio, J. C., Lopes, E. T., Zanetti, R., Pratissoli, D., Couto, L. (2002) Spatial distribution of nests of the leaf-cutting ant *Atta sexdens rubropilosa* (Hymenoptera: Formicidae) in *Eucalyptus* plantations in Brazil. *Sociobiology*, 44: 377-344 pp.