

Biocontrole de formiga cortadeira do gênero *Acromyrmex* por fungos entomopatogênicos
Biocontrol of Ants of the *Acromyrmex* Genus with fungus entomopathogenic
Biocontrol de hormigas del género *Acromyrmex* por hongos entomopatógenos

Recebido: 14/09/2020 | Revisado: 22/09/2020 | Aceito: 26/09/2020 | Publicado: 27/09/2020

Ísis Caroline Siqueira Santos

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-0938-0201>

Universidade Federal de Santa Maria, Brasil

E-mail: isis_tga@hotmail.com

Isac Aires de Castro

ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-2392-3513>

Universidade Federal de Santa Maria, Brasil

E-mail: isacaires@yahoo.com.br

Valéria Ortaça Portela

ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-4940-5925>

Universidade Federal de Santa Maria, Brasil

E-mail: valeriaortacaportela@gmail.com

Emely Laiara Silva de Siqueira

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-8819-3868>

Museu Paraense Emílio Goeldi, Brasil

E-mail: emelysiqueira@gmail.com

Zaida Inês Antonioli

ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-2036-8710>

Universidade Federal de Santa Maria, Brasil

E-mail: zantonioli@gmail.com

Resumo

Formigas cultivadoras de fungos a partir de material vegetal fresco (*Acromyrmex* e *Atta*) apresentam grande importância econômica, por desfolharem severamente culturas agrícolas. O controle químico é o mais utilizado para o controle destas espécies, acarretando diversos problemas ambientais. Com isso existem uma preocupação e pressão da sociedade por alternativas de controle. Programas de controle biológico, utilizando fungos

entomopatogênicos, estão sendo desenvolvidos no controle de insetos de forma promissora. Este trabalho teve como objetivo avaliar a patogenicidade dos fungos *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuill, *Metarhizium anisopliae* var. *anisopliae* (Metsch.) em operárias de *Acromyrmex heyeri* (Forel, 1899). Em bioensaio realizado em laboratório, verificou-se as concentrações foram efetivas no controle de formigas cortadeiras. O delineamento experimental utilizado foi inteiramente casualizado, com cinco repetições. O material foi coletado no Campus da Universidade Federal de Santa Maria (UFSM) em uma área de pastagem, os indivíduos foram separados em cinco grupos e pulverizados em uma solução de suspensão de $1,0 \times 10^7$, $1,0 \times 10^8$, $1,0 \times 10^9$ conídios mL^{-1} de cada isolado. O tratamento testemunha recebeu 5mL da solução de Tween® 80 a 0,1%. Cada grupo de formigas foi mantido em temperatura de 27 ± 2 °C. A mortalidade das formigas foi obtida ao terceiro dia de condução de experimento. Os dois fungos foram eficientes no controle das formigas, porém apenas o fungo de *B. bassiana* nas concentrações de $1,0 \times 10^8$ e $1,0 \times 10^9$ de esporos se sobressaiu aos demais tratamentos, provocando maiores mortalidades. Os fungos *B. bassiana* e *M. anisopliae* apresentam potencial para o controle de *A. heyeri*.

Palavras-chaves: Controle biológico; Formicidae; Fungos entomopatogênicos.

Abstract

Fungi-growing ants from fresh plant material (*Acromyrmex* and *Atta*) are of great economic importance, as they severely defoliate agricultural crops. Chemical control is the most used for the control of these species, causing several environmental problems. As a result, there is a concern and pressure from society for alternatives to control. Biological control programs, using entomopathogenic fungi, are being developed promisingly in insect control. This work aimed to evaluate the pathogenicity of fungi *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuill, *Metarhizium anisopliae* var. *anisopliae* (Metsch.) in workers from *Acromyrmex heyeri* (Forel, 1899). In a bioassay carried out in the laboratory, it was found that the concentrations were effective in the control of leaf-cutting ants. The experimental design used was completely randomized, with five replications. The material was collected on the Campus of the Federal University of Santa Maria (UFSM) in a grassland, the individuals were separated into five groups and sprayed in a suspension solution of 1.0×10^7 , 1.0×10^8 , 1.0×10^9 mL^{-1} conidia from each isolate. The control treatment received 5mL of the 0.1% Tween® 80 solution. Each group of ants was kept at a temperature of 27 ± 2 °C. Ant mortality was obtained on the third day of the experiment. The two fungi were efficient in controlling ants, but only the *B. bassiana* fungus in the 1.0×10^8 and 1.0×10^9 spore concentrations stood out from the other treatments,

causing higher mortality rates. The fungi *B. bassiana* and *M. anisopliae* have the potential to control *A. heyri*.

Keywords: Biological control; Formicidae; Entomopathogenic fungi.

Resumen

Las hormigas que cultivan hongos a partir de material vegetal fresco (*Acromyrmex* y *Atta*) son de gran importancia económica, ya que defoliar severamente los cultivos agrícolas. El control químico es el más utilizado para el control de estas especies, provocando varios problemas ambientales. Como resultado, existe una preocupación y presión de la sociedad por alternativas de control. Los programas de control biológico que utilizan hongos entomopatógenos se están desarrollando de manera prometedora en el control de insectos. Este trabajo tuvo como objetivo evaluar la patogenicidad de los hongos *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuill, *Metarhizium anisopliae* var. *anisopliae* (Metsch.) en trabajadores de *Acromyrmex heyeri* (Forel, 1899). En un bioensayo realizado en el laboratorio, se encontró que las concentraciones fueron efectivas en el control de las hormigas cortadoras de hojas. El diseño experimental utilizado fue completamente al azar, con cinco repeticiones. El material fue recolectado en el Recinto de la Universidad Federal de Santa María (UFESM) en un área de pasto, los individuos fueron separados en cinco grupos y rociados en una solución de suspensión de 1.0×10^7 , 1.0×10^8 , 1.0×10^9 mL⁻¹ conidios de cada aislamiento. El tratamiento de control recibió 5 ml de la solución de Tween® 80 al 0,1%. Cada grupo de hormigas se mantuvo a una temperatura de 27 ± 2 ° C. La mortalidad de las hormigas se obtuvo el tercer día del experimento. Los dos hongos fueron eficientes en el control de hormigas, pero solo el hongo *B. bassiana* en las concentraciones de esporas de 1.0×10^8 y 1.0×10^9 se destacó de los otros tratamientos, causando mayor mortalidad. Los hongos *B. bassiana* y *M. anisopliae* tienen el potencial de controlar *A. heyri*.

Palabras clave: Control biológico; Formicidae; Hongos entomopatógenos.

1. Introdução

As formigas pertencem à uma única família, Formicidae, com mais de 16 mil espécies válidas, 17 subfamílias, 39 tribos e 337 gêneros (Bolton, 2020). Estes animais estão presentes em todos os ambientes terrestres (Folgarait, 1998; Lucky et al., 2013). Desempenham funções ecológicas importantes, interagindo formando cadeias alimentares complexas, sendo que

qualquer modificação nesta estrutura pode reduzir a quantidade de espécies, a sua diversidade e o funcionamento de outros invertebrados (Wagg et al., 2014).

As formigas do gênero *Atta*, se alimentam de fungos que cultivam a partir de material em decomposição (cultivadoras de fungos inferiores) e folhas frescas (cultivadoras de fungos superiores; cortadeiras). As formigas cortadeiras, dos gêneros *Atta* (saúvas) e *Acromyrmex* (quenquéns), fazem corte do material vegetal fresco, com preferência por certas espécies vegetais que podem ser dos grupos das monocotiledôneas, dicotiledôneas ou ambas, atuando na desfolha desses vegetais (Borba et al., 2006). Podem utilizar tanto vegetação nativa, quanto espécies cultivadas pelo homem, sendo consideradas pragas agrícolas, por promoverem danos econômicos severos, especialmente em pastagens, cultivos de cana-de-açúcar, eucalipto e jardins ornamentais, durante o seu forrageio (Baccaro et al., 2015; Nickele et al., 2013).

Formigas do gênero *Acromyrmex* (34 espécies) estão amplamente distribuídas na região neotropical, e em todo o território brasileiro, apresentando forrageamento durante o ano todo (Grürzmacher et al., 2002). A diferenciação deste gênero morfológicamente de *Atta* é por possuírem quatro ou mais pares de espinhos visíveis na região dorsal do mesossoma, enquanto essa apresenta apenas três, além das operárias serem menores morfológicamente (Schneider, 2003).

O polimorfismo em *Acromyrmex* é menos evidente que em *Atta*, porém as operárias podem ser divididas em mínimas, médias e máximas. As mínimas são responsáveis pelo cultivo do jardim de fungo e do cuidado dos imaturos. As médias podem desempenhar as mesmas funções das mínimas e ainda forragear. As máximas realizam o forrageio e a defesa da colônia (Weber, 1966). *Acromyrmex heyeri* (Forel, 1899) é uma espécie de formiga cortadeira com distribuição restrita a América do Sul. Encontrada em pastagens e em bordas de fragmentos florestais em cultivos de trigo, soja e milho, é citada na literatura como praga de gramíneas (Barrera et al., 2015; Sarubbi & Ramírez, 2020).

O controle de insetos com organização eusocial, com colônias apresentando sobreposição de gerações, cuidado parental e divisão de castas, associado com hábito de corte, se torna difícil, uma vez que não basta eliminar a operária que está forrageando (Della Lucia et al., 2014). Assim como formas de evitar que a ação das formigas cortadeiras gerem grandes perdas, principalmente nas áreas agrícolas, comumente são empregados os métodos de controle químico, como o uso de iscas atrativas, largamente utilizados (Zanetti et al., 2003). Sendo preocupante, já que o Brasil é apontado como o maior consumidor de produtos químicos na agricultura, gerando resiliência de resíduos no solo e conseqüentemente a contaminação do ambiente (Fan et al., 2018).

Recentemente houve expressivo crescimento no incentivo em pesquisas e no uso de produtos que causem menores impactos ambientais, aumentando no consumo de produtos para o controle biológico (Fontes et al., 2020; Parra, 2014), sendo este definido como o uso de técnicas baseadas no controle com inimigos naturais (Escobar-Ramírez et al., 2019). No Brasil, segundo o Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA), o uso de produtos biológicos aumentou mais de 70% no ano de 2018, deixando o país entre os primeiros no uso de controles biológicos do mundo (MAPA, 2020).

O controle biológico ocorre naturalmente em qualquer ecossistema, porém o homem pode interferir, facilitando sua ação, através de um ou mais formas de manipulação dos inimigos naturais. Há três tipos de manipulação: por (i) importação, onde se introduz inimigos naturais de uma praga exótica (espécie invasora); (ii) manipulando o aumento da população de uma ou mais espécies de inimigos naturais que ocorrem no ambiente; e ainda no (iii) controle biológico conservativo, onde busca-se manejar os agroecossistemas com objetivo de preservar e aumentar as populações de inimigos naturais, sejam elas parasitoides, predadores ou patógenos (Fontes et al., 2020).

Desta forma, o uso de fungos entomopatogênicos pode ser uma alternativa para o controle biológico de formigas cortadeiras (Loureiro & Monteiro, 2005), assim como para o controle de artrópodes, como insetos e aracnídeos, é uma forma de manipulação com baixo impacto ambiental, que tem sido empregada no Brasil desde 1920, mostrando-se com baixo risco para a saúde humana e animal (Valadares-Inglis et al., 2020). Diversos trabalhos evidenciam o efeito de microrganismos no controle biológico como *Metarhizium anisopliae* contra as formigas de fogo *Solenopsis invicta* (Qiu et al., 2019), *Beauveria bassiana* contra formiga cortadeira (Folgarait et al., 2020), *Purpureocillium lilacinum* contra *Acromyrmex lundii* (Goffré & Folgarait, 2015).

A ordem Hypocreales abriga o maior número de espécies de fungos entomopatogênicos, com potencial de infecção a diversos grupos taxonômicos de insetos e aracnídeos, com registros de uso eficaz para o controle de formigas (Loureiro & Monteiro, 2005; Valadares-Inglis et al., 2020). Aqueles pertencentes ao gênero *Aspergillus* e *Metarhizium* são frequentemente encontrados no solo (Rodrigues et al., 2005), podendo ocasionar infecção em plantas e doenças em animais imunocomprometidos (Rodrigues et al., 2008).

Diversos estudos estão sendo realizados com os mais diversos organismos. No entanto diversas etapas são necessárias até a obtenção de um produto. Entre elas isolamento do organismo do ambiente, seleção de isolados eficientes no controle, otimização da produção de

confídios, testes a campo e testes dos efeitos destes organismos no solo e demais organismos presentes no ambiente (Unfer et al., 2019).

Porém, destaca-se que há produtos biológicos comercializados a base dos dois microrganismos testados neste estudo, a exemplo, Boveril® a base de *Beauveria bassiana* (CEPA ESALQ PL63 - Registro no MAPA 4902) para controle de *Tetranychus urticae*, *Gonipterus scutellatus*, *Hypothenemus hampei* e *Bemisia tabaci* e o Metarril®, a base de *Metarhizium anisopliae* (CEPA ESALQ E9 -Registro no MAPA 6605), para controle de *Mahanarva fimbriolata*, ambos os produtos são comercializados pela empresa Koppert Brasil (Koppert, 2020). No entanto estes microrganismos não são utilizados para o controle biológico de formigas.

Nesse contexto, o presente trabalho teve por objetivo avaliar a patogenicidade de isolados de *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuill, *Metarhizium anisopliae* var. *anisopliae* (Metsch.) em operárias de *A. heyeri*.

2. Metodologia

Este estudo trata-se de uma pesquisa experimental de caráter qualitativa, com obtenção de dados gerados em laboratório aos quais permitiram avaliar o grau de infecção de fungos entomopatogênicos no controle de *A. heyeri* (Hymenoptera: Formicidae) (Pereira et al., 2018).

2.1 Coleta dos insetos alvos

O material foi coletado em uma área de pastagem no Campus da Universidade Federal de Santa Maria (UFSM) localizado nas coordenadas 29°43' 32.21" S e 53° 45' 34.43" W. A área próxima do ninho estava com atividade intensa de forrageamento das formigas. Foram coletas cerca de 250 operárias de uma colônia. O material biológico foi obtido no horário das 14:00 às 15:00.

As operárias foram coletadas com pinças e colocadas em um recipiente esterilizado de 500 mL com tampa e encaminhadas para o laboratório. Para o procedimento de identificação do material, alguns exemplares foram separados para identificação, sendo realizada em microscópio espectroscópio com o auxílio da chave de identificação (Gonçalves, 1961) e desta forma, confirmado a identificação da espécie com a especialista Dr^a Mariane Aparecida Nickele da Universidade Federal do Paraná.

No laboratório, as operárias foram mantidas dentro do recipiente e para a manutenção da umidade, utilizou-se algodão úmido. Todos os materiais utilizados durante a coleta e manutenção do material biológico foram previamente esterilizados (Vermelho et al., 2006).

2.2 Procedência dos isolados de fungos entomopatogênicos

Isolados de *Beauveria bassiana*-IBCB66 e *Metarhizium anisopliae*-IBCB425, foram cedidos pelo Laboratório de Controle Biológico do Instituto de Campinas, SP (LCB/IB) e atualmente fazem parte de uma coleção de fungos do Laboratório de Biologia do Solo da Universidade Federal de Santa Maria (UFSM). O isolamento dos fungos foi realizado em solo, após a obtenção de uma cultura pura, os mesmos foram armazenados em meio BDA (batata-dextrose-ágar), de acordo com Alves (1998). Para este estudo, os isolados fúngicos foram cultivados em placas de Petri em meio de cultivo BDA e mantidos em câmeras de crescimento a 26 ± 2 °C, $60 \pm 2\%$ de Umidade Relativa sob fotoperíodo de 12 h por 14 dias, até a esporulação dos fungos.

2.3 Teste de infecção

A avaliação de infecção foi avaliada quanto a patogenicidade dos fungos entomopatogênicos. Para cada isolado, uma suspensão de conídios foi preparada com o acréscimo de 10 mL de solução salina estéril de NaCl a 0,85% e solução Tween[®] 80 a 0,1% (v/v) ao tubo de ensaio com as colônias desenvolvidas, sendo, em seguida, agitada em vortex por três minutos. As suspensões foram filtradas em algodão esterilizado e suas concentrações foram ajustadas por meio de diluições em série, em solução de Tween[®] 80 a 0,1% (v/v) procedendo-se à contagem direta dos conídios ao microscópio ótico, por meio da câmara de Neubauer para determinação das concentrações. Para cada isolado, uma alíquota de 5mL de suspensão a $1,0 \times 10^7$, $1,0 \times 10^8$, $1,0 \times 10^9$ conídios mL^{-1} foi pulverizada sobre cinco grupos de oito operárias, sendo utilizado um pulverizador comum de uso doméstico.

O tratamento testemunha recebeu 5 mL da solução de Tween[®] 80 a 0,1% (v/v). As operárias tratadas foram acondicionadas em placas de Petri previamente esterilizadas, mantidas com um algodão úmido, em condições ambientais de temperatura e umidade relativa de ar (27 ± 2 °C e $79 \pm 1\%$ de Umidade Relativa) no laboratório. Diariamente foram monitoradas. Para confirmar se a mortalidade das operárias foi ocasionada pelos fungos estudados, foi realizada a desinfecção das formigas em uma solução de hipoclorito a 1% (v/v),

enxaguadas três vezes em água destilada estéril e armazenadas em placas de Petri esterilizada (Vermelho et al., 2006). O material foi mantido em câmara úmida a $27 \pm 2^\circ\text{C}$, $60 \pm 2\%$ de umidade relativa e no escuro por 15 dias para verificar a extrusão do fungo.

A mortalidade ocorrida pelo fungo foi confirmada pela porcentagem de formigas que apresentaram a extrusão do fungo. O delineamento experimental foi inteiramente casualizado, com cinco repetições por tratamento, contendo oito operárias por repetição. A eficiência foi determinada através da mortalidade das formigas corrigidas utilizando a fórmula de Abbott (1925), descrita a seguir:

$$Mc(\%) = \frac{\%Mo - \%Mt}{100 - \%Mt} \times 100$$

Onde:

Mc= Mortalidade corrigida

Mo= Mortalidade observada

Mt= Mortalidade na testemunha

Os dados foram submetidos à análise de variância, sendo as médias separadas pelo teste de Tukey ($p \leq 0,05$). Todas as análises foram realizadas utilizando o software R versão 4.0.0 (R Development Core Team, 2020).

3. Resultados e Discussão

A mortalidade de formiga cortadeira *Acromyrmex heyeri* foi significativamente superior com a utilização do isolado de fungo *Beauveria bassiana* ocorrendo para todas as concentrações testadas (Tabela 1).

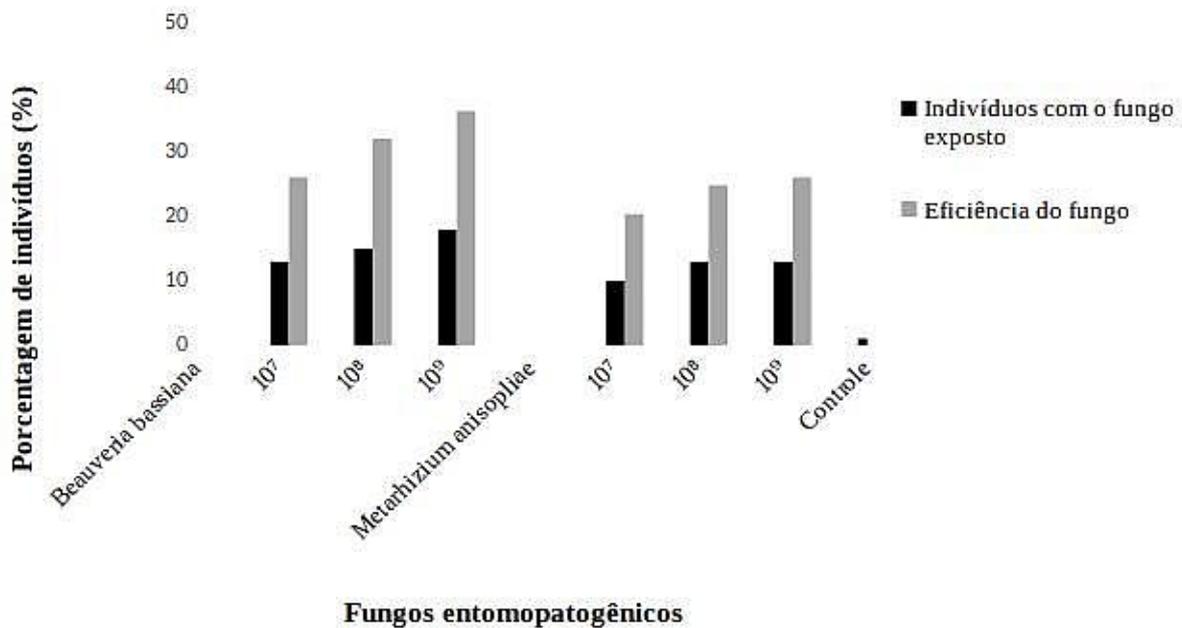
Tabela 1 - Mortalidade média referente ao bioensaio realizado com a espécie de formiga cortadeira *Acromyrmex heyeri* submetida a três concentrações dois fungos-entomopatogênicos. Período de incubação 15 dias (Temperatura: 27 ± 2 °C e umidade relativa $60 \pm 2\%$).

Isolados			
Concentrações	<i>Beauveria bassiana</i> - IBCB66	<i>Metarhizium anisopliae</i> - IBCB425	Controle
$1,0 \times 10^7$	27.6 ± 0.37 bA	23 ± 0.28 bB	3 cC
$1,0 \times 10^8$	34.2 ± 0.37 bA	27 ± 0.28 aB	3 cC
$1,0 \times 10^9$	38 ± 0.37 aA*	28 ± 0.28 aB	3 cC
CV**	4,01		

* Médias seguidas de letras minúsculas diferem na coluna e letras maiúsculas diferem na linha; *CV= Coeficiente de variação. Fonte: Autores.

Os resultados demonstram eficiência no controle do gênero *Acromyrmex*. Desta forma, tem-se aumento crescente de morte das operárias ocasionada pelos fungos entomopatogênicos trabalhados. De modo que se observa que *Beauveria bassiana*-IBCB66 nas concentrações $1,0 \times 10^9$ e $1,0 \times 10^8$ foram mais eficientes no controle em relação à *Metarhizium anisopliae*-IBCB425 e suas demais concentrações (Tabela 1, Figura 1).

Figura 1 - Porcentagem de operárias mortas das espécies de formiga cortadeira *Acromyrmex heyeri* pelos fungos entomopatogênicos *Beauveria bassiana* e *Metarhizium anisopliae* nas seguintes concentrações: $1,0 \times 10^7$, $1,0 \times 10^8$, $1,0 \times 10^9$.



Fonte: Autores (2020).

Com os aumentos crescentes de esporos dos fungos *Beauveria bassiana* e *Metarhizium anisopliae* na solução, temos maiores porcentagem de infecções geradas pelos fungos. No ensaio, ao terceiro dia de experimento as formigas em sua maioria, estavam mortas. Os protocolos de desinfecção foram seguidos para confirmação da esporulação dos fungos, observou-se que a mortalidade das operárias foi ocasionada pelos fungos inoculados, porém observou-se que em alguns indivíduos, a mortalidade foi ocasionada por outro motivo, como lesões que podem ter ocorrido durante a coleta das operárias e/ou durante a seleção dos indivíduos que formaram a unidade experimental.

Os fungos entomopatogênicos possuem um grande espectro de ação, podendo colonizar diversas espécies, podendo ser utilizados como agentes no controle biológico de espécies de insetos que causam danos economicamente importantes (Goffré et al., 2018; Schapovaloff et al., 2015). Estes microrganismos podem ser bioprospectados de diversos ambientes, como o solo, assim como do próprio inseto que se deseja o controle (Valicente, 2009).

Os fungos pertencentes aos gêneros *Metarhizium* e *Beauveria* estão entre os principais gêneros de fungos entomopatogênicos que atuam como um mecanismo regulador

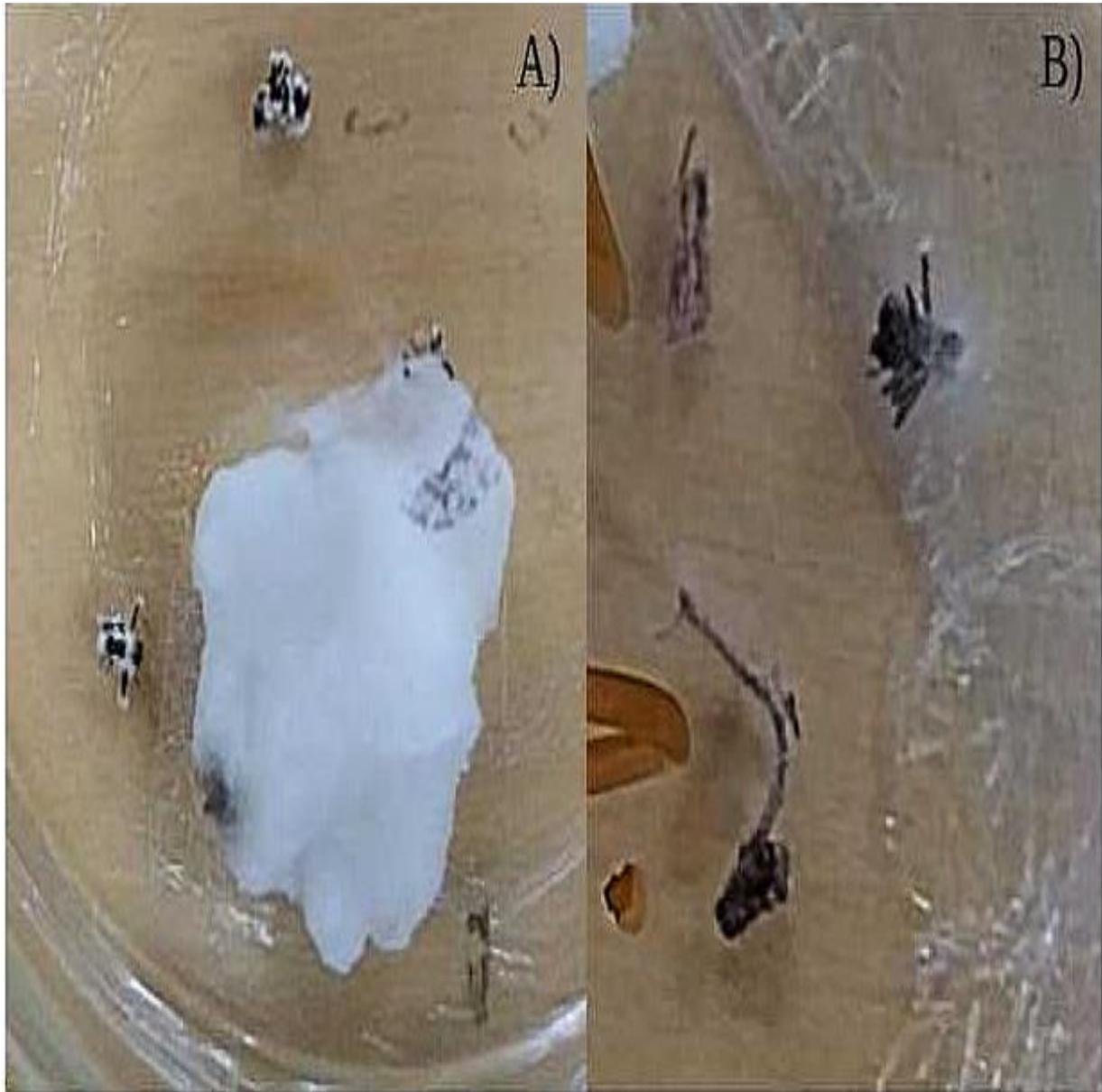
das populações de insetos nos ecossistemas (Castillo et al., 2012). Dentre esses, destacam-se *Metarhizium anisopliae* e *Beauveria bassiana*, consideradas as duas espécies fúngicas entomopatogênicas mais bem estudadas e têm demonstrado um grande potencial como agentes de controle microbiano, amplamente utilizadas em estudos no controle de pragas em diversas culturas agrícolas (Potrich et al., 2009).

O mecanismo de infecção no inseto pelo fungo pode ser direto ou pela ação de metabólitos secundários. Os metabólitos tóxicos incluem enzimas extracelulares, proteínas e compostos de baixo peso molecular, como as destruxinas, produzidas por *M. anisopliae* e *B. bassiana* (Fan et al., 2013; Mora et al., 2016). No entanto alguns fungos, não possuem toxinas, ocasionam a morte do inseto ao consumirem todos os seus nutrientes (Ramírez et al., 2014).

Esses fungos agem como parasitas, infectando seus hospedeiros (artrópodes em diferentes estágios de vida), o processo de infecção inicia-se com a adesão dos conídios ao corpo do inseto que se reidratará e germinar devido a estímulos químicos formado um tubo germinativo que na sua extremidade formará uma estrutura denominada de apressório que irá ocorrer a produção de enzimas hidrolíticas (protease, quitinase, lipase) que degradarão a cutícula e juntamente com a pressão mecânica ocorrerá a penetração das hifas no corpo do inseto até chegar na hemolinfa, onde o fungo irá absorver nutrientes do corpo do inseto, colonizando tecidos internos, afetando o sistema imunológico do hospedeiro, e secretando metabólitos secundários tóxicos, causando a morte do hospedeiro e posteriormente irá emergir conidióforos no cadáver mumificado ao qual será produzido novos conídios infecciosos que será disseminado através do vento, dando continuidade do ciclo de vida do patógeno (Hajek & St. Leger, 1994; Alves, 1998; Mascarín & Jaronski, 2016; Manninho et al., 2019).

Desta forma, após infectados pelo fungo, os insetos apresentam sintomas como manchas, paralisia e comportamentos alterados. O inseto cessa a sua alimentação, tornando-se debilitado, a morte dos mesmos ocorre em poucos dias devido a uma combinação de fatores como esgotamento dos nutrientes, toxinas fúngicas, obstrução física da circulação, invasão de órgãos, outros danos físicos em função do crescimento vegetativo do fungo (Figura 2) (Gimenes et al., 2014).

Figura 2 - Imagem das formigas *Acromyrmex heyeri* infectadas com os isolados dos fungos *Beauveria bassiana*-IBCB66 (A) e *Metarhizium anisopliae*- IBCB425 (B).



Fonte: Autores (2020).

A busca e seleção de fungos entomopatogênicos associados às formigas cortadeiras, bem como fungos antagonistas constituem-se como uma área de estudo que está crescendo. Principalmente pela maior preocupação da sociedade com o meio ambiente, contribuindo para a busca de produtos biológicos e com menor impacto ao ambiente. Desta maneira, estudos relacionados ao tema são fundamentais para fornecer subsídios de informações técnicas/científica, de isolados promissores para um futuro controle microbiano das espécies que ocasionam danos a cultura agrícolas.

4. Considerações Finais

Observou-se resultados positivos no controle da *A. heyeri*, sendo *Beauveria bassiana*-IBCB66 na concentração $1,0 \times 10^9$ o tratamento com maior infecção, podendo ser utilizada no controle biológico desta espécie de formiga cortadeira. Porém, essa linha de pesquisa ainda precisa ser melhor investigada, principalmente em campo para verificar se os resultados conseguem ser eficientes, devido terem outros fatores abióticos que podem prejudicar a viabilidade dos fungos entomopatogênicos, tais como temperatura, umidade, luz, radiação ultravioleta, assim como das condições nutricionais e suscetibilidade do hospedeiro.

Referências

- Abbott, W. S. (1925). A method of computing the effectiveness of an insecticide. *Journal of Economic Entomology*, (18), 265-267. <https://doi.org/10.1093/jee/18.2.265a>
- Alves, S. B. (1998). *Controle microbiano de insetos*. FEALQ Publishers, Piracicaba, Brasil, 1163 p.
- Baccaro, F. B., Feitosa, R. M., Fernández, F., Fernandes, I. O., Izzo, T. J., de Souza, J. L. P., & Solar, R. R. C. (2015). *Guia Para Os Gêneros De Formigas Do Brasil*. Zenodo. <https://doi.org/10.5281/ZENODO.32912>.
- Barrera, C. A., Buffa, L. M., & Valladares, G. (2015). Do leaf-cutting ants benefit from forest fragmentation? Insights from community and species-specific responses in a fragmented dry forest. *Insect Conservation and Diversity*, 8, 456-463. doi:10.1111/icad.12125.
- Bolton, B. (2020). *Formicidae*. Disponível em: <https://antcat.org/>.
- Borba, R. da S., Loeck, A. E., Bandeira, J. de M., Moraes, C. L., & Centenaro, E. D. (2006). Crescimento do fungo simbiote de formigas cortadeiras do gênero *Acromyrmex* em meios de cultura com diferentes extratos. *Ciência Rural*, 36(3), 725-730. <https://doi.org/10.1590/S0103-84782006000300002>.

Castillo, C. E., Cañizalez, L. M., Valera, R., Godoy, J. C., Guedez, C., Olivares, R., & Morillo, S. (2012). Caracterización morfológica de *Beauveria bassiana*, aislada de diferentes insectos en Trujillo - Venezuela. *Revista Academia*, 11 (23), 275-281. <http://www.saber.ul a.ve/handle/123456789/37631>.

Della Lucia, T. M., Gandra, L. C., & Guedes, R. N. (2014). Managing leaf-cutting ants: Peculiarities, trends and challenges: Managing leaf-cutting ants. *Pest Management Science*, 70(1), 14–23. <https://doi.org/10.1002/ps.3660>.

Escobar-Ramírez, S., Grassa, I., Armbricht, I., & Tscharrtk, T. (2019). Biological control of the coffee berry borer: Main natural enemies, control success, and landscape influence. *Biological Control*, 136, 103992. <https://doi.org/10.1016/j.biocontrol.2019.05.011>.

Fan, F. M., Mesquita, M. O., Santos, V. C. F. dos, Lucas, E. de O., Zanella, R., Prestes, O. D., & Bandeira, N. M. G. (2018). Resíduos de agrotóxicos em água e solo de município em região produtora de fumo no Rio Grande do Sul. *Saúde coletiva, desenvolvimento e (in) sustentabilidades no rural*, 20.

Fan, J., Xie, Y., Xue, J., & Liu, R. (2013). The effect of *Beauveria brongniartii* and its secondary metabolites on the detoxification enzymes of the pine caterpillar, *Dendrolimus tabulaeformis*. *Journal of Insect Science*, 13(44), 1-13.

Folgarait, P. J. (1998). Ant biodiversity and its relationship to ecosystem functioning: A review. *Biodiversity and Conservation*, 7(9), 1221–1244. <https://doi.org/10.1023/A:1008891901953>.

Folgarait, P. J., Goffré, D., & Osorio, A. G. (2020). *Beauveria bassiana* for the control of leafcutter ants: strain and host differences. *Biocontrol Science and Technology*, 30(9), 996-1005. <https://doi.org/10.1080/09583157.2020.1772199>.

Fontes, E. M. G., Pires, C.S.S., & Suji, E.R. (2020). *Estratégias de uso e histórico*. In Fontes, E. M.G., Valadares-Inglis, M.C (eds). – Brasília, DF : Embrapa. 21-44.

Gimenes, D. C., Alexandrino, T. D., Machado, A. C., & Varéa, G. D. S. (2014). Indução de Proteases de *Beauveria bassiana* por larvas de *Aedes aegypti* e cutícula de cigarras. *BBR - Biochemistry and Biotechnology Reports*, 3(1), 41. <https://doi.org/10.5433/2316-5200.2014v3n1p41>.

Goffré, D., & Folgarait, P. J. (2015). *Purpureocillium lilacinum*, potential agent for biological control of the leaf-cutting ant *Acromyrmex lundii*. *Journal of Invertebrate Pathology*, 130, 107-115. <https://doi.org/10.1016/j.jip.2015.07.008>.

Goffré, D., Cavallo, E. C., Cavalitto, S. F., & P. J. Folgarait. (2018). Selection and yield optimisation of a *Beauveria bassiana* isolate for the biological control of leaf cutter ants. *Biocontrol Science and Technology*, 28(7), 672-687. DOI: 10.1080/09583157.2018.1479730.

Gonçalves, C. R. (1961). O gênero *Acromyrmex* no Brasil (Hym. Formicidae). *Studia Entomologia*, 4, 113-180.

Grürzmacher, D. D., Loeck, A. E., & Medeiros, A. H. (2002). Ocorrência de formigas cortadeiras na região da depressão central do estado do rio grande do sul. *Ciência Rural*, 32(2), 185–190. <https://doi.org/10.1590/S0103-84782002000200001>.

Hajek, A. E., & St. Leger, R. J. (1994). Interactions Between Fungal Pathogens and Insect Hosts. *Annual Review of Entomology*, 39(1), 293–322. <https://doi.org/10.1146/annurev.en.39.010194.001453>.

Koppert. (2020). Produtos e soluções. Disponível em: <https://www.koppert.com.br/produtos-e-solucoes/>. Acesso em 28 de agosto de 2020.

Loureiro, E. de S., & Monteiro, A. C. (2005). ENTOMOPATOGÊNICOS A SOLDADOS DE *Atta sexdens sexdens* (Linnaeus). *Revista Árvore*, 29(4), 9.

Lucky, A., Trautwein, M. D., Guénard, B. S., Weiser, M. D., & Dunn, R. R. (2013). Tracing the Rise of Ants—Out of the Ground. *PLoS ONE*, 8(12), e84012. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0084012>.

- MAPA. (2020). Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Recuperado de <https://www.gov.br/agricultura/pt-br/assuntos/bioinsumos/producao-vegetal/produtos-fitosanitarios>.
- Macarin, G. M., & Jaronski, S. (2016). The production and uses of *Beauveria bassiana* as a microbial insecticide. *World Journal Microbiol Biotechnol.* (32), 177. <https://doi.org/10.1007/s11274-016-2131-3>
- Mannino, M. C., Huarte-Bonnet, C., Davyt-Colo, B., & Pedrini, N. (2019). Is the insect cuticle the only Entry Gate for Fungal Infection? Insights into Alternative Modes of Action of Entomopathogenic Fungi. *Journal of fungi*, 5(2), 33. <https://doi.org/10.3390/jof5020033>.
- Mora, M. A. E., Castilho, A. M. C., & Fraga, M. E. (2016). Fungos entomopatogenicos: enzimas, toxinas e fatores que afetam a diversidade. *Revista Brasileira de Produtos Agroindustriais*, 18(3), 335-349.
- Nickele, M. A., Pie, M. R., Reis Filho, W., & Penteado, S. do R. C. (2013). Formigas cultivadoras de fungos: Estado da arte e direcionamento para pesquisas futuras. *Pesquisa Florestal Brasileira*, 33(73), 53–72. <https://doi.org/10.4336/2013.pfb.33.73.403>.
- Parra, J. R. P. (2014). Biological Control in Brazil: an overview. *Scientia Agricola*, 71(5), 420-429.
- Pereira, A. S., Shitsuka, D. M, Parreira, F. J., & Shitsuka, R. (2018). Metodologia da pesquisa científica. [e-book]. Santa Maria. Ed. UAB/NTE/UFSM. Fonte: Autores (2020) https://repositorio.ufsm.br/bitstream/handle/1/15824/Lic_Computacao_Metodologia-Pesquisa-Cientifica.pdf?sequence=1.
- Potrich, M., Alves, L. F. A., HAAS, J., Silva, E. R. L., Daros, A., Pietrowski, V., & Neves, P. M. O. J. (2009). Seletividade de *Beauveria bassiana* e *Metarhizium anisopliae* a *Trichogramma pretiosum* Riley (Hymenoptera: Trichogrammatidae). *Neotropical Entomology*, 38(6), 822-826. <https://doi.org/10.1590/S1519-566X2009000600016>.

Qiu, H.-L., Fox, E. G. P., Qin, C.-S., Zhao, D.-Y., Yang, H., & Xu, Ji.-Z. (2019). Microcapsuled entomopathogenic fungus against fire ants, *Solenopsis invicta*. *Biological Control*, 134, 141-149. <https://doi.org/10.1016/j.biocontrol.2019.03.018>.

R Development Core Team. (2020). *R: A Language and Environment for Statistical Computing*. Recuperado de <http://www.R-project.org>.

Ramírez, H. G., Granja, A. Z., Aguila, E. T. D., & Cantoral, M. T. (2014). *Producción De Hongos Entomopatogenos*. 37.

Rodrigues, A., Bacci Jr, M., Mueller, U. G., Ortiz, A., & Pagnocca, F. C. (2008). Microfungal “weeds” in the leafcutter ant symbiosis. *Microbial Ecology*, 56(4), 604–614. <https://doi.org/10.1007/s00248-008-9380-0>.

Rodrigues, A., Pagnocca, F.C., Bacci, M., Hebling, M. J. A., Bueno, O. C., & Pfenning, L. H. (2005). Variability of non-mutualistic filamentous fungi associated with *Atta sexdens rubropilosa* nests. *Folia Microbiologica*, 50(5), 421-425. <https://doi.org/10.1007/BF02931424>.

Sarubbi, H. J., & Ramírez, M. B. (2020). Pest insects in natural and sown pastures of Paraguay. *Tropical Grasslands-Forrajes Tropicales*, 8(2), 158–161. [https://doi.org/10.17138/tgft\(8\)158-161](https://doi.org/10.17138/tgft(8)158-161).

Schapovaloff, M. E., Alves, L. F. A., Urrutia, M. I., & Lastra, C. C. L. (2015). Ocurrencia natural de hongos entomopatógenos en suelos cultivados con yerba mate (*Ilex paraguariensis* St. Hil.) en Misiones, Argentina. *Revista Argentina de Microbiología*, 47(2), 138-142. <https://doi.org/10.1016/j.ram.2015.03.005>.

Schneider, M. D. O. (2003). *Comportamento De Cuidado Da Prole Da Saúva-Limão Atta sexdens rubropilosa FOREL, 1908 (HYMENOPTERA, FORMICIDAE)* [Dissertação]. Universidade Estadual Paulista.

Unfer, R. K., Portela, V. O., Santana, N. A., Moro, L., Santos, Í. C. S., Castro, I. A. D., Freiberg, J. A., & Jacques, R. J. S. (2019). Métodos de preservação de fungos em laboratório. In C. A. D. Santos (Org.), *Grandes Temas Em Agronomia*. Uniedusul Editora.

Vermelho, A. B., Pereira, A. F., Coelho, R. R. R., & Souto-Pradrón, T. (2006). *Práticas de microbiologia*. Guanabára Koogan S.A. Rio de Janeiro.

Valadares-Inglis, M. C., Lopes, R. B., Faria, M. R. (2020). *Controles de artópodes-praga com fungos entomopatogênicos*. In Fontes, E. M. G., Valadares-Inglis, M. C (eds), Brasília, DF: Embrapa, 2020. 201-236.

Valicente, F. H. (2009). *Controle Biológico de pragas com entomopatógenos*. Informe Agropecuário, 30(251), 48-55.

Wagg, C., Bender, S. F., Widmer, F., & van der Heijden, M. G. A. (2014). Soil biodiversity and soil community composition determine ecosystem multifunctionality. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 111(14), 5266–5270. <https://doi.org/10.1073/pnas.1320054111>.

Weber, N. A. (1966). Fungus-growing ants: a symbiotic relationship exists between an insect and a plant, involving an effective culturing technique. *Science (New York, N.Y.)*, (153), 587–604.

Zanetti, R., Zanuncio, J. C., Mayhé-Nunes, A. J., Medeiros, A. G. B., & Souza-Silva, A. (2003). Combate sistemático de formigas-cortadeiras com iscas granuladas, em eucaliptais com cultivo mínimo. *Revista Árvore*, 27(3), 387–392. <https://doi.org/10.1590/S0100-67622003000300016>.

Porcentagem de contribuição de cada autor no manuscrito

Ísis Caroline Siqueira Santos- 25%

Isac Aires de Castro- 25%

Valéria Ortaça Portela- 25%

Emely Laiara Silva de Siqueira- 15%

Zaida Inês Antonioli- 10%