

LUIS EDUARDO PONTES STEFANELLI

**ESTUDO COMPARATIVO DOS INSETICIDAS SULFLURAMIDA E
INDOXACARBE PARA *Atta sexdens rubropilosa* Forel, 1908 (HYMENOPTERA:
FORMICIDAE)**

Botucatu

2019

LUIS EDUARDO PONTES STEFANELLI

**ESTUDO COMPARATIVO DOS INSETICIDAS SULFLURAMIDA E INDOXACARBE PARA
Atta sexdens rubropilosa Forel, 1908 (HYMENOPTERA: FORMICIDAE)**

Dissertação apresentada à Faculdade de Ciências Agronômicas da Unesp Campus de Botucatu, para obtenção do título de Mestre em Agronomia (Proteção de Plantas)

Orientador: Prof. Dr. Luiz Carlos Forti

Botucatu

2019

S816e Stefanelli, Luis Eduardo Pontes
Estudo comparativo dos inseticidas sulfluramida e
indoxacarbe para *Atta sexdens rubropilosa* Forel, 1908
(Hymenoptera: Formicidae) / Luis Eduardo Pontes Stefanelli. --
Botucatu, 2019
107 p. : il., tabs., fotos

Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual Paulista
(Unesp), Faculdade de Ciências Agrônômicas, Botucatu
Orientador: Luiz Carlos Forti

1. Formiga-cortadeira - Controle. 2. Inseticidas. 3.
Formiga-cortadeira - Comportamento. I. Título.

Sistema de geração automática de fichas catalográficas da Unesp. Biblioteca da
Faculdade de Ciências Agrônômicas, Botucatu. Dados fornecidos pelo autor(a).

Essa ficha não pode ser modificada.

CERTIFICADO DE APROVAÇÃO

TÍTULO DA DISSERTAÇÃO: ESTUDO COMPARATIVO DOS INSETICIDAS SULFLURAMIDA E INDOXACARBE PARA *Atta sexdens rubropilosa* Forel, 1908 (HYMENOPTERA: FORMICIDAE)

AUTOR: LUIS EDUARDO PONTES STEFANELLI

ORIENTADOR: LUIZ CARLOS FORTI

Aprovado como parte das exigências para obtenção do Título de Mestre em AGRONOMIA (PROTEÇÃO DE PLANTAS), pela Comissão Examinadora:



Prof. Dr. LUIZ CARLOS FORTI
Proteção Vegetal / Faculdade de Ciências Agronômicas de Botucatu - UNESP



Prof. Dr. ROBERTO DA SILVA CAMARGO
Entomologia Agrícola / UNOESTE



Pós-Doutoranda NADIA CALDATO
Proteção Vegetal / Faculdade de Ciências Agronômicas de Botucatu

Botucatu, 22 de fevereiro de 2019

À minha família, dedico

AGRADECIMENTOS

A Deus por proporcionar essa oportunidade de estudar, e cuidar da minha saúde física e mental;

Aos meus pais, Anderson e Joara, pelo amor e apoio em todas minhas jornadas, sem eles nada disso seria possível;

Ao meu irmão Thiago, também pelo companheirismo sendo um grande exemplo na minha vida;

À minha namorada Caroline, por toda paciência, amor, compreensão e carinho;

À Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho, Faculdade de Ciências Agrônomicas – Campus de Botucatu que tornou possível a realização desse projeto;

Ao meu orientador e professor Dr. Luiz Carlos Forti, por toda orientação, amizade, apoio, paciência, e conhecimento oferecidos durante o período do mestrado;

Aos Docentes do Programa de Pós-Graduação em Agronomia – Proteção de Plantas, e Seção de Pós-Graduação por toda a orientação, ensino e convivência;

Aos amigos e membros do LISP- Laboratório de Insetos Sociais Praga, que sempre incentivaram minhas pesquisas;

Aos amigos que fiz na cidade de Botucatu e de República pela amizade durante esses anos;

O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES) - Código de Financiamento 001, o qual sou muito grato pela concessão da bolsa de estudos.

“Existem muitas hipóteses em ciência que estão erradas. Isso é perfeitamente aceitável, elas são a abertura para achar as que estão certas”.

Carl Sagan

RESUMO

Este é um estudo comparativo que buscou descobrir a potencialidade da utilização do indoxacarbe no controle químico de formigas cortadeiras através de iscas formicidas. Desta forma, iscas tóxicas contendo corante traçador lipossolúvel foram oferecidas as colônias *Atta sexdens rubropilosa* sob condições de laboratório, com a finalidade de avaliar a proporção de operárias coradas por categoria de tamanho, a partir de uma estrutura morfológica específica, a glândula pós-faríngea (GPF). Para a confecção das iscas foram selecionados três diâmetros distintos, para avaliar a influência da granulometria nos mecanismos de contaminação, além disso foram utilizados dois ingredientes ativos (IA's): sulfluramida e indoxacarbe.

Os resultados mostraram que mais de 60% das operárias entraram em contato com o princípio ativo, em vista de que a glândula pós-faríngea apresentava o corante traçador nas primeiras 72 horas do contato com a isca tóxica. Os IA's acabaram não apresentando similaridade quanto à contaminação das operárias, provavelmente devido aos seus mecanismos de ação diferentes. Foram registrados 6 atos comportamentais de cada substrato processado (isca) e desta forma, conclui-se que o padrão de comportamento das operárias durante o crescimento do jardim de fungo foi o principal meio para a dispersão do ingrediente ativo dentro da colônia e que o tamanho da partícula exerce influência na dispersão do ingrediente ativo

.

Palavras-chave: Formigas Cortadeiras. Controle químico. Inseticidas.

ABSTRACT

This comparative study seeks to discover the potential of the use of indoxacarb in the chemical control of leaf cutting ants through formicide baits. In this way, toxic baits offered containing liposoluble tracer dye to colonies of *Atta sexdens rubropilosa* under laboratory conditions, in order to evaluate the proportion of workers stained by size category, from a specific morphological structure, the post-pharyngeal gland (PPG). Three different diameters selected to evaluate the influence of granulometry on contamination mechanisms. In addition, two active ingredients (IA's) used sulfluramide and indoxacarbe.

The results showed that more than 60% of the workers exposed to the active principle, since the post-pharyngeal gland presented the tracer dye in the first 72 hours of contact with the toxic bait. The IAs ended up not presenting similarity regarding the contamination of their workers, probably due to their different mechanisms of action. Six behavioral acts of each processed substrate (bait) recorded and, in this way, it concludes that the behavior pattern of the workers during fungus garden growth was the main means for the dispersion of the active ingredient inside the colony and that the size of the particle exerts influence on the dispersion of the active ingredient

Keywords: Leaf Cutting ants. Chemical control. Insecticides.

SUMÁRIO

INTRODUÇÃO GERAL	19
CAPÍTULO 1 - INFLUÊNCIA DO TAMANHO DE PARTÍCULA DA ISCA GRANULADA NO CONTROLE DE <i>Atta sexdens rubropilosa</i> Forel, 1908, Hymenoptera (Formicidae)	25
RESUMO.....	25
ABSTRACT	26
1.1 INTRODUÇÃO	27
1.2 MATERIAIS E MÉTODOS.....	30
1.2.1 Preparação das iscas	31
1.2.2 Delineamento experimental.....	33
1.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	35
1.3.1 Carregamento das iscas.....	49
1.3.2 Carregamento das folhas.....	50
1.3.3 Corte das folhas.....	50
1.3.4 Incorporação.....	52
1.3.5 Análise da glândula pós-faríngea.....	54
1.3.6 Sintomas de intoxicação.....	58
1.3.7 Fungos contaminantes.....	59
1.3.8 Mortalidade de formigas.....	60

1.4	CONCLUSÃO.....	62
	REFERÊNCIAS.....	63
	CAPÍTULO 2 - APLICAÇÃO DE ISCAS GRANULADAS COM MENORES CONCENTRAÇÕES DE INDOXACARBE PARA AVALIAR SUA POTENCIALIDADE NO CONTROLE DE FORMIGAS CORTADEIRAS.....	67
	RESUMO.....	67
	ABSTRACT	68
2.1	INTRODUÇÃO.....	69
2.2	MATERIAIS E MÉTODOS.....	71
2.2.1	Preparação das iscas	72
2.2.2	Delineamento experimental.....	73
2.2.3	Análise da glândula pós-faríngea.....	74
2.3	RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	75
2.3.1	Carregamento das iscas.....	83
2.3.2	Carregamento das folhas.....	83
2.3.3	Corte das folhas.....	84
2.3.4	Incorporação.....	86
2.3.5	Fungos contaminantes.....	87
2.3.6	Mortalidade de formigas.....	88
2.4	CONCLUSÃO.....	90
	REFERÊNCIAS.....	91

**CAPÍTULO 3 – ATIVIDADE FORMICIDA DO I.A INDOXACARBE EM
DIFERENTES CONCENTRAÇÕES PARA OPERÁRIAS DE *Atta sexdens***

<i>rubropilosa</i>	93
RESUMO.....	93
ABSTRACT.....	94
3.1 INTRODUÇÃO.....	95
3.2 MATERIAIS E MÉTODOS.....	96
3.2.1 Colônia estudada.....	96
3.2.2 Formulação e aplicação.....	96
3.2.3 Preparação e uso da isca pastosa com operárias de <i>A. sexdens</i>	97
3.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	98
3.4 CONCLUSÃO.....	100
REFERÊNCIAS.....	101
CONSIDERAÇÕES FINAIS	103
REFERÊNCIAS	105

INTRODUÇÃO GERAL

As formigas são organismos dominantes na natureza, além destes insetos desempenharem importantes papéis no fluxo energético e de nutrientes dos ecossistemas (REBULA, 2003). Essa função ecológica exercida é explicada principalmente pelas numerosas interações com as diversas espécies vegetais e animais do ambiente (DAVIDSON; McKEY, 1993).

Dentre todas as formigas, existem aquelas que possuem a capacidade de cultivar fungo (Formicidae: Myrmicinae) que pertencem à tribo Attini, que é composta por formigas com essa habilidade e capazes de utilizá-los como alimento (SILVA et al., 2003). Atualmente a tribo Attini compreende mais de 250 espécies catalogadas (SOSA-CALVO et al., 2013).

De todos os gêneros da tribo Attini, dos que apresentam grande destaque pode-se citar dois: *Atta* e *Acromyrmex*, que são as formigas cortadeiras de folhas.

As formigas cortadeiras são reconhecidas por cortar folhas para o crescimento do fungo simbiote, base da sua nutrição (WEBER, 1972). Pode-se dizer que em quase sua totalidade, o fungo que realiza a relação com mutualística com a tribo Attini pertence a dois gêneros – *Leucoagaricus* e *Leucocoprinus* (Agaricales: Basidiomycota) (DELLA LUCIA, 2011).

Além das folhas, estes insetos podem cortar e carregar outras partes vegetais das plantas, como caules e flores, que servirão de substrato para o fungo (MUELLER, 2002).

Durante a etapa do processamento do material vegetal coletado, as operárias da colônia se envolvem em uma série de comportamentos característicos e sequenciais (DINIZ; BUENO, 2009). Dentre alguns atos comportamentais realizados dentro do ninho podemos citar o fracionamento do substrato em fragmentos cada vez mais diminutos e sua limpeza num processo de raspagem das ceras da epicutícula das folhas (QUINLAN; CHERRETT, 1978), dentre outras atividades também pode-se citar a deposição de hifas na esponja fúngica (ANDRADE et al., 2002), que vai promover a expansão do fungo.

A relevância dos gêneros *Atta* e *Acromyrmex* se dá principalmente pela sua grande distribuição pelo território brasileiro e intensa atividade de forrageamento em

todo período anual (HERNANDEZ; JAFFÉ, 1995) a sua importância é principalmente do ponto de vista econômico, uma vez que esses dois gêneros constituem as principais pragas em cultivos de *Eucalyptus* e *Pinus* (ZANUNCIO et al., 2016), além disso podem atacar diversas culturas agrícolas e áreas de pastagens, ocasionando assim consideráveis perdas de rentabilidade em outros sistemas agrícolas do agronegócio. A intensa desfolha pode causar problemas como a menor altura e diâmetro do caule das plantas, além de outras situações dentre delas o replantio, maior incidência a suscetibilidade à doenças e etc.

Por ser considerada uma praga potencial nos sistemas de silviculturas e representar bem este grupo de insetos desfolhadores, o gênero *Atta* tem sido frequentemente utilizado como modelo de estudo no desenvolvimento de novas substâncias com características formicidas (NAGAMOTO et al., 2004), outra característica que facilita as pesquisas com o gênero *Atta* é a possibilidade da manutenção e crescimento das colônias em condições de laboratório, permitindo a realização de um grande número de testes em condições controladas. A prática de alguns estudos laboratoriais específicos visa reduzir assim as perdas econômicas causadas pela atividade forrageira destes inseto-praga, em vista de que recorrentes desfolhas causadas por formigas cortadeiras acabam comprometendo significativamente a produção e rentabilidade do empreendimento, podendo gerar a inviabilidade econômica de áreas com elevadas densidades de ninhos (MATRANGOLO et al., 2010).

Desta forma, devido ao intenso volume de material vegetal coletado por esses insetos, os impactos gerados nos ecossistemas são significativos, principalmente em ambientes onde estão presentes os sistemas de produção de alimentos ou madeira. Este tipo situação, acaba gerando grandes esforços de pesquisadores para a elaboração de estratégias e produtos efetivos para controle desses insetos.

Dentre esses produtos, inseticidas com propriedades formicidas têm sido desenvolvidos para serem utilizados na forma de isca granulada, pois é esta é a principal técnica de controle que tem demonstrado eficiência na redução de danos causados pelas formigas cortadeiras (FORTI et al., 2007).

Já foram utilizados muitos ingredientes ativos nas iscas formicidas como: sulfluramida, fipronil, deltametrina e fenitrothion. Nos dias de hoje, a indústria de iscas

formicidas utiliza em sua grande maioria, o ingrediente ativo à base de sulfluramida nas suas formulações, no entanto existem exceções. O uso de iscas tóxicas granuladas, representam atualmente o principal método de controle destes insetos-praga. Além de apresentar excelente controle, as iscas formicidas granuladas representam o único método que apresenta viabilidade técnica, econômica e operacional no controle de formigas cortadeiras (BRITTO et al., 2016), em vista de que outros métodos de controle como a termonebulização, onde o controle é realizado através da saturação das colônias pela fumaça, demonstra-se uma estratégia apenas complementar e extremamente pontual, além de existirem desvantagens do ponto de vista econômico e operacional, pois exige alto custo de manutenção do equipamento, mão de obra qualificada e alto risco de intoxicação ao trabalhador devido à grande exposição ao produto (BRITTO et al., 2016). A sulfluramida é entre os princípios ativos disponíveis o único que apresenta todas as características necessárias para o bom funcionamento como isca tóxica (DELLA LUCIA et al., 2014)

As iscas tóxicas granuladas utilizadas no controle, são compostas por uma mistura de um substrato atrativo com um princípio ativo, formuladas em pellets. Geralmente o substrato empregado a polpa cítrica desidratada, mas podem ser utilizados outros materiais como milho, farinha de trigo, melaço de cana, entre outros (BOARETTO; FORTI, 1997).

Em relação aos ingredientes ativos, nota-se que os de ação retardada são eficientes (FORTI et al., 1998), e o desenvolvimento da isca formicida ideal deve preencher os seguintes requisitos: os princípios ativos devem ser letais em pequenas concentrações e não exterminar rapidamente as formigas em concentrações elevadas, para que desta forma exista um tempo para a disseminação do produto; ser um inseticida que atue por ingestão, com ação lenta, com pouca ou nenhuma ação de contato; não ser repelente; facilmente difundido pelas operárias; rápida degradação e baixa de baixa toxicidade para vertebrados e ambientalmente aceito (NAGAMOTO et al., 1998; BRITTO et al., 2016).

As iscas tóxicas podem ser aplicadas a granel (sem a utilização das embalagens) ou em pequenos recipientes, conhecidos porta-iscas (PIs) ou micro-porta-iscas (MIPIs) de forma localizada, e/ou de forma sistemática na área onde estes

insetos estão atuando. O controle com as iscas tóxicas granuladas apresenta algumas vantagens como: facilidade na aplicação, baixo risco de contaminação ao aplicador e controle eficiente de colônias adultas. Como desvantagens existe a impossibilidade de aplicação em períodos chuvosos e principalmente em solos úmidos (CRUZ et al., 1984), em decorrência do processo de hidratação das iscas.

Considerando todos os prós e contras da sua utilização, formicidas formulados em isca granulada têm sido a forma mais recorrente de controle utilizadas pelos produtores.

Diante desta situação, é desejável que novos ingredientes ativos sejam desenvolvidos e produzidos em escala comercial para a substituição da sulfluramida, pelos centros de pesquisa e empresas que devem buscar novos caminhos para garantir menor dependência deste ingrediente ativo.

Principalmente pelas últimas questões ambientais recorrentes este ativo, envolvendo a substância precursora na fabricação da sulfluramida (LÖFSTEDT GILLJAM et al., 2015), e o NIP (National Implementation Plan – Plano Nacional de Implementação), da Convenção de Estocolmo de 2015, incluiu esse composto no anexo B da mesma, em relação aos poluentes orgânicos persistentes, com perspectivas de eliminação de seu uso (NIP, 2015a), e em decorrência da possibilidade do uso da sulfluramida representar uma potencial fonte de toxicidade para o ambiente fez com que pesquisadores e outros colaboradores se reunissem seus esforços para avaliar seu comportamento e impacto nos ecossistemas, além disso o NIP deve apresentar as estratégias e perspectivas de novos métodos de controle para formigas cortadeiras (NIP, 2015b). No estado de São Paulo o órgão que auxilia no monitoramento dos POPs no ar e águas superficiais e subterrâneas é a CETESB (Companhia Ambiental do Estado de São Paulo).

No entanto, o FSC (Forest Stewardship Council – Conselho de Manejo Florestal) periodicamente publica uma lista considerando quais são esses pesticidas e seus riscos ao ambiente e à saúde humana. Nessa última lista publicada, dentre as 23 substâncias listadas como Poluentes Orgânicos Persistentes (POP), estavam inclusos deltametrina, fenitrothion, fipronil e sulfluramida, como pesticidas “altamente perigosos” (FSC, 2017) sendo estes os ingredientes ativos mais empregados no controle de térmitas e formigas cortadeiras pelas empresas florestais,

Apesar de todo este cenário contrário, o FSC também sinalizou de maneira positiva na questão envolvendo a apelação dos pedidos referentes da renovação da derrogação para continuidade de utilização de sulfluramida, fipronil e deltametrina para o controle de formigas cortadeiras em cultivos florestais certificados no Brasil, renovando assim a autorização de seu uso na cadeia florestal certificada pela FSC no país para o período de 2016 a 2021. Desta forma, as áreas certificadas continuarão com a utilização destes inseticidas (ZANUNCIO et al., 2016). A autorização de uso se dá em caráter extraordinário e vem acompanhada do compromisso do setor florestal de banir sua utilização nas áreas certificadas num prazo total máximo de 5 anos, entretanto, essa é a segunda derroga destes ativos, uma vez que a primeira ocorreu no ano de 2012, desta forma a sulfluramida foi mantida como uma “exceção específica” para a produção de iscas formicidas no controle das formigas cortadeiras no território brasileiro.

Percebe-se que o FSC é um selo de certificação mundialmente reconhecido e a adoção do Brasil nas condições impostas por este órgão certificador, representa uma garantia de origem dos produtos além de compromissos com a conservação ambiental. As medidas e critérios adotados pela indústria florestal brasileira levam em consideração principalmente as exigências relacionadas ao mercado externo, e a adesão de algumas normas nos processos produtivos representa parte fundamental para a manutenção dos parceiros comerciais do mercado internacional. Por existir essa grande pressão para as empresas florestais banirem a utilização da sulfluramida nos processos produtivos, como consequência, existe a urgência do desenvolvimento de iscas formicidas com substâncias alternativas, para a substituição do princípio ativo atualmente utilizado.

O princípio ativo que seja um candidato à essa substituição deve apresentar similaridade nos quesitos de eficácia, ou até um desempenho superior à sulfluramida e menos agressivo ao ambiente. Outro fator relevante é a concentração, pois a quantidade de produto aplicado também deve ser ambientalmente segura. Dessa maneira, alternativas de controle que permitam reduzir as concentrações de produto utilizado são sempre importantes e extremamente relevantes do ponto de vista para o aumento das possibilidades de sucesso de controle e até no manejo de pragas. Nesse contexto, estudos relacionados com a prospecção de novos ativos devem ser

incentivados. Porém, é extremamente difícil, pode levar muito tempo para se desenvolver novos ingredientes ativos ou produtos que sejam altamente viáveis e eficientes no controle de formigas cortadeiras, a ponto de ser possível substituir a sulfluramida de forma parcial ou total.

O ativo utilizado na formulação da isca deve apresentar uma rota de contaminação semelhante a isca formicida à base de sulfluramida, que tem sua eficiência comprovada. Conhecer as rotas de contaminação e dispersão do inseticida na colônia são algumas das premissas para avaliar o desempenho do ativo. Desta forma, o principal objetivo dessa dissertação foi realizar e descrever um estudo comparativo através de dois ingredientes ativos: sulfluramida e indoxacarbe, avaliando os atos comportamentais executados pelas operárias de *A. sexdens rubropilosa* durante a preparação e incorporação de substratos com diferentes diâmetros de partícula e estudar possíveis interferências de ingredientes ativos na glândula pós-faríngea nas diferentes castas de formigas cortadeiras. A escolha do indoxacarbe se deu pelo potencial inseticida já relatado dessa molécula e para servir como substituição ao formicida padrão atualmente utilizado pela indústria, neste caso a prospecção deste ativo irá avaliar a sua potencialidade de utilização, para desta forma, gerar menor dependência da utilização da sulfluramida, representando assim uma nova perspectiva no controle destes insetos, no intuito de encontrar novas alternativas de controle, para melhorar a eficiência dos produtos formulados e sua utilização nos setores agroflorestais.

Para tanto, o presente estudo abordou algumas hipóteses que foram propostas e testadas de acordo com cada capítulo dessa dissertação: i). Sulfluramida e indoxacarbe apresentam a mesma distribuição na colônia em termos de contaminação? ii) As dimensões da isca interferem na contaminação da operária? iii) O tamanho da isca envolve influência sobre a mortalidade?

CAPÍTULO 1: INFLUÊNCIA DO DIÂMETRO DE PARTÍCULA DA ISCA GRANULADA NO CONTROLE DE *Atta sexdens rubropilosa* Forel 1908, HYMENOPTERA (FORMICIDAE)

RESUMO

Este estudo buscou conhecer a interferência do diâmetro de partícula no controle de formigas cortadeiras da espécie *Atta sexdens rubropilosa*, e a partir dos diferentes diâmetros utilizados na confecção das iscas tóxicas granuladas, conhecer um pouco mais sobre a contaminação das operárias. A hipótese abordada questiona se o tamanho da partícula pode influenciar a eficiência do controle. Neste caso, verificou-se se o aumento ou diminuição do tamanho de partículas das iscas formicidas poderia apresentar um desempenho melhor que o tamanho comercial atualmente adotado pela indústria. Foram utilizados três diâmetros para a confecção das iscas sendo eles: 1,5 mm; 2,0 mm e 3,0 mm. Para verificar as rotas de contaminação foi adicionado na formulação, um corante traçador lipossolúvel (Sudam III, 5%), afim de avaliar a proporção de operárias coradas de acordo com a cápsula cefálica, e suas estruturas morfológicas internas coradas, neste estudo em particular, a glândula pós-faríngea. As iscas foram fornecidas para as colônias em condições de laboratório. Foram utilizados oito tratamentos: controle (2,0 mm); controle + corante (2,0mm); sulfluramida [0,3%] (1,5 mm; 2,0 mm e 3,0 mm) e indoxacarbe [0,15%] (1,5 mm; 2,0mm e 3,0 mm). Os tratamentos foram divididos em três grupos: i) controle; ii) sulfluramida [0,3%], (ação retardada) e iii) indoxacarbe [0,15%] (ação rápida), essa separação foi feita de acordo com o tempo de ação tóxica. As iscas granuladas foram aplicadas na dose de 1,5 g /colônia. Para cada grupo de tratamento avaliado foram retiradas 200 operárias das colônias para dissecação e observação se estavam com a glândula corada. Conclui-se que o diâmetro da isca formicida à base de indoxacarbe influenciou na incorporação do substrato e o mecanismo de ação do inseticida também influencia na dispersão dos ingredientes ativos dentro da colônia.

Palavras-chave: iscas tóxicas. diâmetro. formigas-cortadeiras. ingrediente ativo

CHAPTER 1: INFLUENCE OF THE ISCA DIAMETER GRANULATED IN THE CONTROL OF *Atta sexdens rubropilosa* Forel 1908, HYMENOPTERA (FORMICIDAE)

ABSTRACT

This study seeks to know the interference of particle diameter in the control of cuttings of the species *Atta sexdens rubropilosa*, and from the different diameters used in the manufacture of the granulated toxic baits, to know a little more about the contamination of the workers. The hypothesis addressed questions whether the particle size can influence the efficiency of the control. In this case, verifying whether the increase or decrease in particle size of the formicidal baits could perform better than the commercial size currently adopted by the industry. Three diameters used to make baits: 1.5 mm; 2.0 mm and 3.0 mm. A liposoluble tracer dye (Sudam III, 5%) added in the formulation to verify the contamination routes in order to evaluate the proportion of workers dyed according to the cephalic capsule and their internal morphological structures stained, in this particular study, the post-pharyngeal gland. The baits supplied to the colonies under laboratory conditions. Eight treatments were used: control (2.0 mm); control + dye (2.0mm); sulfluramide [0.3%] (1.5 mm, 2.0 mm and 3.0 mm) and indoxacarb [0.15%] (1.5 mm, 2.0 mm and 3.0 mm). The treatments divided into three groups: i) control; ii) sulfluramide [0.3%], (delayed action) and iii) indoxacarbe [0.15%] (fast acting), this separation was done according to the time of toxic action. The granulated baits applied at a dose of 1.5 g / colony. For each treatment group evaluated, 200 workers removed from the colonies for dissection and observation from the dye. It concludes that the diameter of the indoxacarb-based formicide bait influenced the incorporation of the substrate and the mechanism of action of the insecticide influences the dispersion of the active ingredients within the colony.

Keywords: toxic baits. diameter. leaf cutting ants. active ingredient

1.1 INTRODUÇÃO

A descoberta de novos ingredientes ativos para o controle de insetos-praga com diferentes mecanismos de ação é fundamental para o sucesso na agricultura, principalmente para diminuir a pressão de seleção dos inseticidas e o surgimento de populações altamente resistentes. A utilização de organofosforados e carbamatos sempre foi muito empregada nas atividades agrícolas, no entanto a utilização dos mesmos princípios ativos por um longo período de tempo pode gerar problemas nos agroecossistemas, além de fatores como a toxicidade à mamíferos e organismos não-alvo. Em se tratando de Brasil, a grande incidência de pragas nos sistemas de cultivo agrícolas e florestais, exige a adoção por parte dos produtores de estratégias e a escolha ideal do método de controle destes insetos que podem causar grandes danos econômicos. Dentes as principais pragas agrícolas e florestais, as formigas cortadeiras ocupam lugar de destaque, principalmente as do gênero *Atta*, conhecidas popularmente com “saúvas” e as do gênero *Acromyrmex*, conhecidas como “quenquéns”. Para realizar o seu controle efetivo o método mais indicado é o químico. Nos dias atuais o principal método de controle destes insetos-praga é realizado através do uso de iscas tóxicas granuladas, a escolha por este método de controle com iscas formicidas ocorre por fatores como maior praticidade, mais econômicas e eficientes (DELLA LUCIA, 2003). Neste método, as iscas são formuladas no formato de pellets e consistem em uma mistura de um substrato atrativo, geralmente polpa cítrica desidratada que serve de veículo para o ingrediente ativo que comumente é dissolvido em óleo de soja (ROBINSON, 1979).

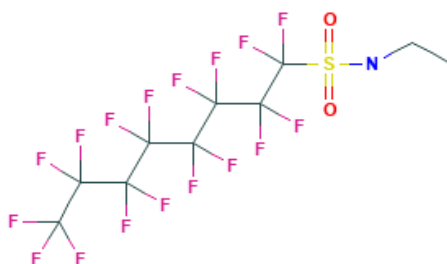
Além de matar as formigas as iscas tóxicas também devem possuir características físico-químicas capazes de atrair as formigas, para facilitar o processo de carregamento desse tipo de substrato para o interior do ninho. Maior rapidez no carregamento de partículas das iscas provavelmente implica na diminuição do tempo de exposição das mesmas as condições ambientais adversas como mudanças climáticas, inimigos naturais ou outros insetos que possam competir pelos mesmos recursos na área. (LIMA et al., 2003). A otimização do carregamento das iscas pelas formigas cortadeiras também acaba diminuindo a probabilidade de exposição e riscos de intoxicação resultantes do princípio ativo presente na formulação da isca, aos animais da fauna brasileira como pássaros e roedores e outros organismos não-alvos

presentes nos diversos ecossistemas. Outros fatores relevantes à aceitação das iscas tóxicas granuladas são referentes a dois aspectos: massa e diâmetro, neste caso a massa determina a concentração do ativo e as dimensões da isca ser adequadas para otimizar o carregamento e processamento dentro do ninho. Como já dito anteriormente a busca por novos produtos químicos que proporcionem menor persistência ambiental, acabam representando uma pressão feita pelos órgãos ambientais, sociedade, parceiros comerciais e meio ambiente, visto que muitos recursos do planeta são finitos. Neste presente estudo abordou-se a utilização de dois ativos, a sulfluramida e o indoxacarbe.

Sulfluramida

A sulfluramida é um inseticida que pertence ao grupo químico sulfonamida fluoralifática, número de registro CAS: 4151-50-2 e com o nome químico IUPAC (International Union of Pure and Applied Chemistry): N-etilperfluor-octano-1-sulfonamida, por fim, sua estrutura é descrita na Figura 1.

Figura 1 - Estrutura molecular da sulfluramida.

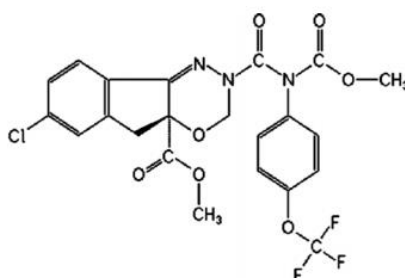


Fonte: PUBCHEM

Este ingrediente ativo pertence à classe de inseticidas de ação retardada (SCHNELLMAN;MANNING, 1990), e no caso das formigas cortadeiras, a ingestão deste inseticida afeta o processo de fosforilação oxidativa, cessando a síntese de ATP (NAGAMOTO, 1998). É atualmente o ativo mais utilizado na formulação de iscas formicidas, por esta razão este ingrediente ativo foi selecionado para este estudo.

Indoxacarbe

O indoxacarbe é um inseticida pertencente ao grupo químico oxadiazina, com o nome químico IUPAC: metil (S)-N-[7-cloro-2,3,4a,5-tetrahydro-4a- (metoxicarbonil) indeno[1,2-e][1,3,4]oxadiazina-2-ilcarbonil]-4'-(trifluorometoxi) carbanilato, conforme a Figura 2. Seu número de registro é: N° CAS: 173584-44-6.

Figura 2 - Estrutura molecular Indoxacarbe

Fonte: GHANIN; ISHAAYA (2011).

Uma qualidade distinta e determinante deste composto é sua forma de ativação, em que ocorre o bloqueio dos canais de sódio por uma pequena oscilação de voltagem a partir da síntese de um metabólito denominado de N-decarbometoxilato. De acordo com Wing et al. (2000), é um inseticida altamente ativo, de amplo espectro para os insetos de importância agrícola, principalmente nas ordens Lepidoptera, Coleoptera e Hemiptera.

A descoberta de indoxacarbe só foi possível com o aperfeiçoamento da pirazolina para ser utilizada como inseticida eficiente e seguro para organismos não-alvos e ao ambiente. As variações no núcleo da pirazolina levaram à descoberta de que as oxadiazinas relacionadas estruturalmente também apresentavam grande potencial inseticida. A otimização das oxazaninas gerou a descrição do indoxacarbe racêmico (McCANN et al., 2001). O indoxacarbe apresenta o mesmo mecanismo de ação da pirazolina, afetando as células neurais.

As pirazolininas foram relatadas por Salgado (1990), sendo como uma molécula com propriedades inseticidas, sendo o mecanismo de ação a possibilidade de atuar no bloqueio dos canais de sódio dos neurônios, então alguns pesquisadores interessados nas modificações dessa estrutura molecular da pirazolina, conseguiram obter os compostos oxadiazina e indoxacarbe.

Como o objetivo das indústrias e centros de pesquisa atualmente é desenvolver novas substâncias para o controle de insetos capazes de controlar populações resistentes em baixas concentrações, altamente eficientes e seguros para o homem e meio ambiente, a escolha do ingrediente ativo indoxacarbe neste estudo, está em convergência com a busca de novos ativos principalmente para seu emprego no controle de formigas.

1.2 MATERIAIS E MÉTODOS

As colônias usadas neste experimento foram coletadas na cidade de Botucatu e armazenadas no Laboratório de Insetos Sociais-Praga (LISP), integrante do Departamento de Produção Vegetal da Faculdade de Ciências Agronômicas - UNESP, Botucatu-SP.

Para as observações, 40 colônias com volume aproximado de 1000 mL de esponja fúngica foram utilizadas. As colônias estudadas foram armazenadas em recipientes cilíndricos de plástico transparente e mantidas a uma temperatura de 22 ± 2 °C e umidade relativa em torno de $70 \pm 10\%$.

Para manutenção da umidade do jardim de fungo, os recipientes de armazenamento continham uma camada de 1,0 cm de gesso na sua base inferior; foi necessário furar dois lados opostos dos recipientes (diâmetro do furo = 1,8 cm) para realizar as conexões com os compartimentos referentes à arena de forrageamento e descarte de resíduos. Esses dois compartimentos, eram compostos por recipientes plásticos de 250 mL e foram conectados à colônia utilizando um tubo plástico (comprimento total = 30 cm).

É importante neste caso que existam recipientes distintos para fornecimento do substrato (folha ou isca) e resíduos (formigas mortas, substratos contaminados e etc). Como substrato vegetal para manutenção da esponja fúngica, utilizou-se *Acalypha* sp. Para as avaliações, as castas das formigas foram definidas de acordo com aquela proposta em Wilson, (1980), onde os indivíduos são classificados de acordo com o tamanho da cápsula cefálica. As observações foram baseadas no comportamento das jardineiras (largura da cabeça entre 0,8 e 1,2mm) e operárias generalistas (largura da cabeça entre 1,3 e 1,6 mm), que foram categorizadas como pequenas e médias respectivamente.

O sistema de observação seguiu como uma proposta adaptada de escaneamento descrito por Martin e Bateson, (1986), em que um grupo de indivíduos é analisado rapidamente e o comportamento de cada um deles é registrado. As observações foram realizadas em intervalos regulares de vinte minutos.

Os comportamentos realizados pelas operárias durante o crescimento da esponja fúngica foram categorizados como: Onde: (C1) transporte do pellet para o jardim de fungo; (C2) segurar o pellet; (C3) lambe o pellet; (C4) repicar o pellet em

fragmentos menores; (C5) incorporação no jardim de fungo; (C6) deposição de hifas sobre fragmentos incorporados. Esses comportamentos foram quantificados pela frequência das operárias envolvidas em cada um deles.

Para verificação da normalidade dos dados foi realizada uma análise estatística de Shapiro-Wilk, teste W, foi conduzida de forma preliminar. Como a análise não identificou uma normalidade, os dados comportamentais foram submetidos a um teste não paramétrico – neste caso foi aplicado um teste de Kruskal-Wallis - e, se o índice de significância fosse alcançado, cada grupo seria comparado pelo pós-teste de Student-Newman-Keuls, com 5% de significância.

1.2.1 Preparação das iscas

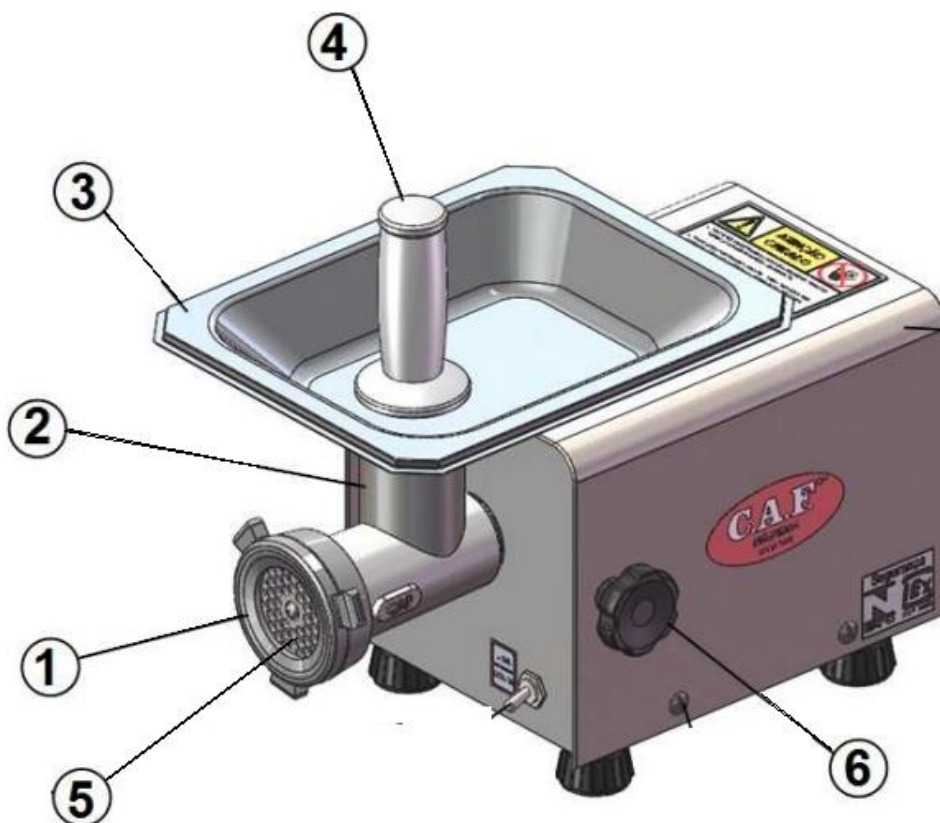
As iscas foram formuladas realizando uma metodologia adaptada de Boaretto (2000). O substrato atrativo utilizado foi o pó de polpa cítrica, também optou-se pelo óleo de soja na composição da isca para a obtenção de um produto de características similares à comercial, seguindo a premissa, quanto à composição e a forma peletizada, neste caso a formulação da isca deveria ter um aspecto muito próximo da qualidade industrial, para o estudo ter relevância e potencialidade de ser utilizado e replicado em escala comercial futuramente. A polpa cítrica foi seca em forno a 50 ° C por um período de 24 h, depois moída, colocada em peneira de malha fina. As iscas foram preparadas seguindo os procedimentos de pesagem dos materiais, mistura manual até a homogeneização, em proporções semelhantes às iscas comerciais de tóxicas. Foram feitas iscas com corante e sem ingrediente ativo além do tratamento controle que foi representado pela ausência de corante e ingrediente ativo.

Sendo o controle composto por: 80% de polpa cítrica em pó; 15% de carboximetilcelulose (CMC) e 5% de óleo de soja. O grupo controle mais adição do corante traçador: 75% de polpa cítrica em pó; 15% de CMC; 5% do Sudam III (Sigma Aldrich); e 5% de óleo de soja, este tratamento foi realizado para verificar se a presença do corante poderia de alguma forma interferir na mortalidade dos insetos. As últimas formulações das iscas foram utilizando: 74,7% de polpa cítrica em pó; 15 % de CMC; 5 % de óleo de soja; 5% do Sudam III (Sigma Aldrich); e 0,3% de n-etil-perfluoro-octana-sulfonamida (ingrediente ativo - IA), e finalmente a formulação para o indoxacarbe que era composta por: 74,85% de polpa cítrica em pó; 15 % de CMC; 5

% de óleo de soja; 5% do Sudam III Red (Vetec); e 0,15% de IA. Para facilitar a mistura foi adicionada água destilada até o material apresentar uma consistência pastosa.

Depois que todos esses ingredientes foram misturados, a solução pastosa foi colocada em um picador de carne modelo CAF 5 INOX (Figura 3), com as seguintes características técnicas: motor (1/4 cv) e dimensões: 370 mm de comprimento, 220 mm de largura e 245 mm de altura.

Figura 3. Modelo Picador CAF 5 utilizado na confecção da isca



Fonte: C.A.F máquinas (adaptado)

Onde: 1. Volante; 2. Bocal; 3. Bandeja; 4. Soquete; 5 Disco; 6, Manípulo

Na operação do picador existem alguns elementos essenciais para que o processo moagem ocorra com alto rendimento, abrindo o equipamento é possível representá-los conforme a Figura 4.

Figura 4. Elementos da moagem.



Fonte: C.A.F máquinas. (adaptado).

Onde: 1. Volante; 2. Disco; 3. Caracol; 4 Bocal.

Com o bom conhecimento dos elementos da moagem, foi possível utilizar anéis com diferentes diâmetros de furação para a fabricação das iscas, sendo eles: 1,5 mm; 2,0 mm e 3,0 mm, conforme a Figura 5.

Figura 5 - Discos com diferentes furações utilizados.



Fonte: Luis Eduardo Pontes Stefanelli

Após o material passar pelo disco (anel), essa matriz sofreu uma secagem de 24 horas à temperatura ambiente, os pellets foram cortados em iscas de aproximadamente 0,3 cm de comprimento. Após as iscas ficarem secas os diâmetros correspondentes a cada disco ficaram com as seguintes medidas:

Orifício 1,5 mm, -- $1,38 \pm 0,12$ mm;

Orifício 2,0 mm -- $1,79 \pm 0,15$ mm;

Orifício 3,0 mm -- $2,65 \pm 0,18$ mm.

1.2.2 Delineamento experimental

O delineamento experimental aplicado foi inteiramente casualizado, composto por oito tratamentos com cinco colônias da espécie *A. sexdens rubropilosa*, onde cada colônia representava uma repetição. Estas colônias tinham aproximadamente 1000

mL de cultura fúngica, e houve uma provisão de 1,5 g de isca para cada tratamento no dia da aplicação, As iscas na forma de pellets, foram ofertadas na arena de forrageamento somente no primeiro dia do experimento e os tratamentos foram definidos conforme discriminados na Tabela 1.

Tabela 1 - Tratamentos e formulações utilizadas no experimento

Tratamentos	Formulação utilizada
Tratamento 1 (T1)	Testemunha: Isca 0% i.a - (isca sem tóxico e sem corante) - Polpa Cítrica
Tratamento 2 (T2)	Isca sem tóxico + corante (Sudam III) – Polpa Cítrica + corante
Tratamento 3 (T3)	Isca 0,30 % sulfluramida + Diâmetro 1,5 mm + Sudam III + Polpa Cítrica
Tratamento 4 (T4)	Isca 0,30 % sulfluramida + Diâmetro 2,0 mm + Sudam III + Polpa Cítrica
Tratamento 5 (T5)	Isca 0,30 % sulfluramida + Diâmetro 3,0 mm + Sudam III + Polpa Cítrica
Tratamento 6 (T6)	Isca 0,15 % indoxacarbe + Diâmetro 1,5 mm + Sudam III + Polpa Cítrica
Tratamento 7 (T7)	Isca 0,15 % indoxacarbe + Diâmetro 2,0 mm + Sudam III + Polpa Cítrica
Tratamento 8 (T8)	Isca 0,15 % indoxacarbe + Diâmetro 3,0 mm + Sudam III + Polpa Cítrica

Foram realizadas avaliações aos 1, 2, 3, 5, 7, 9, 11, 14, 17 e 21 dias (DAA -dias após aplicação), para mensurar o desempenho de cada tratamento, avaliando os

seguintes parâmetros: taxa de carregamento, taxa de incorporação das iscas no jardim de fungos, corte de folhas, sintomas de intoxicação e finalmente mortalidade.

Além desses parâmetros foi feita a análise da glândula pós-faríngea, realizou-se o seguinte procedimento para a avaliação das glândulas pós-faríngeas: Nesta etapa do experimento, foram utilizados os tratamentos que continham o corante traçador (Sudam III). Após 72 horas da aplicação dos pellets, as colônias foram abertas e 50 operárias de cada colônia foram coletadas, totalizando 250 operárias (5 repetições para cada tratamento).

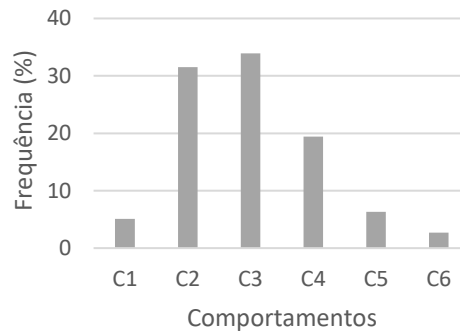
As cabeças das operárias foram dissecadas com tesoura, pinça e fórceps entomológicos em soro fisiológico sob um microscópio estereoscópico. As operárias foram categorizadas de acordo com a presença ou ausência de uma glândula pós-faríngea corada.

1.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os principais comportamentos realizados pelas operárias de *Atta sexdens rubropilosa* foram categorizados e, em seguida, as frequências de ocorrência desses atos comportamentais e suas porcentagens foram calculadas, conforme as Figuras 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12 e 13. Esses cálculos foram também feitos de acordo com a classe de tamanho das operárias que realizaram os comportamentos.

Onde: (C1) transporte do pellet para o jardim de fungo; (C2) segurar o pellet; (C3) lambr o pellet; (C4) repicar o pellet em fragmentos menores; (C5) incorporação no jardim de fungo; (C6) deposição de hifas sobre fragmentos incorporados.

O comportamento mais frequentemente observado para o Tratamento 1, foi o de lambr o pellet, que representou 36,39% de todos os comportamentos executados, seguidos de segurar o pellet com o valor de 29,65%; repicar o pellet, 20,04 %; incorporação, 6,4%; transporte, 5,18% deposição de hifas, 2,34%, conforme a Figura 6.

Figura 6. Atos comportamentais T1 (%)

Onde: (C1) transporte do pellet para o jardim de fungo; (C2) segurar o pellet; (C3) lamber o pellet; (C4) repicar o pellet em fragmentos menores; (C5) incorporação no jardim de fungo; (C6) deposição de hifas sobre fragmentos incorporados.

Essa frequência de comportamentos exibidos está em convergência com os estudos desenvolvidos por Silva et al. (2015), onde estudando o ato comportamental de processamento de pellets, observou-se como a maior frequência a atividade de lamber o pellet, isto pode ser explicado principalmente pelo processo de hidratação que as formigas cortadeiras utilizam no processamento do substrato. Nos estudos de outros pesquisadores como Andrade et al. (2002), também foram avaliados os atos comportamentais da mesma espécie presentes neste estudo e no processamento das folhas a atividade de lamber também foi a mais determinante.

Um teste de Kruskal-Wallis foi realizado para verificar se houve diferença de frequência entre os seis atos comportamentais estudados. O teste não paramétrico de Kruskal-Wallis rejeitou a hipótese de que todos os comportamentos teriam a mesma distribuição, houve, portanto, diferença estatística significativa entre os atos comportamentais realizados pelas operárias pequenas (Kruskal-Wallis, $H = 28,6441$, $GL = 7$, $(p) = 0,05$). Os comportamentos como: lamber os pellets, incorporar pellets e deposição de hifas diferiram estatisticamente (Tabela 2). E para o grupo de operárias médias, houve diferença estatística significativa entre os atos comportamentais realizados pelas operárias (Kruskal-Wallis, $H = 35,1577$, $GL = 7$, $(p) = 0,05$), analisando os comportamentos de transporte do pellet, segurar os pellets, e repicar os pellets (Tabela 2).

Tabela 2 – Comparação pareada de atos comportamentais realizados por pequenas e médias operárias de *A. sexdens* -T1.

	C1		C2		C3		C4		C5		C6	
Comportamentos	P	M	P	M	P	M	P	M	P	M	P	M
C1	-	-										
C2	ns	*	-	-								
C3	ns	Ns	*	ns	-	-						
C4	ns	*	ns	ns	*	*	-	-				
C5	ns	Ns	ns	ns	*	ns	ns	ns	-	-		
C6	ns	Ns	ns	ns	*	ns	ns	ns	ns	ns	-	-

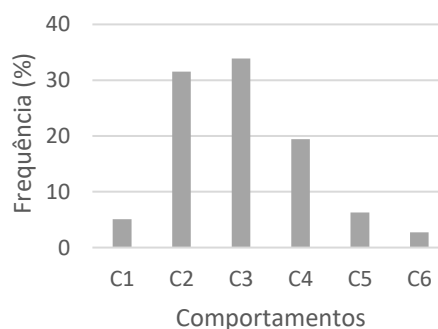
(P) operárias pequenas; (M) operárias médias; (C1) transporte do pellet para o jardim de fungo; (C2) segurar o pellet; (C3) lambar o pellet; (C4) repicar o pellet em fragmentos menores; (C5) incorporação no jardim de fungo; (C6) deposição de hifas sobre fragmentos incorporados.

(*) significativo a 5%; (ns) não significativo.

Estes resultados estão em convergência com os dados obtidos por Andrade et al. (2002), onde as castas da colônia contribuem diferentemente nos diversos comportamentos dos indivíduos. Percebe-se dessa forma que o tamanho da operária tem influência na sua atividade desempenhada, o que demonstra de forma clara a atribuição e divisão de tarefas.

Para o Tratamento 2, o comportamento mais observado foi o de lambar o pellet, que representou 31,52% de todos os comportamentos exibidos na avaliação, seguidos de segurar o pellet com o valor de 28,43%; repicar o pellet, 21,06 %; incorporação, 5,80%; transporte, 7,15% deposição de hifas, 3,04%, conforme a Figura 7.

Figura 7. Atos comportamentais T2 (%).



(C1) transporte do pellet para o jardim de fungo; (C2) segurar o pellet; (C3) lamber o pellet; (C4) repicar o pellet em fragmentos menores; (C5) incorporação no jardim de fungo; (C6) deposição de hifas sobre fragmentos incorporados.

Um teste de Kruskal-Wallis foi realizado para verificar se houve diferença de frequência entre os seis atos comportamentais estudados. O teste não paramétrico de Kruskal-Wallis rejeitou a hipótese de que todos os comportamentos teriam a mesma distribuição, houve, portanto, diferença estatística significativa entre os atos comportamentais realizados pelas operárias pequenas (Kruskal-Wallis, $H = 21,3575$, $GL = 7$, $(p) = 0,05$). Os comportamentos como: lamber os pellets, incorporar pellets deposição de hifas diferiram estatisticamente (Tabela 3). E para o grupo de operárias médias, houve diferença estatística significativa entre os atos comportamentais realizados pelas operárias (Kruskal-Wallis, $H = 42,2901$, Graus de liberdade = 7, $(p) = 0,05$), analisando os comportamentos de transporte do pellet, segurar os pellets lamber os pellets, e repicar os pellets e realizado o pós-teste conforme a Tabela 3.

Tabela 3 - Comparação pareada de atos comportamentais realizados por pequenas e médias operárias de *A. sexdens* –T2.

Comportamentos	C1		C2		C3		C4		C5		C6	
	P	M	P	M	P	M	P	M	P	M	P	M
C1	-	-										
C2	ns	*	-	-								
C3	ns	ns	*	ns	-	-						
C4	ns	*	ns	ns	*	*	-	-				
C5	ns	ns	ns	ns	*	ns	ns	ns	-	-		
C6	ns	ns	ns	ns	*	ns	ns	ns	ns	ns	-	-

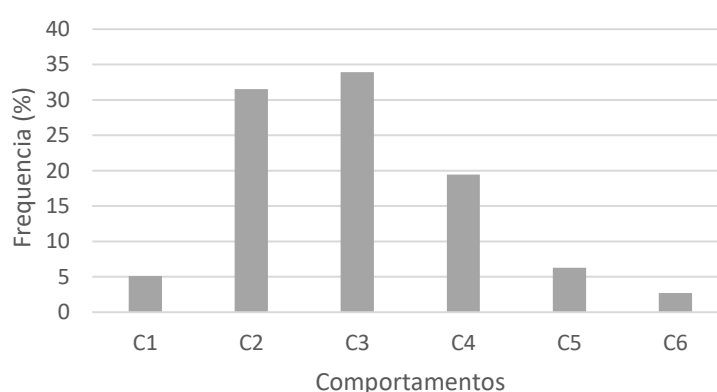
(P) operárias pequenas; (M) operárias médias; (C1) transporte do pellet para o jardim de fungo; (C2) segurar o pellet; (C3) lamber o pellet; (C4) repicar o pellet em fragmentos menores; (C5) incorporação no jardim de fungo; (C6) deposição de hifas sobre fragmentos incorporados.

(*) significativo a 5%; (ns) não significativo.

Nesta situação observou-se padrão semelhante aos observados nos tratamentos 1 e 2, principalmente em função da similaridade das dimensões do substrato oferecido.

O comportamento mais frequentemente observado para o Tratamento 3, foi o de lambar o pellet, que representou 35,55% de todos os comportamentos analisados, seguidos de segurar o pellet com o valor de 25,43%; repicar o pellet, 23,04 %; incorporação, 4,15%; transporte, 8,40% deposição de hifas, 3,43%, conforme a Figura 8.

Figura 8. Atos comportamentais exibidos T3 (%).



(C1) transporte do pellet para o jardim de fungo; (C2) segurar o pellet; (C3) lambar o pellet; (C4) repicar o pellet em fragmentos menores; (C5) incorporação no jardim de fungo; (C6) deposição de hifas sobre fragmentos incorporados.

Neste tratamento, o ato comportamental de lambar o pellet também ocupou a posição de destaque, além do aumento na atividade de transporte, o que é explicado pela quantidade de iscas diminutas na arena de forrageamento, o que explica maior número de indivíduos envolvidos no transporte.

Um teste de Kruskal-Wallis foi realizado para verificar se houve diferença de frequência entre os seis atos comportamentais estudados. O teste não paramétrico de Kruskal-Wallis rejeitou a hipótese de que todos os comportamentos teriam a mesma distribuição, houve, portanto, diferença estatística significativa entre os atos comportamentais realizados pelas operárias pequenas (Kruskal-Wallis, $H = 25,3674$, $GL = 7$, $(p) = 0,05$). Os comportamentos como: lambar os pellets, incorporar pellets deposição de hifas diferiram estatisticamente (Tabela 4). E para o grupo de operárias médias, houve diferença estatística significativa entre os atos comportamentais realizados pelas operárias (Kruskal-Wallis, $H = 52,1911$, $GL = 7$, $(p) = 0,05$),

analisando os comportamentos de transporte, segurar o pellet, lamber os pellets, e repicar os pellets, recordando que foi realizada a comparação pareada dos atos comportamentais através do pós-teste de Student-Newman-Keuls, conforme a Tabela 4.

Tabela 4 - Comparação pareada de atos comportamentais realizados por pequenas e médias operárias de *A. sexdens* –T3.

	C1		C2		C3		C4		C5		C6	
Comportamentos	P	M	P	M	P	M	P	M	P	M	P	M
C1	-	-										
C2	ns	*	-	-								
C3	ns	ns	*	*	-	-						
C4	ns	*	ns	ns	*	*	-	-				
C5	ns	ns	ns	ns	*	ns	ns	ns	-	-		
C6	ns	ns	ns	ns	*	ns	ns	ns	ns	ns	-	-

(P) operárias pequenas; (M) operárias médias; (C1) transporte do pellet para o jardim de fungo; (C2) segurar o pellet; (C3) lamber o pellet; (C4) repicar o pellet em fragmentos menores; (C5) incorporação no jardim de fungo; (C6) deposição de hifas sobre fragmentos incorporados.

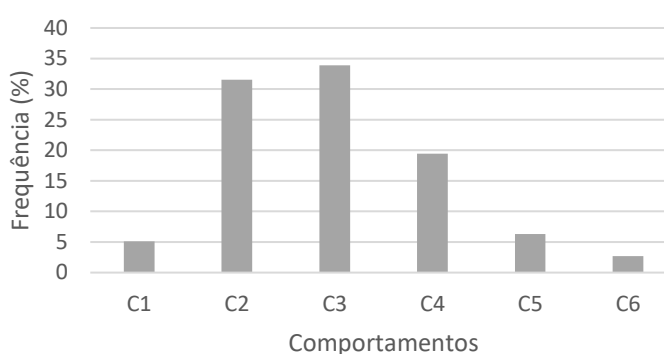
(*) significativo a 5%; (ns) não significativo.

Notou-se que o ato comportamental de lamber o pellet é bem peculiar as operárias pequenas, o que demonstra grande especialização das formigas pertencentes a esta casta durante o processamento da isca, autores como Diniz e Bueno (2009), ressaltam a divisão do processo de preparação do substrato em 3 estágios, onde cada estágio é composto por diferentes comportamentos que são exibidos de forma sequencial, sendo o primeiro estágio relacionado ao tratamento físico do substrato, onde as operárias lambem e seguram o substrato. Este comportamento é realizado também de maneira preventiva, evitar a contaminação do

jardim de fungo. Desta forma, podemos aferir que muitas das pequenas operárias do estudo estavam presentes neste estágio de processamento.

O comportamento mais frequentemente observado para o Tratamento 4, foi o de lamber o pellet, que representou 34,90% de todos os comportamentos executados, seguidos de segurar o pellet com o valor de 26,37%; repicar o pellet, 22,45 %; incorporação, 7,20%; transporte, 6,16% deposição de hifas, 2,92%, conforme a Figura 9.

Figura 9. Atos comportamentais T4 (%).



Onde: (C1) transporte do pellet para o jardim de fungo; (C2) segurar o pellet; (C3) lamber o pellet; (C4) repicar o pellet em fragmentos menores; (C5) incorporação no jardim de fungo; (C6) deposição de hifas sobre fragmentos incorporados.

Um teste de Kruskal-Wallis foi realizado para verificar se houve diferença de frequência entre os seis atos comportamentais estudados. O teste não paramétrico de Kruskal-Wallis rejeitou a hipótese de que todos os comportamentos teriam a mesma distribuição, houve, portanto, diferença estatística significativa entre os atos comportamentais realizados pelas operárias pequenas (Kruskal-Wallis, $H = 20,3731$, $GL = 7$, $(p) = 0,05$). Os comportamentos como: lamber os pellets, incorporar pellets e deposição de hifas diferiram estatisticamente (Tabela 5). E para o grupo de operárias médias, houve diferença estatística significativa entre os atos comportamentais realizados pelas operárias (Kruskal-Wallis, $H = 36,9843$, $GL = 7$, $(p) = 0,05$), analisando os comportamentos de transporte, segurar o pellet, lamber os pellets, e repicar os pellets e pelo pós-teste de Student-Newnan-Keus, obteve-se a Tabela 5.

Tabela 5 - Comparação pareada de atos comportamentais realizados por pequenas e médias operárias de *A. sexdens* –T4.

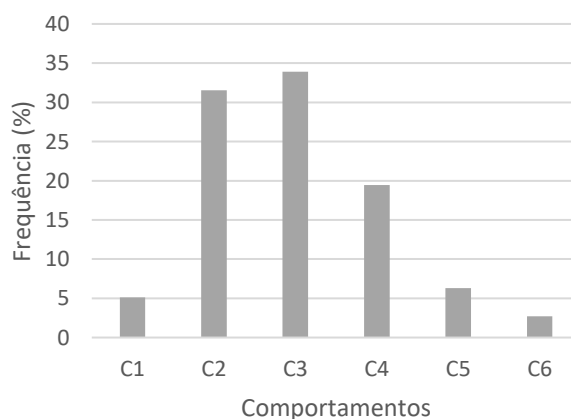
	C1		C2		C3		C4		C5		C6	
Comportamentos	P	M	P	M	P	M	P	M	P	M	P	M
C1	-	-										
C2	ns	*	-	-								
C3	ns	ns	*	*	-	-						
C4	ns	*	ns	ns	*	*	-	-				
C5	ns	ns	ns	ns	ns	*	ns	ns	-	-		
C6	ns	ns	ns	ns	ns	*	ns	ns	ns	ns	-	-

(P) operárias pequenas; (M) operárias médias; (C1) transporte do pellet para o jardim de fungo; (C2) segurar o pellet; (C3) lambe o pellet; (C4) repicar o pellet em fragmentos menores; (C5) incorporação no jardim de fungo; (C6) deposição de hifas sobre fragmentos incorporados.

(*) significativo a 5%; (ns) não significativo.

O comportamento mais frequentemente observado para o tratamento 5, foi o de lambe o pellet, que representou 37,80% de todos os comportamentos executados, seguidos de segurar o pellet com o valor de 26,19%; repicar o pellet, 18,45 %; incorporação, 8,20%; transporte, 5,09% deposição de hifas, 4,27%, conforme a Figura 10.

Figura 10. Atos comportamentais T5 (%).



Onde: (C1) transporte do pellet para o jardim de fungo; (C2) segurar o pellet; (C3) lamber o pellet; (C4) repicar o pellet em fragmentos menores; (C5) incorporação no jardim de fungo; (C6) deposição de hifas sobre fragmentos incorporados.

Para o tratamento 5, observou-se valores ainda maiores do comportamento de lamber o pellet em relação aos tratamentos 1,2,3 e 4. Isto pode ser explicado pela partícula do pellet ter maiores dimensões, sendo necessário neste caso, maior tempo para lamber e hidratar a superfície do substrato. Também se observou menor quantidade de formigas envolvidas no carregamento dos pellets, isto é explicado pois a quantidade de iscas aplicadas apesar de possuir os mesmos 1,5 g dos outros tratamentos, o número de partículas disponíveis para o carregamento era menor.

Um teste de Kruskal-Wallis foi realizado para verificar se houve diferença de frequência entre os seis atos comportamentais estudados. O teste não paramétrico de Kruskal-Wallis rejeitou a hipótese de que todos os comportamentos teriam a mesma distribuição, houve, portanto, diferença estatística significativa entre os atos comportamentais realizados pelas operárias pequenas (Kruskal-Wallis, $H = 29,5432$, $GL = 7$, $(p) = 0,05$). Os comportamentos como: lamber os pellets, repicar os pellets, incorporar pellets e deposição de hifas diferiram estatisticamente (Tabela 6). E para o grupo de operárias médias, houve diferença estatística significativa entre os atos comportamentais realizados pelas operárias (Kruskal-Wallis, $H = 61,3314$, $GL = 7$, $(p) = 0,05$), analisando os comportamentos de transporte, segurar, lamber e repicar os pellets, pelo pós-teste utilizado, obteve-se a Tabela 6.

Tabela 6 - Comparação pareada de atos comportamentais realizados por pequenas e médias operárias de *A. sexdens* –T5.

Comportamentos	C1		C2		C3		C4		C5		C6	
	P	M	P	M	P	M	P	M	P	M	P	M
C1	-	-										
C2	ns	*	-	-								
C3	ns	ns	*	*	-	-						
C4	ns	*	ns	ns	*	*	-	-				

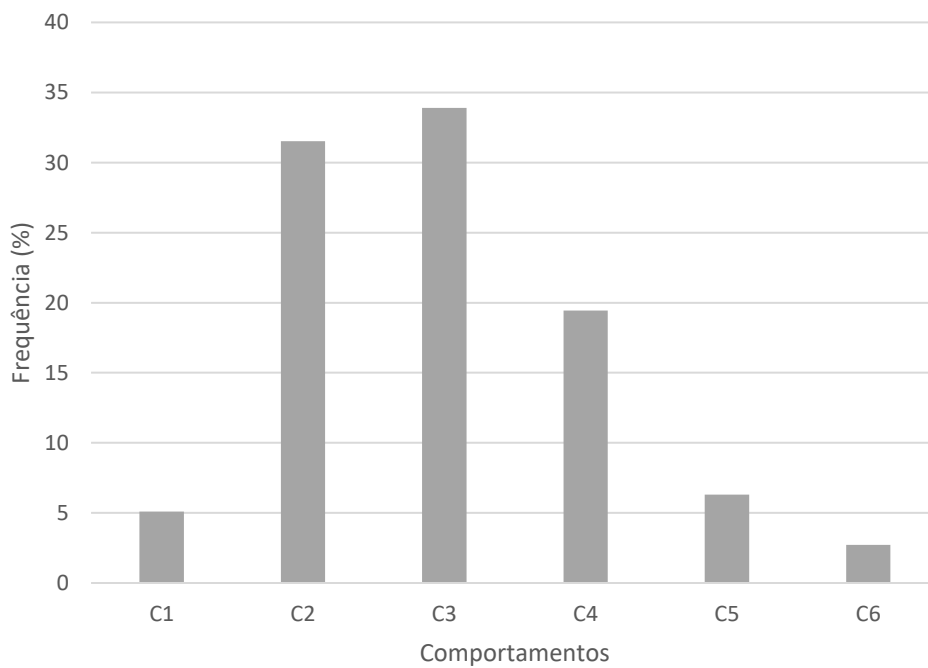
C5	ns	ns	ns	ns	*	ns	ns	ns	-	-
C6	ns	ns	ns	ns	*	ns	ns	ns	ns	-

(P) operárias pequenas; (M) operárias médias; (C1) transporte do pellet para o jardim de fungo; (C2) segurar o pellet; (C3) lambrer o pellet; (C4) repicar o pellet em fragmentos menores; (C5) incorporação no jardim de fungo; (C6) deposição de hifas sobre fragmentos incorporados.

(*) significativo a 5%; (ns) não significativo.

O comportamento mais frequentemente observado para o Tratamento 6, foi o de lambrer o pellet, que representou 36,40% de todos os comportamentos executados, seguidos de segurar o pellet com o valor de 30,94%; repicar o pellet, 22,03%; transporte, 5,71%; incorporação, 3,40%; deposição de hifas, 1,52%, conforme a Figura 11.

Figura 11. Atos comportamentais T6 (%).



Onde: (C1) transporte do pellet para o jardim de fungo; (C2) segurar o pellet; (C3) lambrer o pellet; (C4) repicar o pellet em fragmentos menores; (C5) incorporação no jardim de fungo; (C6) deposição de hifas sobre fragmentos incorporados.

Um teste de Kruskal-Wallis foi realizado para verificar se houve diferença de frequência entre os seis atos comportamentais estudados. O teste não paramétrico de Kruskal-Wallis rejeitou a hipótese de que todos os comportamentos teriam a

mesma distribuição, houve, portanto, diferença estatística significativa entre os atos comportamentais realizados pelas operárias pequenas (Kruskal-Wallis, $H = 22,1233$, $GL = 7$, $(p) = 0,05$). Os comportamentos como: lamber e segurar os pellets diferiram estatisticamente (Tabela 7). E para o grupo de operárias médias, houve diferença estatística significativa entre os atos comportamentais realizados pelas operárias (Kruskal-Wallis, $H = 30,1349$, $GL = 7$, $(p) = 0,05$), analisando os comportamentos transporte, segurar o pellet, lamber os pellets, e repicar os pellets (Tabela 7).

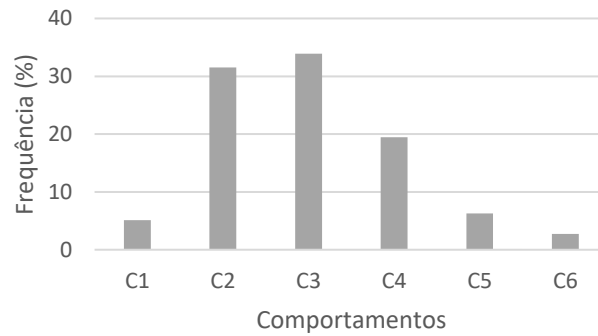
Tabela 7 - - Comparação pareada de atos comportamentais realizados por pequenas e médias operárias de *A. sexdens* –T6.

	C1		C2		C3		C4		C5		C6	
Comportamentos	P	M	P	M	P	M	P	M	P	M	P	M
C1	-	-										
C2	ns	*	-	-								
C3	ns	ns	*	*	-	-						
C4	ns	ns	ns	ns	ns	*	-	-				
C5	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	-	-		
C6	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	-	-

(P) operárias pequenas; (M) operárias médias; (C1) transporte do pellet para o jardim de fungo; (C2) segurar o pellet; (C3) lamber o pellet; (C4) repicar o pellet em fragmentos menores; (C5) incorporação no jardim de fungo; (C6) deposição de hifas sobre fragmentos incorporados.

(*) significativo a 5%; (ns) não significativo.

O comportamento mais frequentemente observado para o Tratamento 7, foi o de lamber o pellet, que representou 32,90% de todos os comportamentos executados, seguidos de segurar o pellet com o valor de 22,55 %; repicar o pellet, 14,94 %; transporte, 5,19%; incorporação, 2,50%; deposição de hifas, 0,91%, conforme a Figura 12.

Figura 12. Atos comportamentais T7 (%)

Onde: (C1) transporte do pellet para o jardim de fungo; (C2) segurar o pellet; (C3) lamber o pellet; (C4) repicar o pellet em fragmentos menores; (C5) incorporação no jardim de fungo; (C6) deposição de hifas sobre fragmentos incorporados.

Um teste de Kruskal-Wallis foi realizado para verificar se houve diferença de frequência entre os seis atos comportamentais estudados. O teste não paramétrico de Kruskal-Wallis rejeitou a hipótese de que todos os comportamentos teriam a mesma distribuição, houve, portanto, diferença estatística significativa entre os atos comportamentais realizados pelas operárias pequenas (Kruskal-Wallis, $H = 54,2812$, $GL = 7$, $(p) = 0,05$). Os comportamentos como: lamber os pellets e incorporar pellets diferiram estatisticamente e segurar o pellet. (Tabela 8). E para o grupo de operárias médias, houve diferença estatística significativa entre os atos comportamentais realizados pelas operárias (Kruskal-Wallis, $H = 26,1294$, $GL = 7$, $(p) = 0,05$), analisando os comportamentos transporte, segurar o pellet e lamber o pellet (Tabela 8).

Tabela 8 - - Comparação pareada de atos comportamentais realizados por pequenas e médias operárias de *A. sexdens* –T7

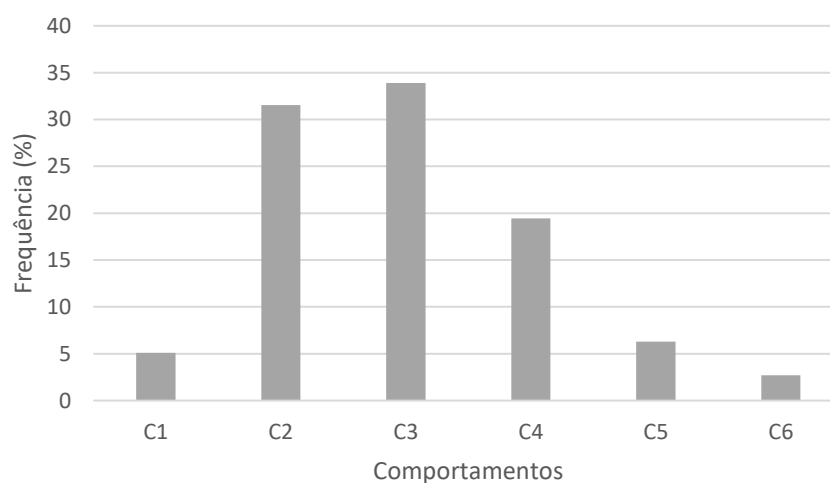
	C1		C2		C3		C4		C5		C6	
Comportamentos	P	M	P	M	P	M	P	M	P	M	P	M
C1	-	-										
C2	ns	*	-	-								
C3	ns	ns	*	*	-	-						

C4	ns	ns	ns	ns	ns	ns	-	-
C5	ns	ns	ns	ns	*	ns	ns	ns
C6	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns

(P) operárias pequenas; (M) operárias médias; (C1) transporte do pellet para o jardim de fungo; (C2) segurar o pellet; (C3) lamber o pellet; (C4) repicar o pellet em fragmentos menores; (C5) incorporação no jardim de fungo; (C6) deposição de hifas sobre fragmentos incorporados.
(*) significativo a 5%; (ns) não significativo

O comportamento mais frequentemente observado para o Tratamento 8, foi o de lamber o pellet, que representou 38,64% de todos os comportamentos executados, seguidos de segurar o pellet com o valor de 32,34%; repicar o pellet, 18,45 %; transporte, 7,45%; incorporação, 2,20%; deposição de hifas, 0,92%, conforme a Figura 13.

Figura 13. Atos comportamentais T8 (%)



Onde: (C1) transporte do pellet para o jardim de fungo; (C2) segurar o pellet; (C3) lamber o pellet; (C4) repicar o pellet em fragmentos menores; (C5) incorporação no jardim de fungo; (C6) deposição de hifas sobre fragmentos incorporados.

O Tratamento 8 apresentou baixas frequências de incorporação e deposição de hifas, principalmente pelas características do inseticida indoxacarbe.

Um teste de Kruskal-Wallis foi realizado para verificar se houve diferença de frequência entre os seis atos comportamentais estudados. O teste não paramétrico de Kruskal-Wallis rejeitou a hipótese de que todos os comportamentos teriam a mesma distribuição, houve, portanto, diferença estatística significativa entre os atos

comportamentais realizados pelas operárias pequenas (Kruskal-Wallis, $H = 20,9874$, $GL = 7$, $(p) = 0,05$). Os comportamentos como: lamber os pellets e segurar os pellets diferiram estatisticamente (Tabela 9). E para o grupo de operárias médias, houve diferença estatística significativa entre os atos comportamentais realizados pelas operárias (Kruskal-Wallis, $H = 75,1618$, $GL = 7$, $(p) = 0,05$), analisando os comportamentos de transporte, segurar, lamber os pellets e repicar os pellets (Tabela 9).

Tabela 9 - - Comparação pareada de atos comportamentais realizados por pequenas e médias operárias de *A. sexdens* –T8

	C1		C2		C3		C4		C5		C6	
Comportamentos	P	M	P	M	P	M	P	M	P	M	P	M
C1	-	-										
C2	ns	*	-	-								
C3	ns	ns	*	*	-	-						
C4	ns	ns	ns	ns	ns	*	-	-				
C5	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	-	-		
C6	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	-	-

(P) operárias pequenas; (M) operárias médias; (C1) transporte do pellet para o jardim de fungo; (C2) segurar o pellet; (C3) lamber o pellet; (C4) repicar o pellet em fragmentos menores; (C5) incorporação no jardim de fungo; (C6) deposição de hifas sobre fragmentos incorporados.

(*) significativo a 5%; (ns) não significativo.

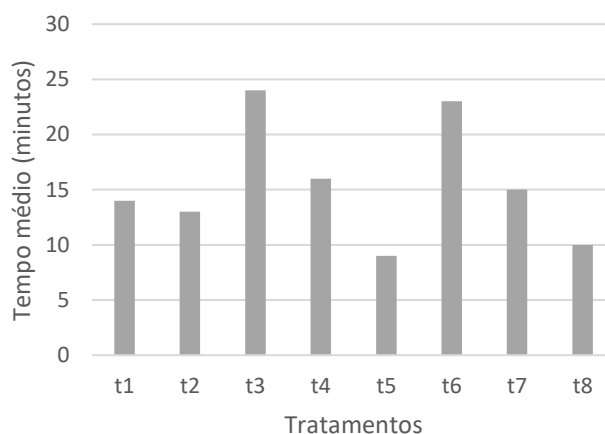
O polimorfismo das operárias da colônia rege os atos comportamentais desempenhados. Percebe-se que as operárias pequenas estão mais envolvidas em atividades com lamber o substrato e deposição de hifas no jardim de fungo, já as operárias médias desempenham funções de transporte e manipulação do substrato. Notou-se que a frequência mais observada no período de avaliação os

comportamentos C3 e C4., as menores frequências observadas foram C1 e C6., isto é explicado pois o número de indivíduos envolvidos no transporte dos pellets é menor que o número de indivíduos atuantes no processamento do substrato. Já o ato comportamental de lambar o pellet e repicar o pellet foi o mais observado provavelmente pelo tempo gasto. Os tratamentos contendo o inseticida indoxacarbe apresentaram menor incorporação e deposição de hifas no jardim de fungo.

1.3.1 Carregamento das iscas

Nesta avaliação foi avaliada a taxa de carregamento das iscas, o cronograma de observação durou um período total de 12 horas. A avaliação deste ato comportamental é muito importante pois indica a atratividade da isca tóxica granulada utilizada. Fatores como o carregamento e a devolução de partículas podem indicar se o substrato utilizado é aceitável para o controle. Se por alguma razão as formigas cortadeiras perceberem alguma anormalidade na isca carregada isso pode prejudicar o processo de carregamento. No período total de 12 horas, todas as iscas foram carregadas. Foi aferido o tempo médio carregamento das iscas, conforme a Figura 14.

Figura 14. Tempo médio de carregamento das iscas



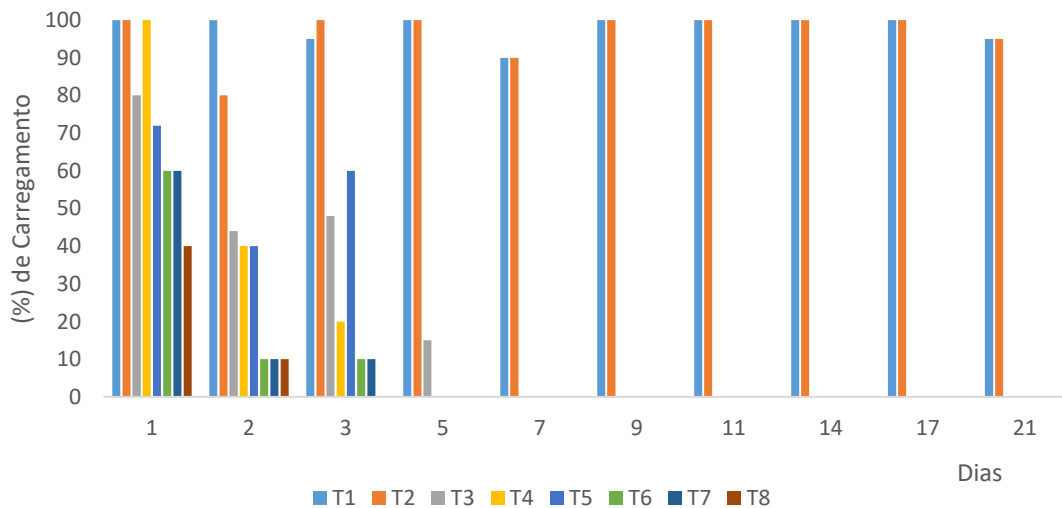
Nota-se na Figura 14, que os tratamentos "T5 e T8 (maiores diâmetros de partícula, foram os tratamentos que tiveram menor tempo médio de carregamento, isto, pode ser explicado pelo tamanho do pellet desses dois tratamentos e apresentava maiores dimensões, foi necessário um menor número de deslocamentos para realizar o transporte dos pellets, situação contrária ao tempo de carregamento

dos tratamentos T3 e T6 (menores diâmetros de partícula respectivamente). De forma prática o menor tamanho da partícula exige um maior recrutamento de indivíduos da colônia para auxiliar na atividade do transporte, o que implica em mais formigas envolvidas nesta tarefa, o que é importante ressaltar é que o menor diâmetro acaba gerando maior exposição das formigas no processo de forrageamento, desta forma ficando mais vulneráveis a predadores e inimigos naturais. De acordo com Stefanelli et al. (2018) o carregamento representa um fator importante para a formulação de iscas formicidas e devem ser realizadas pesquisas com outros compostos de melhor atratividade e menor repelência ao inseto, para que desta forma, o controle continue efetivo.

1.3.2 Carregamento das folhas

O carregamento das folhas foi descrito conforme a Figura 15, para cada tratamento ao longo dos 21 dias de avaliação.

Figura 15 - Carregamento de folhas.

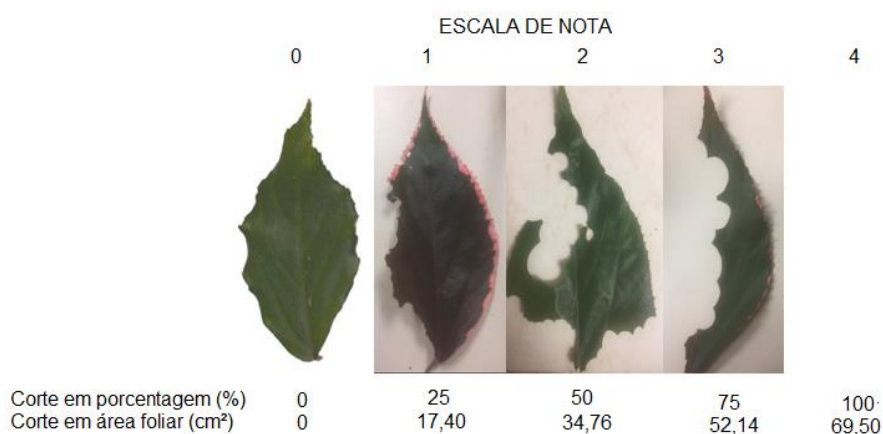


Nota-se que o carregamento das folhas diminui com o passar dos dias de avaliação, esta queda da atividade de forrageamento é explicada principalmente pela ação do inseticida.

1.3.3 Corte das folhas.

Para avaliar o corte de folhas, foi escolhida a mesma proposta por Silva (2012). Neste caso foi utilizada uma escala de notas que variavam de 0 até 4 conforme a Figura 16, para analisar o corte das folhas de *Acalypha* sp. oferecidas para as operárias das colônias estudadas. As avaliações foram feitas aos 2, 3, 5, 7, 9, 11, 14, 17 e 21 dias (DAA - dias após aplicação). A partir do material vegetal consumido era possível avaliar o desempenho de corte da colônia. No final do dia as folhas eram retiradas e realizada a quantificação de área foliar por meio do equipamento LI-3100C® Area meter.

Figura 16 - Escala descritiva das notas atribuídas ao corte de folhas.



Fonte: Luis Eduardo Pontes Stefanelli

O corte de folhas é um fator muito importante de ser abordado, em se tratando de controle de formigas cortadeiras, pois a diminuição da atividade de forrageamento pode indicar neste caso, a presença de algum desarranjo na colônia. A qualidade do corte pode desta forma representar um bom indicador sobre a sanidade da colônia, as notas dos cortes de folhas foram exemplificadas na Tabela 10.

Tabela 10 - Notas médias de corte de folhas para todos os tratamentos.

Tratamentos	Nota média de corte de folhas (*)
T1	3,80 ± 0,20 a
T2	3,80 ± 0,20 a

T3	2,15 ± 0,32 b
T4	2,15 ± 0,32 b
T5	2,15 ± 0,32 b
T6	1,11 ± 0,32 d
T7	0,12 ± 0,32 e
T8	0,15 ± 0,32 e
CV (%)	12,05
Média geral	1,92

(*) Médias seguidas por letras distintas diferem significativamente entre si pelo teste de Tukey (P < 0,05).

Os tratamentos que apresentaram melhores notas médias de corte de folhas foram T1 e T2, os tratamentos contendo o ingrediente ativo sulfluramida (T3, T4 e T5) apresentaram notas intermediárias no corte de folhas e os tratamentos contendo indoxacarbe (T6, T7 e T8) foram anotados as piores médias no corte de folhas, isto pode ser explicado pela diferença dos modos de ação de cada um dos ingredientes ativos utilizados, o indoxacarbe de ação rápida, acabou por reduzir a atividade do corte de folhas, provavelmente por algum problema de sanidade da colônia, como citado anteriormente, já a sulfluramida um inseticida de ação lenta, proporcionou o corte por um período um pouco maior, aumentando assim seus valores médios.

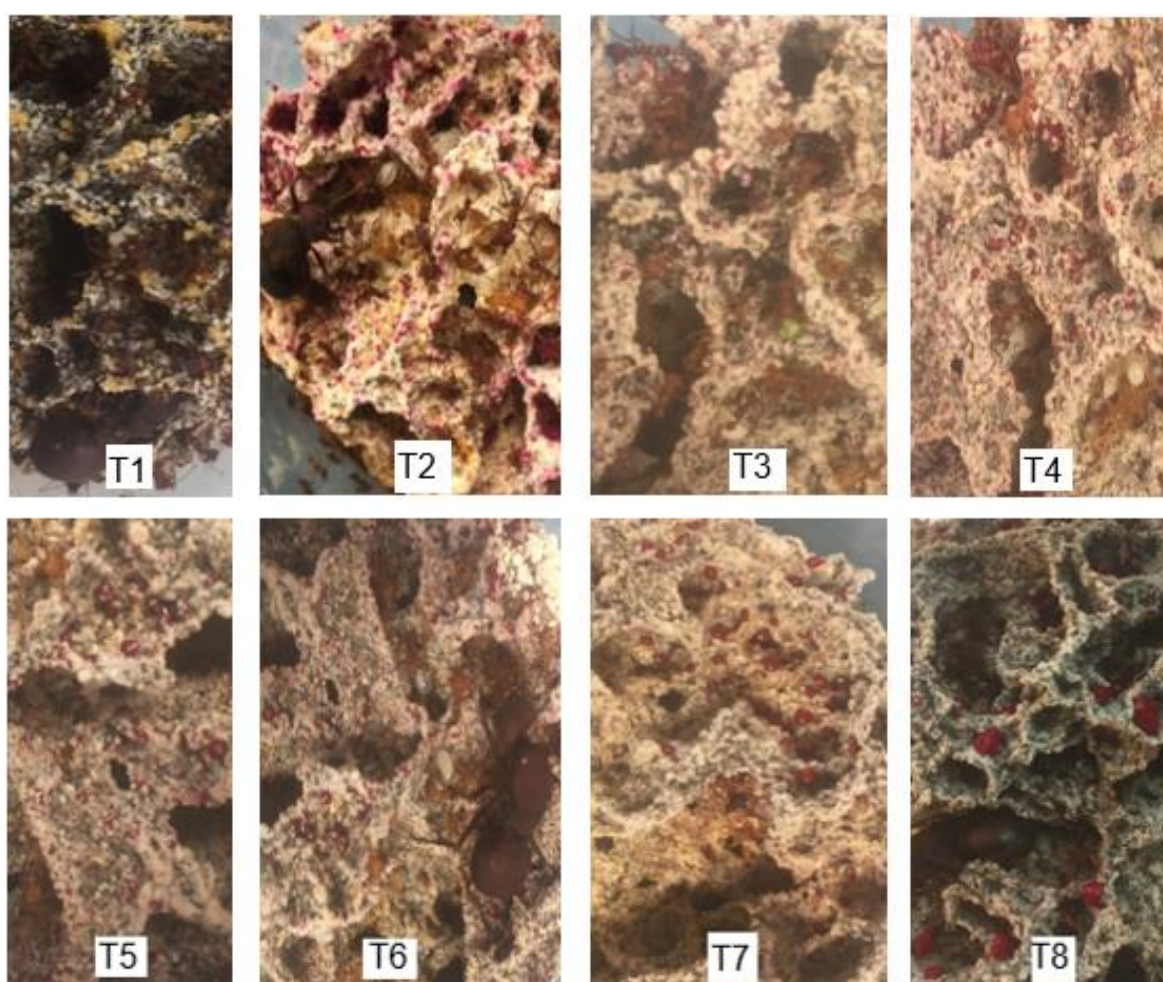
1.3.4 Incorporação

Na incorporação da isca granulada tóxica, que é uma etapa posterior ao carregamento e processamento primário do material coletado, as operárias começam a hidratar e em seguida repicar o substrato vegetal coletado, após esses atos comportamentais as formigas cortadeiras começam a incorporar o substrato no jardim de fungo. Alguns aspectos são importantes nesse processo pois como é enfatizado por Forti et al. (1998), um inseticida com características formicidas eficientes não ser perceptível às operárias da colônia, pois caso contrário não apresentará o efeito letal esperado. Nota-se que quando este tipo de ação não acontece, ocorre a redução da taxa de carregamento das iscas tóxicas, e menor da incorporação no jardim de fungo, além do aumento de comportamentos como autolimpeza, liberação de ferômonios e devolução do material coletado e conseqüentemente menor eficiência no controle.

Além disso, quando o material for exposto ao calor e luz do meio ambiente, deve ser estável por tempo suficiente para que seja carregado para a o interior das

colônias. Alguns fatores como a elevada fotodegradação sofrida pelo ingrediente ativo, pode afetar sua eficiência (CAMERON, 1990), e também não pode apresentar alta volatilização, o que acabaria em perdas recorrentes no processo de aplicação, além de outras características intrínsecas do inseticida como hidrólise e reações de oxi-redução. Diante dessa grande importância na incorporação ela foi observada para cada tratamento conforme a Figura 17.

Figura 17 - Incorporação dos tratamentos.



Fonte: Luis Eduardo Pontes Stefanelli

Para avaliar a incorporação foi elaborada uma escala de notas de 1 a 4. Sendo a nota 1, a taxa de incorporação na faixa de 0-25%; nota 2, 26 -50%; nota 3, 51-75%; e a nota 4, 76-100 %, respectivamente. A avaliação foi feita por meio de observação nas primeiras 24 horas do experimento, conforme a Tabela 11.

Tabela 11- Notas médias de incorporação dos tratamentos.

Tratamentos	Nota média da incorporação(*)
T1	4,0 a
T2	3,9 a
T3	3,8 a
T4	3,6 a
T5	3,8 a
T6	2,4 b
T7	1,8 c
T8	1,0 d
CV (%)	12,24
Média geral	3,03

(*) Médias seguidas por letras distintas diferem significativamente entre si pelo teste de Tukey (P < 0,05).

Neste caso, T8 apresentou as piores notas de incorporação, isto pode ser explicado principalmente pela dose do ativo utilizada e o tamanho da partícula. Um pellet com alta toxicidade foi difícil de ser processado pelas operárias, os tamanhos menores de das iscas indoxacarbe, apresentaram problemas semelhantes, no entanto devido à menor superfície de contato, as operárias conseguiram realizaram uma melhor incorporação. T3, T4, T5, todos os tratamentos compostos por sulfluramida apresentaram desempenhos similares, não importando o tamanho da partícula na incorporação, estatisticamente não diferiram, e tiveram a mesma incorporação de T1 e T2 (testemunha e testemunha + corante, respectivamente).

1.3.5 Análise da glândula pós-faríngea

Acreditava-se que as estruturas como as glândulas pós-faríngeas eram uma exclusividade da família Formicidae, independentemente da casta pertencente ao inseto ou sua sexualidade (DELAGE-DARCHEN, 1976; HÖLLDOBLER; WILSON,1990; WHEELER, 1926). No entanto, recentes estudos verificaram a presença dessas glândulas em outras espécies da ordem Hymenoptera, onde

algumas espécies de vespas foram categorizadas com a presença dessas glândulas. (STROHM et al., 2010).

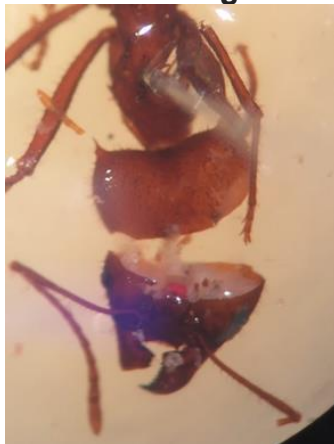
No caso das formigas cortadeiras, elas possuem um par de glândulas pós-faríngeas que se localizam dorsalmente em uma região de transição entre duas estruturas: a faringe e o esôfago (CAETANO, 1998; HÖLLDOBLER; WILSON, 1990).

As glândulas pós-faríngeas são de origem ecdodérmica e são formadas no período do desenvolvimento pós-embrionário a partir da evaginação dorsal do epitélio faríngeal (CRUZ-LANDIM; MOTA, 1990; GAMA, 1985). São compostas por um par de cachos de lobos ramificados, os quais terminam em uma estrutura sacular que se afunila em um canal formado por quitina e termina na parte inicial do intestino anterior. Os lobos no formato achatado se distribuem na região frontal do cérebro. (ALMEIDA-TOLEDO, 1967).

Em se tratando de *A. sexdens rubropilosa*, a espécie estudada em questão, as glândulas pós-faríngeas apresentam a mesma constituição anatômica e ultramorfológica, nas castas reprodutivas e nas operárias, no entanto nas rainhas essas estruturas são maiores (BUENO, 2005), o que faz bastante sentido, principalmente pelo polimorfismo da colônia. Acredita-se que as glândulas pós-faríngeas estão envolvidas na produção de enzimas digestivas e especializadas na nutrição lipídica de formigas adultas, absorvendo, armazenando, metabolizando e mobilizando lipídios para a hemolinfa. Embora existam vários estudos tenham avaliado a atividade tóxica de substâncias em formigas, apenas alguns descreveram a morfologia das alterações em tecidos dos insetos causadas por esses compostos (SUMIDA et al. 2010). Os dados morfológicos obtidos nas pesquisas de Décio et al. (2013), indicam a translocação de lipídios nas glândulas pós-faríngeas de *A. sexdens rubropilosa*

Conhecendo todas essas características, e sabendo da notória importância dessas glândulas e sua afinidade lipídica, característica essa muito importante para a dispersão de substâncias, observou-se a quantidade de operárias coradas conforme a Figura 18, e os dados compilados na Tabela 12.

Figura 18 - Operária dissecada com glândula pós-faríngea corada.



Fonte: Luis Eduardo Pontes Stefanelli

Tabela 12. Valores médios (%) de glândula corada de operárias de *A. sexdens* com o cortante traçador.

Tratamentos	Tamanho da cápsula cefálica			
	Muito Pequena	Pequena	Média	Grande
T2	0,53 bB	0,68 aB	0,78 abA	0,80 aA
T3	0,68 aC	0,76 aB	0,83 Aab	0,86 aA
T4	0,51 bC	0,70 aB	0,74 Bab	0,78 aA
T5	0,52 bC	0,70 aB	0,74 Bab	0,78 aA
T6	0,41 cC	0,50 bB	0,61 Ca	0,64 bA
T7	0,37 cC	0,42 bcBC	0,48 Dab	0,51 cA
T8	0,24 dC	0,34 cBC	0,30 Eab	0,41 dA
CV (%)				7,76

Letras minúsculas na coluna diferenciam cada tamanho da cabeça do inseto em função dos tratamentos, letras maiúsculas na linha diferenciam cada tratamento em função do tamanho de inseto, de acordo com o teste de Tukey ($p < 0,05$). CV: Coeficiente de Variação.

Os resultados demonstram que os tratamentos T6, T7, T8, apresentaram menor proporção de indivíduos com a glândula pós-faríngea tingida. Esse resultado pode ter acontecido pelo fato de que esses três tratamentos eram compostos pelo inseticida indoxacarbe. A concentração de ativo neste caso pode ter gerado a morte dos indivíduos por contato, não existindo muito tempo para que ocorresse a ingestão do inseticida. O Tratamento 3, apresentou grande quantidade de indivíduos corados, o que pode indicar que o diâmetro do pellet e a natureza do ativo influenciaram na dispersão. Notou-se que para os tratamentos T4 e T5 que as operárias também tiveram contato considerável com o princípio ativo, uma vez que as estruturas internas de seus corpos estavam coradas pelo corante lipossolúvel nas primeiras 72 horas. Além disso, os tratamentos T2, T3, T4 e T5 apresentam uma semelhança quanto à contaminação das operárias, provavelmente devido ao seu comportamento especializado realizado durante o processo de cultivo do jardim de fungos com as iscas granuladas. Este resultado está em conformidade com as pesquisas realizadas por Forti et al. (2019) que identificou que o ato comportamental das operárias para o cultivo do fungo simbiote foi o principal meio de dispersão de uma substância lipossolúvel.

Neste caso foi interessante notar que algumas classes de tamanho de operárias podem ser mais importantes para o controle de colônias do que outras, porque observou-se que nos tratamentos com IA de ação rápida a taxa de rejeição de isca foi maior, sugerindo que as operárias menores foram potencialmente menos contaminadas e nas operárias maiores o IA apresentou um característica de inseticida de contato, onde nas primeiras horas da aplicação os indivíduos já apresentavam sintomas como paralisação, tremor e lentidão, além do aumento de comportamentos como allogrooming e selfgrooming.

Outros pesquisadores como Camargo et al. (2017), atentam que o conhecimento sobre a dispersão de inseticidas é imprescindível para compreender melhor as rotas contaminação das operárias e desta forma ser possível definir padrões seletivos para substâncias químicas com potencial inseticida.

Os resultados demonstraram que as operárias das colônias tratadas com iscas sem a presença do ingrediente ativo, obtiveram valores semelhantes ao tratamento com sulfluramida (diâmetro de 2,0 mm). Nesta situação, o inseticida comercializado se apresenta com características satisfatórias para a continuidade da sua utilização. O tratamento que apresentou maior quantidade de glândulas coradas nas operárias muito pequenas e pequenas foi o tratamento sulfluramida (diâmetro de 1,5 mm). Isto pode ser explicado pela hipótese de que o menor tamanho da partícula, é mais rapidamente processado e incorporado ao jardim de fungo, como não existe a grande necessidade de hidratar e repicar a isca em fragmentos menores, as jardineiras podem se dedicar em atividades como a deposição de hifas no jardim.

Para as iscas contendo indoxacarbe, a concentração do ingrediente ativo, não foi muito adequada, causando a morte de muitos indivíduos da colônia no primeiro e segundo dia. Muitas formigas não conseguiram processar o material, apesar de ter ocorrido o bom carregamento das iscas granuladas, a irrisória incorporação contribuiu muito para que os valores de glândulas coradas fossem baixos. Aqui levanta-se a hipótese de que provavelmente no processo de repicagem e hidratação das iscas, as operárias identificaram a substância tóxica, parando quase que imediatamente de manipular a isca.

E outro ponto fundamental é que no processamento da isca, existe uma grande possibilidade de que as operárias que ingeriram o corante também acabaram ingerindo o princípio ativo concomitantemente como sugerem autores como Forti et al. (2019). Em se tratando de fluídos ingeridos, é sabido que lipídios atravessam as estruturas como a cavidade infrabucal e as glândulas pós-faríngeas, mas são absorvidas nas glândulas pós-faríngeas (Bueno, 2005). Após este procedimento de captação de micropartículas, as substâncias ingeridas acabam por serem envolvidas nos processos digestivos segundo Forbes e McFarlane (1961), então muito provavelmente o aumento da intoxicação do inseto está relacionada com esta e outras glândulas .

Os dados obtidos das glândulas coradas estão um pouco acima dos encontrados por Forti et al. (2007), no entanto não se aproximam tanto dos encontrados por Echols (1966) e Camargo et al. (2017), onde mais de 80 % das operárias amostradas apresentavam o corante lipossolúvel nas glândulas pós-faríngeas, caracterizando um

processo de ingestão. Os resultados de Silva (2012), também apontam para a maior porcentagem de glândulas coradas para as operárias maiores, provavelmente por maior contato e tempo de exposição ao substrato. A dispersão do ingrediente ativo provavelmente está relacionada com as distintas tarefas executadas pelas diferentes castas. No entanto alguns fatores podem ter influenciado os resultados como o período para a coleta das operárias de 72 horas e os ingredientes ativos utilizados.

1.3.6 Sintomas de intoxicação:

Em relação à evolução dos sintomas de intoxicação após as iscas granuladas serem oferecidas, os tratamentos com indoxacarbe já apresentaram sintomas de intoxicação nas primeiras horas do experimento, indicando que a concentração do ativo estava muito elevada, principalmente para o tratamento com maior diâmetro de partícula. Em se tratando dos sintomas de intoxicação, operárias expostas ao indoxacarbe apresentaram: lentidão, desorientação, tremor e o par de pernas posteriores levantadas.

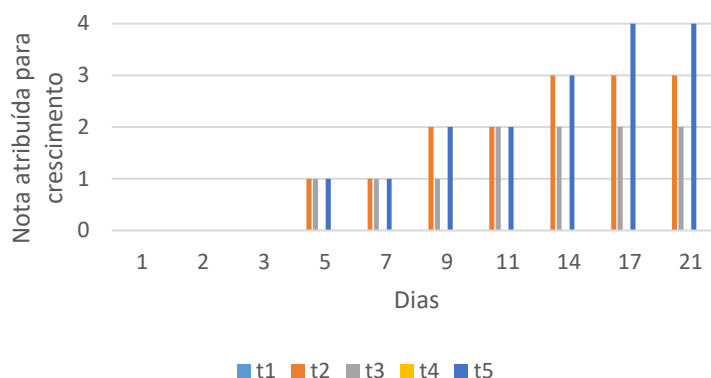
Os sintomas relativos a exposição e intoxicação por sulfluramida foram acentuados no 5º dia após a aplicação, além da lentidão e redução no corte de folhas.

Não se observou algum sintoma de intoxicação para as operárias que pertencentes ao grupo controle (testemunha e testemunha + corante), indicando desta forma a polpa cítrica e o corante não eram tóxicos.

Aspectos referentes a intoxicação de operárias são representados por: quantidade de formigas mortas (especialmente na área contendo a esponja fúngica), formigas mortas no alimentador (arena de forrageamento) e formigas mortas no recipiente de descarte de resíduos (câmara de lixo). Além disso o aumento da intoxicação, ocasiona o crescimento de fungos contaminantes.

1.3.7 Fungos Contaminantes:

É muito importante avaliar o crescimento de fungos contaminantes no jardim de fungo da colônia, pois a presença de alguns desses fungos pode indicar a falta de sanidade da colônia. Na Figura 19 é apresentada a evolução do crescimento destes fungos por todo período de 21 de avaliação para cada tratamento. O desempenho do seu crescimento foi quantificado numa escala de notas de 0 até 4, onde 0 representa a ausência de crescimento e 4 o maior crescimento.

Figura 19. Crescimento de fungos contaminantes

Na Figura 19, é possível notar a evolução do crescimento do fungo contaminante para os cinco tratamentos. Percebe-se que o Tratamento 4, assim como a testemunha não apresentou o surgimento deste tipo de fungo, provavelmente isto é explicado pela baixa concentração do ingrediente ativo indoxacarbe.

1.3.8 Mortalidade de formigas

Os tratamentos sem ingredientes ativos (grupo controle) não apresentaram mortalidade significativa de operárias durante os 21 dias de avaliação do experimento. Os tratamentos com pellets contendo indoxacarbe e sulfluramida mataram todas as colônias no período final de 21 dias de avaliação.

Os dados gerais dos tratamentos são descritos na Tabela 13.

Tabela 13 – Dados gerais das colônias de *Atta sexdens* após os 21 dias.

Tratamentos	Estado das colônias			
	Intoxicação das operárias	Formigas mortas	Crescimento do fungo contaminante	Colônia morta
T1	Não ocorreu	Morte natural	Não ocorreu	Não ocorreu
T2	Não ocorreu	Morte natural	Não ocorreu	Não ocorreu

T3	Ocorreu a partir do 3 ^o DDA	Em todas as câmaras	Ocorreu a partir do 5 ^o DDA*	Colônia morta
T4	Ocorreu a partir do 3 ^o DDA	Em todas as câmaras	Ocorreu a partir do 5 ^o DDA*	Colônia morta
T5	Ocorreu a partir do 3 ^o DDA	Em todas as câmaras	Ocorreu a partir do 7 ^o DDA*	Colônia morta
T6	Ocorreu em até 24 h	Em todas as câmaras	Ocorreu a partir do 3 ^o DDA*	Colônia morta
T7	Ocorreu em até 24 h	Em todas as câmaras	Ocorreu a partir do 3 ^o DDA*	Colônia morta
T8	Ocorreu em até 24 h	Em todas as câmaras	Ocorreu a partir do 3 ^o DDA*	Colônia morta

^(*)DAA: dias após aplicação.

Observou-se nestas situações que o diâmetro da isca não influenciou na mortalidade final das colônias, apenas na quantidade de indivíduos que apresentaram a presença da glândula pós-faríngea corada. Para os tratamentos com ingrediente ativo sulfluramida a morte das colônias ocorreu entre o 14^o e 17^o dia de avaliação para os tratamentos T3, T4 e T5. Para o ingrediente ativo indoxacarbe a mortalidade ocorreu no 7^o dia da avaliação para os tratamentos T6, T7 e T8.

A partir destes estudos percebe-se que O diâmetro da partícula interfere na incorporação e contaminação das operárias de *A. sexdens*, contribuindo para a dispersão de uma substância lipossolúvel ou um ingrediente ativo, neste caso a partir dos resultados obtidos, dentre os diâmetros estudados, a recomendação seria utilizar o pellet com menor diâmetro (1,5 mm) pois fatores como o maior recrutamento de indivíduos da colônia, indica que mais formigas estarão envolvidas nesta tarefa, além de ocasionar maior dispersão do ingrediente ativo, e a excelente vantagem de ter uma isca pelletizada com menores dimensões mas sem perder a eficiência, pois apesar do tamanho da partícula ser mais diminuto, a concentração de ativo continua a mesma, uma das desvantagens seria a possível perdas por deriva em decorrência das partículas serem muito leves e a facilidade de serem dispersas no ambiente.

A vantagem da isca com maior diâmetro seria principalmente utilizar uma quantidade de pellets menor por área de formigueiro. Uma desvantagem da isca com maior diâmetro é a menor contaminação dos indivíduos. Notou-se com este estudo que a ingestão dos ingredientes ativos é dependente da toxicidade, diâmetro de partícula utilizada e tamanho da formiga. O indoxacarbe provoca grande toxicidade às operárias de *A. sexdens*, principalmente em concentrações iguais à 0,15%.

1.4 CONCLUSÃO

A partir deste estudo foi possível concluir que sulfluramida e indoxacarbe apresentam diferentes distribuição na colônia em termos de contaminação; as dimensões da isca interferem na contaminação das operárias das diferentes castas. E por fim, não existiu diferença significativa do tamanho da isca e mortalidade final da colônia, além das iscas contendo indoxacarbe se apresentaram como candidatas potenciais para o controle de formigas cortadeiras.

REFERÊNCIAS

- ANDRADE, A. P. P. et al. Behavior of *Atta sexdens rubropilosa* (Hymenoptera: Formicidae) workers during the preparation of the leaf substrate for symbiont fungus culture. **Sociobiology, Chico**, v. 40, n. 2, p. 293 - 306, 2002.
- ALMEIDA-TOLEDO, L. F. Histo-anatomia de glândulas de *Atta sexdens rubropilosa* Forel (Hymenoptera). São Paulo, **Arquivos do Instituto Biológico**, São Paulo, v. 34, n. 4, p. 321- 329, 1967.
- BOARETOO, M. A. C. **Seleção de substratos com potencial para uso em iscas granuladas para as saúvas *Atta capiguara* Gonçalves, 1944 e *Atta bisphaerica* Forel, 1908 (Hymenoptera: Formicidae) e isolamento do fungo simbiote**. 2000. 161p. Tese (Doutorado em Agronomia/Proteção de Plantas) – Faculdade de Ciências Agrônômicas, Universidade Estadual Paulista, Botucatu, 2000.
- BUENO, O.C. **Filtro infrabucal e glândulas pós-faríngeas da saúva-limão *Atta sexdens rubropilosa* Forel (Hymenoptera, Formicidae)**. 2005. 167p. Tese (Livre-Docência) – Instituto de Biociências, Universidade Estadual Paulista, Rio Claro, 2005.
- CAETANO, F.H. **Aspectos ultramorfológicos, ultra estruturais e enzimológicos da glândula pós-faríngea de *Dinoponera australis* (Formicidae: Ponerinae)**. 1998.137p.Tese (Livre Docência) - Instituto de Biociências, Universidade Estadual Paulista, Rio Claro, 1998.
- C.A.F MÁQUINAS disponível em <<https://www.cafmaquinas.com.br/produtos/picadores/picador-de-carne-caf-5-inox>>Acesso em 23/01/2019.
- CAMARGO, R. D. S. et al. Allogrooming, Self-Grooming, and Touching Behavior: Contamination Routes of Leaf-Cutting Ant Workers Using a Fat-Soluble Tracer Dye. **Insects**, Fukuoka-shi v. 8, n. 2, p. 59, 2017.
- CAMERON, R. S. Potential baits for control of the Texas leaf-cutting ant, *Atta texana* (Hymenoptera: Formicidae). **Applied myrmecology: a world perspective**. Westview, Boulder, San Francisco, Oxford, p. 628-637, 1990.
- CRUZ-LANDIM, C.; MOTA, M.H.V. Occurrence of tegumentary glands in stingless bees (Hymenoptera, Apidae, Meliponinae). In: VEERESH, G.K.; MALLIK, B.; VIRAKTAMATH, C.A. (eds.). **Social insects and the environment**, New Delhi, Oxford & IBH Publishing Co, 1990, p. 765.
- DECIO, P. et al. Toxicological and histopathological effects of hydramethylnon on *Atta sexdens rubropilosa* (Hymenoptera:Formicidae) workers. **Micron**, Amsterdã, v. 45, p. 22-31, 2013.

DELAGE-DARCHEN, B. Les glandes post-pharyngiennes des fourmis connaissances actuelles sur leur structure, leur fonctionnement, leur rôle. **Anales de Biologia**, [s.1] v. 15, n. 1-2, p. 63-76, 1976.

DELLA LUCIA, T. M. C. Hormigas de importancia económica en la región Neotropical. *In*: FERNÁNDEZ, F. (ed.). **Introducción a las hormigas de la región Neotropical**. Bogotá, Instituto de Investigación de Recursos Biológicos Alexander von Humboldt, 2003. p. 342-349.

DELLA LUCIA, T. M. C. **Formigas cortadeiras: Da bioecologia ao manejo**. Viçosa, MG: Ed. da UFV, 2011. 419 p.

DINIZ, E. A. et al. Evolution of substrate preparation behaviors for cultivation of symbiotic fungus in Attine ants (Hymenoptera: Formicidae). California, **Journal of insect behavior**, California, v. 23, n. 3, p. 205 - 214, 2010.

ECHOLS, H. W. Assimilation and transfer of mirex in colonies of Texas leaf-cutting ants. **Journal of Economic Entomology**, Lanham, v. 59, n. 6, p. 1336 -1338, 1966.

FORBES, J.; MCFARLANE, A. M. The comparative anatomy of digestive glands in the female castes and the male of *Camponotus pennsylvanicus*, Degeer (Formicidae, Hymenoptera). **Journal of the New York Entomological Society**, New York, v. 69, n. 2, p. 92-103, 1961.

FORTI, L. C.; NAGAMOTO, N.S.; PRETTO, D.R. Controle de formigas cortadeiras com isca granulada. *In*: BERTI FILHO, E.; MARCONI, F. A. M.; FONTES, L.R. (ed.). **Anais do simpósio sobre formigas cortadeiras dos países do Mercosul**. Piracicaba, FEALQ, 1998. p. 113-132.

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

FORTI, L. C. et al. Contamination Route of Leaf-Cutting Worker Ants Analyzed Through a Fat-Soluble Tracer Dye in Toxic Bait. **Neotropical Entomology**, Londrina, v. 48, n.2, p. 349-355, 2019.

GAMA, V. O sistema salivar de *Camponotus (Myrmothrix) rufipes* (Fabricius, 1775), (Hymenoptera: Formicidae). **Revista Brasileira de Biologia**, São Paulo, v. 45, n. 3, p. 317-359, 1985.

GHANIM, M; ISHAAYA, I. Insecticides with novel modes of action: mechanism and resistance management. *In*: **Tolerance to environmental contaminants**. CRC Press, 2011. p. 390-412.

HÖLLDOBLER, B.; WILSON, E.O. **The ants**. Berlin: Springer-Verlag, 1990. 732p.

LIMA, C. A. et al. Development of granulated baits with alternative attractants to *Atta bisphaerica* Forel (Hymenoptera: Formicidae) and their acceptance by workers. **Neotropical Entomology**, Londrina, v. 32, n. 3, p. 497-501, 2003.

MARTIN, P.; BATESON, P. **Measuring behaviour**: an introductory guide. Cambridge: Cambridge University Press, 1986.

McCANN, S. F. et al. The discovery of indoxacarb: oxadiazines as a new class of pyrazoline- type insecticides. **Pest Management Science**, West Sussex, v. 57, p. 153-164, 2001.

PUBCHEM. Disponível em:

<<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/substance/329770013#section=Top> > Acesso em 23/01/2019).

SALGADO, V. L. Mode of action of insecticidal dihydropyrazoles: selective block of impulse generation in sensory nerves. **Pesticide science**, New York, v. 28, n. 4, p. 389-411, 1990.

SILVA, L.C. et al. Do *Atta sexdens rubropilosa* workers prepare leaves and bait pellets in similar ways to their symbiotic fungus? **Sociobiology**, Chico, v. 62, n. 4 p. 484- 493, 2015.

SILVA, M. S. **Ação tóxica de ingredientes ativos em *Atta sexdens rubropilosa* Forel, 1908 (Hymenoptera: Formicidae) visando seu emprego em iscas Formicidas**. 2012. 100 p. Dissertação (Mestrado em Agronomia - Proteção de Plantas). Faculdade de Ciências Agrônômicas. Universidade Estadual Paulista, 2012.

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

SCHNELLMAN, R. G.; MANNING, R. O. Perfluooctane sulfonamide: a structure novel uncoupler of oxidative phosphorylation. **Biophysica Acta**, Amsterdã, v. 1060, p. 344-348, 1990.

STEFANELLI, L. E. P. et al. Avaliação do carregamento de iscas de origem botânica. In: XIII Workshop de plantas medicinais de Botucatu: Em busca de produtos naturais bioativos, 13, 2018. Botucatu **Anais...Botucatu**, Instituto de Biociências, 2018, p. 23.

STROHM, E. KALTENPOH, M; HERZNER, G. Is the postpharyngeal gland of a solitary digger wasp homologous to ants? Suíça, **Insects Sociaux**, v.57, p. 287-291, 2010.

ROBINSON, S. W. Leaf-cutting ant control schemes in Paraguay, 1961–1977. Some failures and some lessons. **Pans**, v. 25, n. 4, p. 386-390, 1979.

WHEELER, D.E. Nourishment in ants: patterns in individuals and societies. In: HUNT, J.H.; NAPELA, C.A. (Eds.). *In: Nourishment and evolution in insect societies*. Colorado, Westview Press, p. 245-278, 1926.

WING, K. D. et al. Bioactivation and mode of action of the oxadiazine indoxacarb in insects. **Crop Protection**, Amsterdã, v. 19, p. 537-545, 2000.

WILSON, E. O. Caste and division of labor in leaf-cutter ants (Hymenoptera: Formicidae: *Atta*). **Behavioral Ecology and Sociobiology**, Heidelberg, v. 7, p. 143 - 156, 1980.

CAPÍTULO 2: APLICAÇÃO DE ISCAS GRANULADAS COM MENORES CONCENTRAÇÕES DE INDOXACARBE PARA AVALIAR SUA POTENCIALIDADE NO CONTROLE DE FORMIGAS CORTADEIRAS

RESUMO

Este estudo buscou obter uma concentração ideal do inseticida indoxacarbe para o controle de formigas cortadeiras da espécie *Atta sexdens rubropilosa*, a partir das diferentes concentrações utilizadas na confecção das iscas tóxicas granuladas. Neste caso também estudar um pouco mais sobre a contaminação das operárias de formigas cortadeiras com este ingrediente ativo de ação rápida. A hipótese abordada tentar ajustar uma concentração que seja altamente recomendada para o controle destes insetos. Para analisar a contaminação das operárias foi adicionado na formulação, um corante traçador lipossolúvel (Sudam III, 5%), afim de avaliar a proporção de operárias coradas de acordo com a cápsula cefálica, e suas estruturas morfológicas internas coradas, neste estudo a estrutura analisada foi a glândula da pós-faringe. As iscas formicidas foram fornecidas para colônias da espécie *Atta sexdens rubropilosa* (com volume aproximado de 1L de esponja fúngica) em condições de laboratório. Foram utilizados cinco tratamentos: controle (2,0 mm); controle + corante (2,0mm); sulfluramida [0,30%] (2,0 mm) e indoxacarbe [0,025%; 0,05% e 0,10%]. Os tratamentos foram divididos em três grupos: i) controle; ii) sulfluramida [0,3%], (padrão) e iii) indoxacarbe (diferentes concentrações). As iscas granuladas foram aplicadas na dose de 1,5 g /colônia. Para cada grupo de tratamento avaliado foram retiradas 200 operárias das colônias para dissecação e observação a partir do corante. As concentrações de indoxacarbe inferiores a 0,10% não geraram controle efetivo de formigas cortadeiras em condições de laboratório.

Palavras-chave: isca tóxica. indoxacarbe. sulfluramida.

CHAPTER 2: APPLICATION OF GRANULATED ISCAS WITH MINOR INDOXACARBE CONCENTRATIONS TO EVALUATE ITS POTENTIALITY IN THE CONTROL OF LEAF CUTTING ANTS

ABSTRACT

This study aims to obtain an ideal concentration of the indoxacarb insecticide for the control of cutter ants of the species *Atta sexdens rubropilosa*, from the different concentrations used in the manufacture of granulated toxic baits. In this case also to study a little more about the contamination of the workers of leaf-cutting ants with this active ingredient of fast action. The hypothesis addressed attempts to adjust a concentration that is highly recommended for the control of these insects. A liposoluble tracer dye (Sudam III, 5%) added to the formulation in order to evaluate the proportion of workers stained according to the cephalic capsule and their internal morphological structures stained, in this study the analyzed structure was the post-pharyngeal gland. Formicidal baits supplied to colonies of the species *Atta sexdens rubropilosa* (with an approximate volume of 1L of fungal sponge) under laboratory conditions. Five treatments were used: control (2.0 mm); control + dye (2.0mm); sulfluramide [0.30%] (2.0 mm) and indoxacarbe [0.025%; 0.05% and 0.10%]. The treatments divided into three groups: i) control; ii) sulfluramide [0.3%], (standard) and iii) indoxacarb (different concentrations). The granulated baits applied at a dose of 1.5 g / colony. For each treatment group evaluated, 200 workers removed from the colonies for dissection and observation from the dye. The concentrations of indoxacarb of less than 0.10% did not generate effective control of leaf-cutting ants under laboratory conditions.

Keywords: toxic bait. indoxacarb. sulfluramid.

2.1 INTRODUÇÃO

As formigas cortadeiras são pragas de muita importância no reflorestamento brasileiro (ANJOS et al, 1993), os gêneros *Atta* spp. e *Acromyrmex* spp. causam intensa desfolha de espécies florestais nativas ou exóticas, podendo ocasionar grandes perdas econômicas. A dificuldade no controle das formigas cortadeiras pode afetar drasticamente a produtividade e rentabilidade florestal, gerando grandes perdas econômicas, em vista de que as formigas do gênero *Atta*, conhecidas popularmente como “saúvas” e as pertencentes ao gênero *Acromyrmex* as “quenquéns” apresentam grande distribuição no território brasileiro.

São reconhecidas por carregarem materiais vegetais para as câmaras internas de seus ninhos, que servem de substrato para o desenvolvimento do fungo simbiote do qual retiram seu alimento e que representa fonte primária de energia para os indivíduos da colônia (DELLA LUCIA, 2011; BRITTO et al., 2016).

Devido a essa característica é necessário realizar o monitoramento e controle destes insetos, que apesar de também desempenharem funções benéficas nos ecossistemas como a ciclagem de nutrientes, aeração do solo e conservação da biodiversidade, podem causar intensas desfolhas nos cultivos agrícolas e florestais. Diante do ataque das formigas cortadeiras, é necessário a adoção de algumas estratégias, técnicas específicas e métodos de controle adequados para que as densidades populacionais destes insetos permaneçam em níveis populacionais onde não ocorram grandes perdas econômicas.

As iscas tóxicas granuladas são o método de controle mais empregado e difundido para formigas cortadeiras devido à sua grande eficácia, baixo risco de contaminação ao aplicador, facilidade de aplicação e economicamente viável, visto que poucas gramas de isca são capazes de realizar o controle do formigueiro, além de não exigir uma mão de obra extremamente treinada para realizar a operação de controle.

As iscas tóxicas são aplicadas diretamente no solo próximas às áreas de forrageamento e olheiros dos ninhos, para serem transportadas e distribuídas dentro da colônia, que representa um superorganismo, contaminando as operárias da colônia

por contato e ingestão do ingrediente ativo (LARANJEIRO & ZANUNCIO, 1995; GRANDA et al., 2016).

Considerando a importância das formigas cortadeiras como pragas, principalmente do setor florestal, o conhecimento sobre o processo pelo qual a dispersão do ingrediente ativo (IA) ocorre dentro das colônias é fundamental.

O desenvolvimento da isca formicida ideal deve preencher alguns requisitos como: os princípios ativos devem ser letais em concentrações baixas e não exterminar rapidamente as formigas em elevadas concentrações, para que desta forma exista um tempo para a disseminação do produto; ser um inseticida que atue por ingestão, com ação lenta, com pouca ou nenhuma ação de contato; não ser repelente; facilmente difundido pelas operárias; rápida degradação e baixa toxicidade para vertebrados e ambientalmente aceito (NAGAMOTO et al., 1998), além de paralisar a atividade do corte em um período posterior a aplicação.

Atualmente a sulfluramida preenche todos esses requisitos, no entanto recentemente, o FSC (Forest Stewardship Council – Conselho de Manejo Florestal) publicou uma lista considerando quais são esses pesticidas classificados como “altamente perigosos”, considerando seus riscos ao ambiente e à saúde humana. Nessa última lista estavam inclusos deltametrina, fipronil e sulfluramida como Poluentes Orgânicos Persistentes (POP), (FSC, 2017) sendo a sulfluramida o ingrediente ativo mais aplicado e difundido no controle de formigas cortadeiras pelos produtores e empresas florestais.

Diante deste cenário, onde o FSC representa um selo de certificação mundial, as indústrias e centros de pesquisa já estão se mobilizando pela busca por alternativas no controle de formigas cortadeiras, no entanto encontrar novos inseticidas sintéticos menos tóxicos não é uma tarefa fácil, em alguns casos a molécula pode não ser adequada ao tipo de formulação utilizada, entre outros fatores. Além de que esse tipo de pesquisa é dispendioso em termos de recursos humanos e financeiros.

Considerando toda essa problemática envolvendo o controle químico, a prospecção de novos ingredientes ativos, é fundamental para que exista uma menor dependência da sulfluramida, desta forma este estudo visa a formulação de iscas tóxicas granuladas à base de indoxacarbe com diferentes concentrações avaliando

sua potencialidade de ação no combate de formigas cortadeiras, representando assim uma nova alternativa no atual método de controle utilizado.

2.2 MATERIAIS E MÉTODOS

As colônias usadas neste experimento foram coletadas em na cidade de Botucatu e armazenadas no Laboratório de Insetos Sociais-Praga (LISP), integrante do Departamento de Produção Vegetal (DPV) da Faculdade de Ciências Agrônômicas (FCA) - UNESP, Campus Botucatu-SP.

Para as observações, 25 colônias com volume aproximado de 1000 mL de esponja fúngica foram utilizadas. As colônias estudadas foram armazenadas em recipientes cilíndricos de plástico transparente e mantidas a uma temperatura (T °C) de 22 ± 2 °C e umidade relativa (UR%) em torno de $70 \pm 10\%$.

Para manutenção da umidade do jardim de fungo, os recipientes de armazenamento continham uma camada de 1,0 cm de gesso na sua base inferior; foi necessário furar dois lados opostos dos recipientes (diâmetro do furo = 1,8 cm) para realizar as conexões com os compartimentos referentes à arena de forrageamento e descarte de resíduos. Esses dois compartimentos, eram compostos por recipientes plásticos de 250 mL e foram conectados à colônia utilizando um tubo plástico (comprimento total = 30 cm)

É importante neste caso que existam recipientes distintos para fornecimento do substrato (folha ou isca) e resíduos (formigas mortas, substratos contaminados e etc). Como substrato vegetal para manutenção da esponja fúngica, utilizou-se *Acalypha* sp.

Para as avaliações, as castas das formigas foram definidas de acordo com aquela proposta em Wilson, (1980), onde os indivíduos são classificados de acordo com o tamanho da cápsula encefálica. As jardineiras, que continham largura de cabeça entre 0,8 e 1,2 mm e as generalistas que apresentavam largura de cabeça entre 1,3 e 1,6 mm. Esses dois tamanhos de cápsula encefálica foram categorizados como pequenas e médias respectivamente.

O sistema de observação seguiu como uma proposta adaptada de escaneamento descrito por Martin & Bateson, (1986), em que um grupo de indivíduos é analisado rapidamente e o comportamento de cada um deles é registrado. As observações foram realizadas em intervalos regulares de vinte minutos.

Os comportamentos realizados pelas operárias durante o crescimento da esporo fúngica foram categorizados como: Onde: (C1) transporte do pellet para o jardim de fungo; (C2) segurar o pellet; (C3) lambem o pellet; (C4) repicar o pellet em fragmentos menores; (C5) incorporação no jardim de fungo; (C6) deposição de hifas sobre fragmentos incorporados. Esses comportamentos foram quantificados pela frequência das operárias envolvidas em cada um deles.

Para verificação da normalidade dos dados foi realizada uma análise estatística de Shapiro-Wilk, teste W, foi conduzida de forma preliminar. Como a análise não identificou uma normalidade, os dados comportamentais foram submetidos a um teste não paramétrico – neste caso foi aplicado um teste de Kruskal-Wallis - e, se o índice de significância fosse alcançado, cada grupo seria comparado pelo pós-teste de Student-Newman-Keuls, com 5% de significância.

2.2.1 Preparações das iscas

As iscas foram formuladas de acordo com a metodologia de Boaretto (2000). O substrato atrativo foi o pó de polpa cítrica e óleo refinado de soja foram utilizados para a obtenção de uma matriz de características semelhantes à comercial, seguindo a premissa quanto à composição e a forma peletizada, neste caso a formulação da isca deveria ter um aspecto muito próximo da qualidade industrial. A polpa cítrica foi seca em forno a 50 ° C por um período de 24 h, depois moída, colocada em peneira de malha fina. As iscas foram preparadas seguindo os procedimentos de pesagem dos materiais, mistura manual até a homogeneização, em proporções semelhantes às iscas comerciais de tóxicas. Foram feitas iscas com corante e sem ingrediente ativo além do tratamento controle que foi representado pela ausência de corante e ingrediente ativo.

Sendo o controle composto por: 80% de polpa cítrica em pó; 15% de carboximetilcelulose (CMC) e 5% de óleo de soja. O grupo controle mais adição do corante traçador: 75% de polpa cítrica em pó; 15% de CMC; 5% do Sudam III (Sigma Aldrich); e 5% de óleo de soja, este tratamento foi realizado para verificar se a presença do corante poderia de alguma forma interferir na mortalidade dos insetos. As últimas formulações das iscas foram utilizando: 74,7% de polpa cítrica em pó; 15 % de CMC; 5 % de óleo de soja; 5% do Sudam III (Sigma Aldrich); e 0,3% de n-etil-

perfluoro-octana-sulfonamida (ingrediente ativo - IA), e finalmente a formulação para o indoxacarbe que era composta por: 0,10 % 0; 0,05% e 0,025 % de IA. Para facilitar homogenização foi adicionada água destilada até o na mistura, deixando material com consistência pastosa, para ser possível utilizar o picador de carne.

Depois que todos esses ingredientes foram misturados, a solução pastosa foi colocada em um picador de carne modelo CAF 5 INOX, com as seguintes características técnicas: motor (1/4 cv) e dimensões: 370 mm de comprimento, 220 mm de largura e 245 mm de altura. Foi utilizado um disco com a furação de 2,0 mm.

Após o material passar pelo disco (anel), essa matriz sofreu uma secagem pelo período de 24 horas, posteriormente os pellets foram cortados em iscas de aproximadamente 0,3 cm de comprimento. Após as iscas ficarem secas os diâmetros correspondentes a cada tratamento ficaram com as seguintes medidas:

T1 -- $1,74 \pm 0,12$ mm;

T2 -- $1,79 \pm 0,15$ mm;

T3 – $1,80 \pm 0,19$ mm.

T4 -- $1,75 \pm 0,21$ mm

T5 -- $1,76 \pm 0,14$ mm;

2.2.2 Delineamento experimental

O delineamento experimental foi inteiramente casualizado, constituído por oito tratamentos com cinco colônias da espécie *Atta sexdens rubropilosa* onde cada colônia representava uma repetição. Estas colônias tinham aproximadamente 1000 mL de cultura fúngica, e houve uma provisão de 1,5 g de isca para cada tratamento no dia da aplicação, As iscas foram ofertadas no recipiente referente ao alimentador (arena de forrageamento) somente no 1º dia do experimento e os tratamentos foram definidos conforme discriminados na Tabela 1.

Tabela 1 - Tratamentos e formulações utilizadas.

Tratamentos	Formulação utilizada
Tratamento 1 (T1)	Isca sem tóxico + corante + Polpa Cítrica + corante
Tratamento 2 (T2)	Isca 0,10% indoxacarbe + corante + Polpa Cítrica

Tratamento 3 (T3)	Isca 0,05% indoxacarbe + corante + Polpa Cítrica
Tratamento 4 (T4)	Isca 0,025% indoxacarbe + corante + Polpa Cítrica
Tratamento 5 (T5)	Isca 0,30 % sulfluramida + corante + Polpa Cítrica

Foram realizadas avaliações aos 2, 3, 5, 7, 9, 11, 14, 17 e 21 dias (DAA -dias após aplicação), para mensurar o desempenho de cada tratamento, avaliando os seguintes parâmetros: taxa de carregamento, taxa de incorporação das iscas no jardim de fungos, corte de folhas, sintomas de intoxicação e finalmente mortalidade.

Os principais comportamentos realizados pelas operárias de *Atta sexdens rubropilosa* foram categorizados e, em seguida, as frequências de ocorrência desses atos comportamentais e suas porcentagens foram calculadas. Esses cálculos foram também feitos em concordância com a categoria de tamanho das operárias que realizaram os comportamentos.

Onde: (C1) transporte do pellet para o jardim de fungo; (C2) segurar o pellet; (C3) lambar o pellet; (C4) repicar o pellet em fragmentos menores; (C5) incorporação no jardim de fungo; (C6) deposição de hifas sobre fragmentos incorporados.

2.2.3 Análise da glândula pós-faríngea

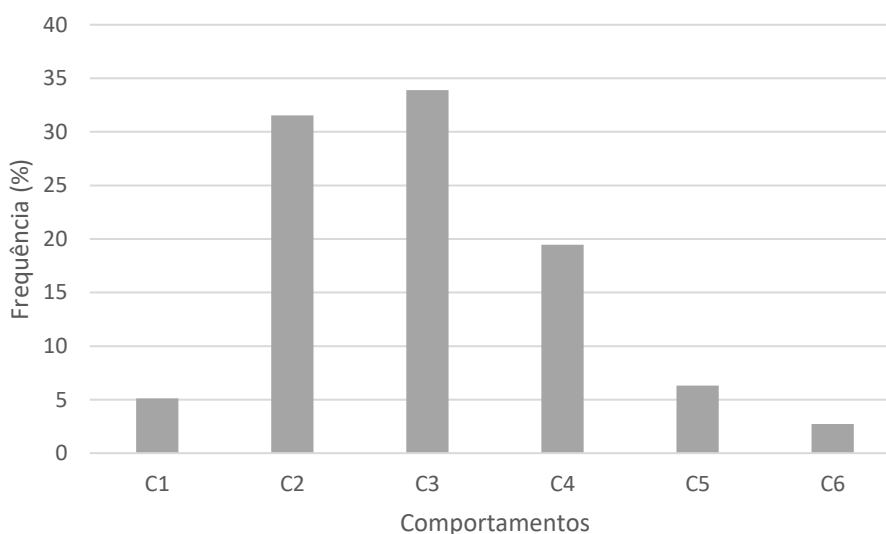
Nesta análise seguiu-se a mesma proposta adotada no Capítulo I, para a realização desta etapa do experimento, foram utilizados os 5 tratamentos. Todos os tratamentos continham o corante traçador (Sudam III), e a expectativa era encontrar essa substância depois do processo de dissecação. Após 72 horas da aplicação dos pellets, as colônias foram abertas e 50 operárias de cada colônia foram coletadas, totalizando 250 operárias (5 repetições para cada tratamento).

As cabeças das operárias foram dissecadas com tesoura, pinça e fórceps entomológicos em soro fisiológico sob um microscópio estereoscópico. As operárias foram categorizadas de acordo com a presença ou ausência de uma glândula pós-faríngea corada.

2.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

O comportamento mais frequentemente observado para o Tratamento 1, foi o de lambar a superfície do pellet, que representou 38,39% de todos os comportamentos executados, seguidos de segurar o pellet com o valor de 29,65%; repicar o pellet, 18,04 %; incorporação, 6,4%; transporte, 5,18% deposição de hifas, 2,34%, conforme a Figura 1.

Figura 1. Atos comportamentais T1 (%).



Da mesma forma que o experimento anterior o comportamento mais observado foi de lambar a superfície do pellet.

Um teste de Kruskal-Wallis foi realizado para verificar se houve diferença de frequência entre os seis atos comportamentais estudados. O teste não paramétrico de Kruskal-Wallis rejeitou a hipótese de que todos os comportamentos teriam a mesma distribuição, houve, portanto, diferença estatística significativa entre os atos comportamentais realizados pelas operárias pequenas (Kruskal-Wallis, $H = 28,6441$, $GL = 7$, $(p) = 0,05$). Os comportamentos como: lambar os pellets, incorporar os pellets e deposição de hifas diferiram estatisticamente (Tabela 2). E para o grupo de operárias médias, houve diferença estatística significativa entre os atos comportamentais realizados pelas operárias (Kruskal-Wallis, $H = 36,1277$, Graus de liberdade = 7, $(p) = 0,05$), os comportamentos transporte e segurar o pellet diferiram estatisticamente segurar o pellet, além lambar os pellets, repicar os pellets e incorporação (Tabela 2).

Tabela 2 - - Comparação pareada de atos comportamentais realizados por pequenas e médias operárias de *A. sexdens* -T1

Comportamentos	C1		C2		C3		C4		C5		C6	
	P	M	P	M	P	M	P	M	P	M	P	M
C1	-	-										
C2	ns	*	-	-								
C3	ns	ns	*	*	-	-						
C4	ns	ns	ns	*	*	ns	-	-				
C5	ns	ns	ns	ns	*	ns	ns	ns	-	-		
C6	ns	ns	ns	ns	*	ns	ns	ns	ns	ns	-	-

(P) operárias pequenas; (M) operárias médias; (C1) transporte do pellet para o jardim de fungo; (C2) segurar o pellet; (C3) lambar o pellet; (C4) repicar o pellet em fragmentos menores; (C5) incorporação no jardim de fungo; (C6) deposição de hifas sobre fragmentos incorporados.

(*) significativo a 5%; (ns) não significativo.

O comportamento mais frequentemente observado para o Tratamento 2, foi o de lambar a superfície do pellet, que representou 35,52% de todos os comportamentos executados, seguidos de segurar o pellet com o valor de 26,43%; repicar o pellet, 22,06 %; incorporação, 5,80%; transporte, 7,15% deposição de hifas, 3,04%, conforme a Figura 2. Notou-se ainda, neste tratamento, que a presença do corante traçador na formulação do substrato, não interferiu nas etapas de transporte e processamento do pellet, não causando efeitos antagônicos para as operárias deste tratamento.

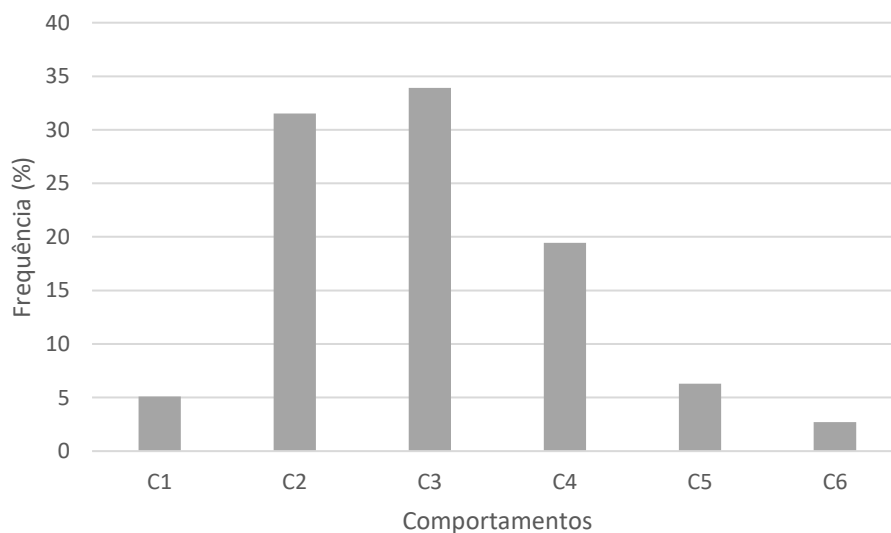
C1	-	-								
C2	ns	*	-	-						
C3	ns	*	*	*	-	-				
C4	ns	ns	ns	*	*	ns	-	-		
C5	ns	ns	ns	ns	*	ns	ns	ns	-	-
C6	ns	ns	ns	ns	*	ns	ns	ns	ns	-

(P) operárias pequenas; (M) operárias médias; (C1) transporte do pellet para o jardim de fungo; (C2) segurar o pellet; (C3) lambar o pellet; (C4) repicar o pellet em fragmentos menores; (C5) incorporação no jardim de fungo; (C6) deposição de hifas sobre fragmentos incorporados.

(*) significativo a 5%; (ns) não significativo.

O comportamento mais frequentemente observado para o Tratamento 3, foi o de lambar a superfície do pellet, que representou 37,12% de todos os comportamentos executados, seguidos de segurar o pellet com o valor de 30,42%; repicar o pellet, 13,05 %; incorporação, 8,66%; transporte, 7,21 % deposição de hifas, 3,54%, conforme a Figura 3.

Figura 3. Atos comportamentais T3 (%)



No tratamento 3, foi observada uma boa incorporação do substrato (pellet), além do destaque novamente para o ato comportamental de lambar a superfície do pellet.

Um teste de Kruskal-Wallis foi realizado para verificar se houve diferença de frequência entre os seis atos comportamentais estudados. O teste não paramétrico de Kruskal-Wallis rejeitou a hipótese de que todos os comportamentos teriam a mesma distribuição, houve, portanto, diferença estatística significativa entre os atos comportamentais realizados pelas operárias pequenas (Kruskal-Wallis, $H = 43,3174$, $GL = 7$, $(p) = 0,05$). Os comportamentos como: lambar os pellets, incorporar pellets e deposição de hifas diferiram estatisticamente (Tabela 4). E para o grupo de operárias médias, houve diferença estatística significativa entre os atos comportamentais realizados pelas operárias (Kruskal-Wallis, $H = 75,5611$, $GL = 7$, $(p) = 0,05$), analisando os comportamentos de transporte, segurar o pellet, lambar os pellets, e repicar os pellets (Tabela 4).

Tabela 4 - Comparação pareada de atos comportamentais realizados por pequenas e médias operárias de *A. sexdens* –T3.

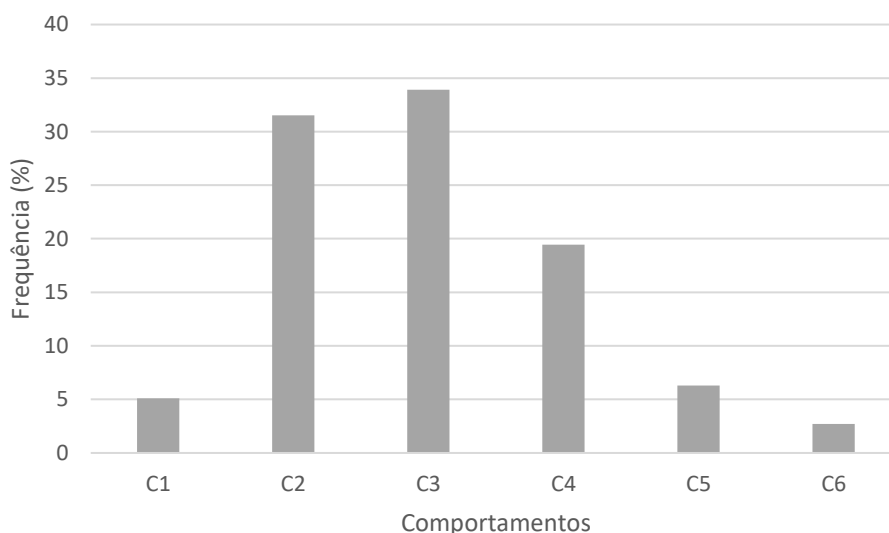
	C1		C2		C3		C4		C5		C6	
Comportamentos	P	M	P	M	P	M	P	M	P	M	P	M
C1	-	-										
C2	ns	*	-	-								
C3	ns	ns	*	ns	-	-						
C4	ns	ns	ns	*	*	ns	-	-				
C5	ns	ns	ns	*	*	ns	ns	ns	-	-		
C6	ns	ns	ns	*	ns	*	ns	ns	ns	ns	-	-

(S) operárias pequenas; (M) operárias médias; (C1) transporte do pellet para o jardim de fungo; (C2) segurar o pellet; (C3) lambar o pellet; (C4) repicar o pellet em fragmentos menores; (C5) incorporação no jardim de fungo; (C6) deposição de hifas sobre fragmentos incorporados.

(*) significativo a 5%; (ns) não significativo.

O comportamento mais frequentemente observado para o Tratamento 4, foi o de lambrer a superfície do pellet, que representou 35,91% de todos os comportamentos executados, seguidos de segurar o pellet com o valor de 29,33%; repicar o pellet, 20,45 %; incorporação, 5,20%; transporte, 5,20% deposição de hifas, 2,91%, conforme a Figura 4.

Figura 4. Atos comportamentais T4 (%).



Um teste de Kruskal-Wallis foi realizado para verificar se houve diferença de frequência entre os seis atos comportamentais estudados. O teste não paramétrico de Kruskal-Wallis rejeitou a hipótese de que todos os comportamentos teriam a mesma distribuição, houve, portanto, diferença estatística significativa entre os atos comportamentais realizados pelas operárias pequenas (Kruskal-Wallis, $H = 63,3331$, $GL = 7$, $(p) = 0,05$). Os comportamentos como: lambrer os pellets, incorporar pellets e deposição de hifas diferiram estatisticamente (Tabela 5). E para o grupo de operárias médias, houve diferença estatística significativa entre os atos comportamentais realizados pelas operárias (Kruskal-Wallis, $H = 55,9213$, $GL = 7$, $(p) = 0,05$), analisando os comportamentos de transporte, segurar o pellet, lambrer os pellets, e repicar os pellets (Tabela 5).

Tabela 5 - Comparação pareada de atos comportamentais realizados por pequenas e médias operárias de *A. sexdens* –T4.

C1	C2	C3	C4	C5	C6
----	----	----	----	----	----

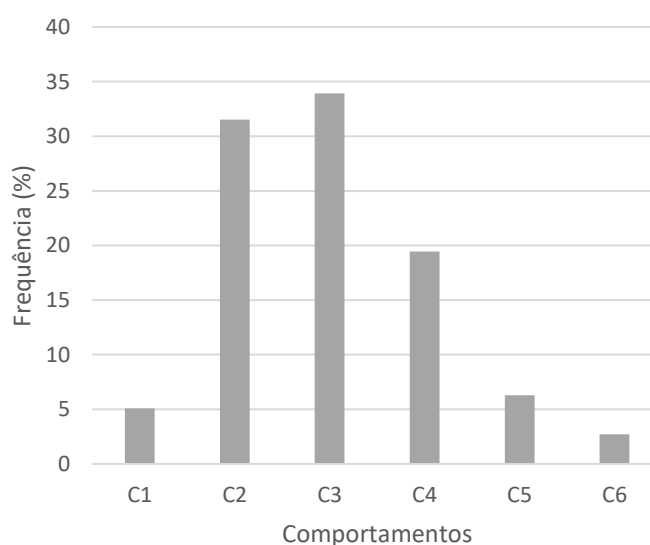
Comportamentos	P	M	P	M	P	M	P	M	P	M	P	M
C1	-	-										
C2	ns	*	-	-								
C3	ns	ns	*	*	-	-						
C4	ns	ns	ns	ns	*	*	-	-				
C5	ns	ns	ns	ns	*	*	ns	ns	-	-		
C6	ns	ns	ns	ns	*	ns	ns	ns	ns	ns	-	-

(P) operárias pequenas; (M) operárias médias; (C1) transporte do pellet para o jardim de fungo; (C2) segurar o pellet; (C3) lambar o pellet; (C4) repicar o pellet em fragmentos menores; (C5) incorporação no jardim de fungo; (C6) deposição de hifas sobre fragmentos incorporados.

(*) significativo a 5%; (ns) não significativo.

O comportamento mais frequentemente observado para o Tratamento 5, foi o de lambar a superfície do pellet, que representou 33,91% de todos os comportamentos executados, seguidos de segurar o pellet com o valor de 31,53%; repicar o pellet, 19,45 %; incorporação, 6,30%; transporte, 5,10% deposição de hifas, 2,71%, conforme a Figura 5.

Figura 5. Atos comportamentais exibidos T5 (%).



Um teste de Kruskal-Wallis foi realizado para verificar se houve diferença de frequência entre os seis atos comportamentais estudados. O teste não paramétrico de Kruskal-Wallis rejeitou a hipótese de que todos os comportamentos teriam a mesma distribuição, houve, portanto, diferença estatística significativa entre os atos comportamentais realizados pelas operárias pequenas (Kruskal-Wallis, $H = 74,2391$, $GL = 7$, $(p) = 0,05$). Os comportamentos como: lamber os pellets, incorporar pellets e deposição de hifas diferiram estatisticamente (Tabela 6). E para o grupo de operárias médias, houve diferença estatística significativa entre os atos comportamentais realizados pelas operárias (Kruskal-Wallis, $H = 81,3411$, $GL = 7$, $(p) = 0,05$), analisando os comportamentos de transporte, segurar o pellet, lamber os pellets, e repicar os pellets (Tabela 6).

Tabela 6 -- Comparação pareada de atos comportamentais realizados por pequenas e médias operárias de *A. sexdens* –T5.

	C1		C2		C3		C4		C5		C6	
Comportamentos	P	M	P	M	P	M	P	M	P	M	P	M
C1	-	-										
C2	ns	*	-	-								
C3	ns	ns	*	*	-	-						
C4	ns	ns	ns	ns	*	*	-	-				
C5	ns	ns	ns	ns	*	*	ns	ns	-	-		
C6	ns	ns	ns	ns	*	ns	ns	ns	ns	ns	-	-

(P) operárias pequenas; (M) operárias médias; (C1) transporte do pellet para o jardim de fungo; (C2) segurar o pellet; (C3) lamber o pellet; (C4) repicar o pellet em fragmentos menores; (C5) incorporação no jardim de fungo; (C6) deposição de hifas sobre fragmentos incorporados.

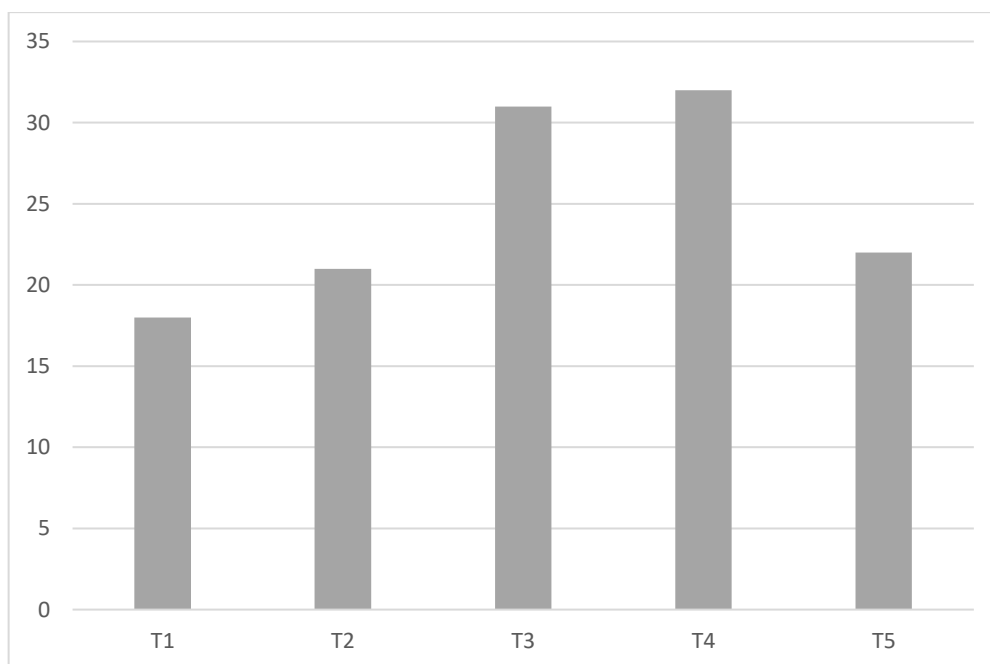
(*) significativo a 5%; (ns) não significativo.

Notou-se grande similaridade nos valores encontrados para os diferentes tratamentos; comportamentos com lamber o pellet e segurar o substrato foram os mais frequentes e o tratamento T3 apresentou os maiores valores de incorporação.

2.3.1 Carregamento das iscas

Nesta avaliação foi avaliada a taxa de carregamento das iscas, o cronograma de observação durou um período total de 12 horas. A avaliação deste ato comportamental é muito importante pois indica a atratividade da isca tóxica granulada utilizada. Fatores como o carregamento e a devolução de partículas podem indicar se o substrato utilizado é aceitável para o controle. Se por alguma razão as formigas cortadeiras perceberem alguma anormalidade na isca carregada isso pode prejudicar o processo de carregamento. De acordo com Stefanelli (et al. 2018) o carregamento representa um fator importante para a formulação de iscas formicidas e devem ser realizadas pesquisas com outros compostos de melhor atratividade e menor repelência ao inseto, para que desta forma, o controle continue efetivo. No período total de 12 horas, todas as iscas foram carregadas e não houve devolução nas primeiras 24 horas. Na Figura 6, é demonstrado o tempo médio de carregamento para cada tratamento.

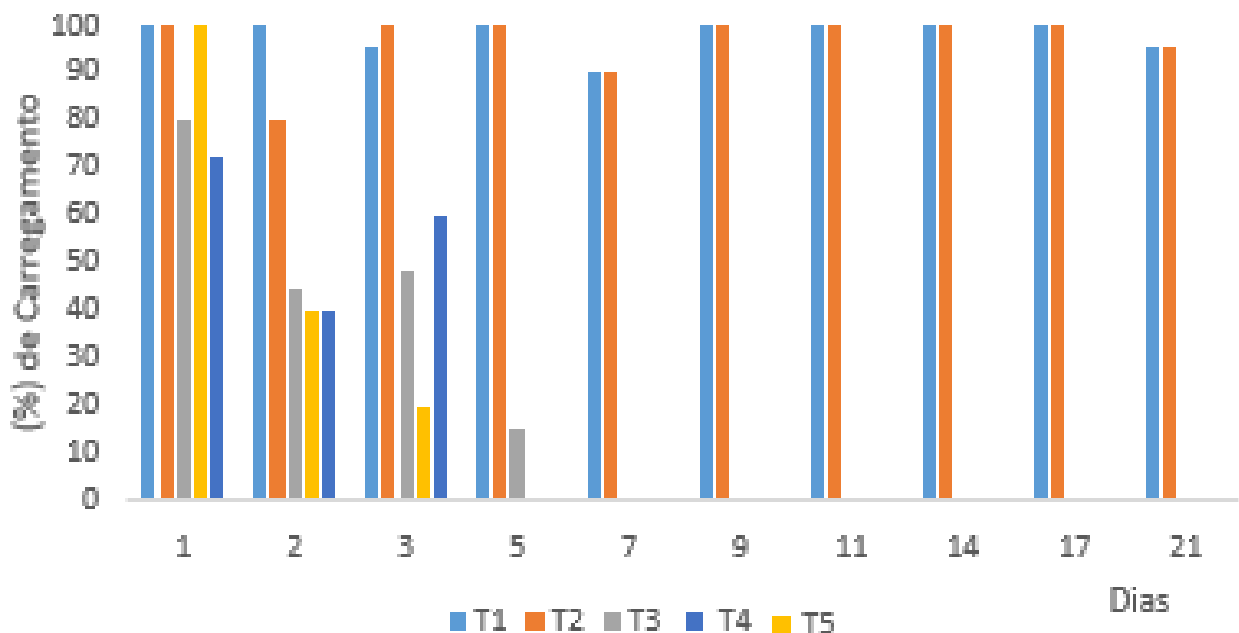
Figura 6. Tempo médio de carregamento das iscas.



2.3.2 Carregamento das folhas

O carregamento das folhas foi descrito conforme a Figura 7, para cada tratamento ao longo dos 21 dias de avaliação.

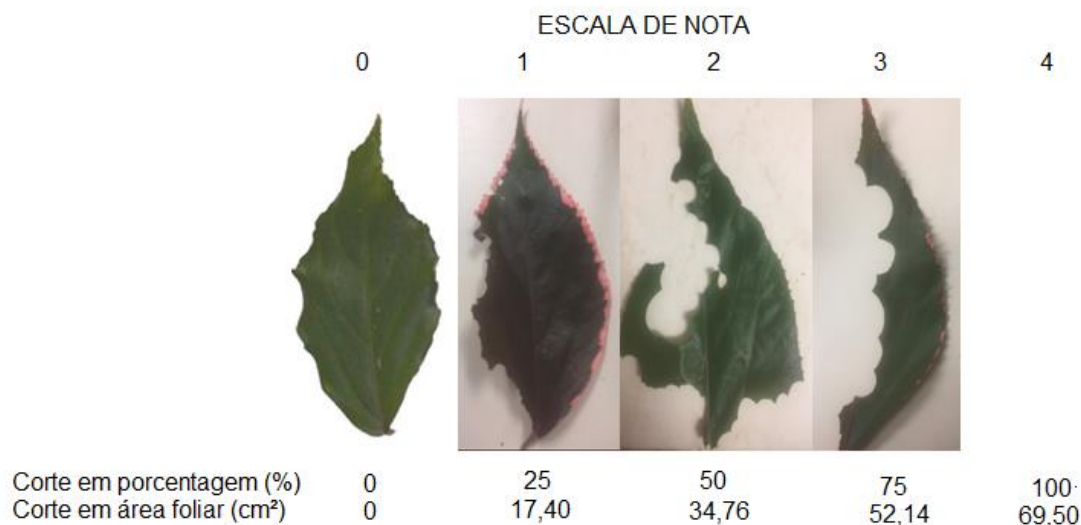
Figura 7. Carregamento das folhas.



Nota-se que o carregamento das folhas diminui com o passar dos dias de avaliação, para os tratamentos principalmente para T3 e T5, esta queda da atividade de forrageamento é explicada principalmente pela ação do inseticida.

2.3.3 Corte das folhas.

Para avaliar o corte de folhas, foi escolhida a mesma proposta por Silva (2012). Neste caso foi utilizada uma escala de notas que variavam de 0 até 4 conforme a Figura ,8 para analisar o corte das folhas de *Acalypha* sp. oferecidas para as operárias das colônias estudadas. As avaliações foram feitas aos 2, 3, 5, 7, 9, 11, 14, 17 e 21 dias (DAA - dias após aplicação). A partir do material vegetal consumido era possível avaliar o desempenho de corte da colônia. No final do dia as folhas eram retiradas e realizada a quantificação de área foliar por meio do equipamento LI-3100C® Area meter.

Figura 8 - Escala descritiva das notas atribuídas ao corte de folhas.

Fonte: Luis Eduardo Pontes Stefanelli

O corte de folhas é um fator muito importante de ser abordado, em se tratando de controle de formigas cortadeiras, pois a diminuição da atividade de forrageamento pode indicar neste caso, a presença de algum desarranjo na colônia. A qualidade do corte pode desta forma representar um bom indicador sobre a sanidade da colônia, as notas dos cortes de folhas foram exemplificadas na Tabela 7.

Tabela 7 - Notas médias do corte de folhas.

Tratamentos	Nota média do corte de folhas (*)
T1	3,80 ± 0,15 a
T2	2,25 ± 0,20 b
T3	2,80 ± 0,30 b
T4	3,40 ± 0,30 a
T5	2,60 ± 0,20 b
CV (%)	13,08
Média geral	2,97

(*) Médias seguidas por letras distintas diferem significativamente entre si pelo teste de Tukey (P<0,05).

Notou-se que T1 e T4, não diferiram estatisticamente, isto sugere que a baixa concentração do ingrediente ativo indoxacarbe, não prejudicou as atividades das

operárias. No entanto para o T5 (sulfluramida) e T2 e T3 (indoxacarbe, nas maiores concentrações), ocorreu uma redução substancial na nota média do corte de folhas, podendo indicar algum desarranjo na colônia.

2.3.4 Incorporação

Na incorporação da isca tóxica, que é uma etapa posterior ao carregamento e manipulação do material coletado, as operárias começam a hidratar e posteriormente repicar o substrato vegetal coletado, após esses atos comportamentais as formigas cortadeiras começam a incorporar o substrato no jardim de fungo. Na Tabela 8 foram descritas as notas médias de incorporação para os tratamentos do experimento.

Tabela 8 - Notas médias de incorporação para cada tratamento.

Tratamentos	Nota média da incorporação(*)
T1	4,0 a
T2	3,9 a
T3	3,5 a
T4	3,5 a
T5	3,6 a
CV (%)	10,21
Média geral	3,70

(*) Médias seguidas por letras distintas diferem significativamente entre si pelo teste de Tukey ($P < 0,05$).

Todos os tratamentos se aproximaram da nota máxima de incorporação, neste estudo em particular não diferiram estatisticamente. O indicador da incorporação, demonstra que a isca foi bem confeccionada e as operárias, principalmente as menores, não foram capazes de reconhecer substâncias com características deterrentes ou deletérias, neste caso os IA's.

Os valores médios das percentagens das operárias que apresentavam glândula pós faríngea corada foram descritos na Tabela 9.

Tabela 9 - Valores médios da porcentagem de glândula corada de operárias de *A. sexdens* com o cortante traçador.

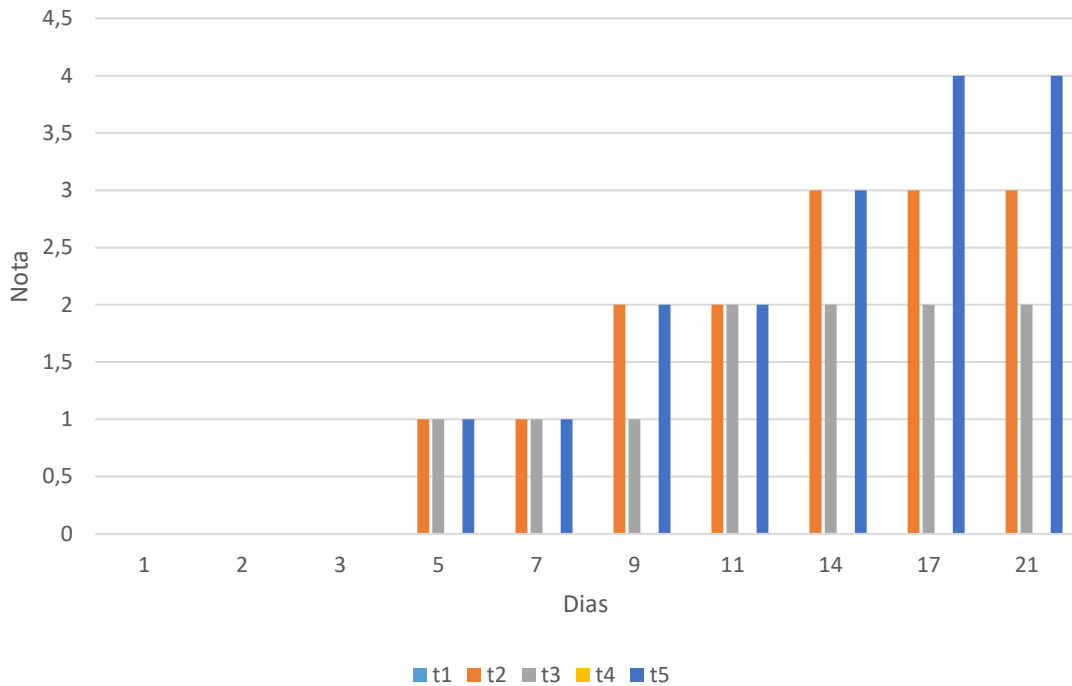
Tratamentos	Tamanho da cápsula cefálica			
	Muito Pequena	Pequena	Média	Grande
T1	0,53 abC	0,68 aB	0,78 aA	0,80 abA
T2	0,58 aC	0,68 aB	0,78 aA	0,84 Aa
T3	0,40 cC	0,43 bC	0,55 cB	0,66 Ba
T4	0,48 bcC	0,64 aB	0,65 bB	0,74 Ba
T5	0,54 abC	0,67 aB	0,72 abAB	0,79 abA
CV (%)				7,01

Letras minúsculas na coluna diferenciam cada tamanho de inseto em função dos tratamentos, letras maiúsculas na linha diferenciam cada tratamento em função do tamanho de inseto, de acordo com o teste de Tukey ($p < 0,05$). CV: Coeficiente de Variação.

O corante traçador é uma ferramenta importante no estudo de dispersão dos inseticidas dentro da colônia, pois como afirma Forti et al. (2012), o mesmo é rapidamente absorvido pelas glândulas pós-faríngeas. O número significativo de indivíduos com a glândula corada indica que de alguma forma as formigas tiveram contato com o inseticida. Neste experimento os dados apresentaram grande similaridade indicando que as baixas concentrações do ativo indoxacarbe não demonstraram características de repelência, neste caso as formigas acabaram não identificando a substância tóxica, no entanto em nenhum dos tratamentos compostos por indoxacarbe, a taxa de mortalidade foi superior a 60%. No experimento do Capítulo 1, a concentração utilizada foi de 0,15 %, então provavelmente a concentração ideal para o indoxacarbe para o controle de formigas cortadeiras está numa faixa que varia de 0,10 - 015%.

2.3.5 Fungos Contaminantes

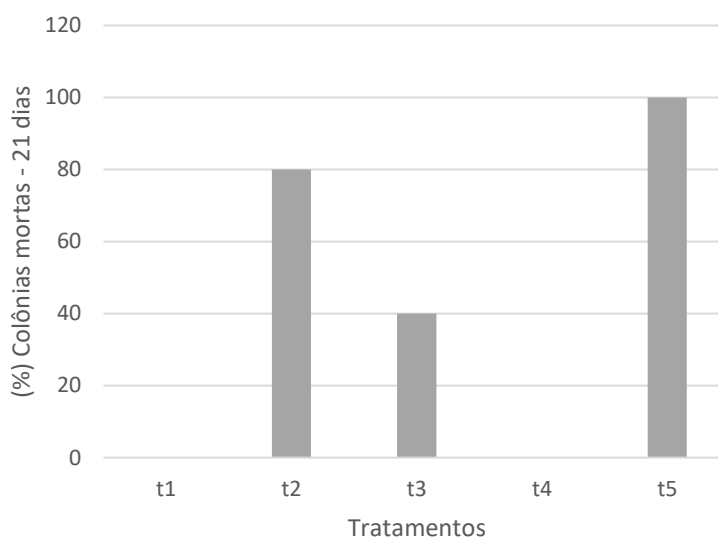
É muito importante avaliar o crescimento de fungos contaminantes no jardim de fungo da colônia, pois a presença de alguns desses fungos pode indicar a falta de sanidade da colônia. Na Figura 9, é apresentada a evolução do crescimento destes fungos ao longo de 21 dias. Seu crescimento foi quantificado numa escala de notas de 0 até 4, onde 0 representa a ausência de crescimento e 4 o maior crescimento.

Figura 9. Crescimento de fungos contaminantes.

Observou-se que T1 (testemunha) e T4 (indoxacarbe na menor concentração), não apresentaram crescimento de fungos contaminantes na espoja fúngica, permitindo assim, que estas colônias permanecessem saudáveis.

2.3.6 Mortalidade de formigas

Este indicativo é muito importante para avaliar o potencial formicida da substância, as colônias tratadas com os pellets sem ingrediente ativo não apresentaram mortalidade significativa de formigas durante os 21 dias de experimento. Os tratamentos com iscas contendo indoxacarbe apresentaram 80%, e 40% de mortalidade nas concentrações 0,10% e 0,05%, respectivamente. A concentração de 0,025 % de indoxacarbe na isca pastosa não gerou mortalidade nas colônias após 21 dias de avaliação. O tratamento contendo sulfluramida se mostrou eficiente, com 100 % das colônias mortas após 21 dias, conforme a Figura 10, sobre a mortalidade total dos tratamentos.

Figura 10. Porcentagem total de colônias mortas.

Os dados gerais dos tratamentos foram descritos na Tabela 10.

Tabela 10 - Dados gerais das colônias de *Atta sexdens* após os 21 dias.

Tratamento	Estado das colônias			
	Intoxicação de operárias	Formigas mortas	Crescimento de fungo Contaminante	Colônia morta
T1	Não ocorreu	Mortalidade Natural	Não ocorreu	Não ocorreu
T2	Ocorreu em até 24 h	Na maior parte das câmaras	Ocorreu a partir do 5º DAA*	80% das colônias mortas
T3	Ocorreu em até 24 h	Na maior parte das câmaras	Ocorreu a partir do 5º DAA*	40 % das colônias mortas
T4	Não ocorreu	Mortalidade Natural	Não ocorreu	Não ocorreu
T5	Ocorrência no 3º DAA*	Em todas as câmaras	Ocorreu a partir do 5º DAA*	Colônia morta

(*) DAA: dias após aplicação.

2.4 CONCLUSÃO

Concentrações de indoxacarbe inferiores a 0,10% não promoveram o controle efetivo de formigas cortadeiras nas condições de laboratório avaliadas.

As baixas concentrações de indoxacarbe favoreceram o processo de incorporações, desta forma, não é recomendado a utilização de altas concentrações desse ingrediente ativo para o controle de formigas cortadeiras.

O indoxacarbe futuramente pode representar uma alternativa no controle de formigas cortadeiras desde que utilizado em concentrações adequadas, em se tratando de iscas formicidas.

REFERÊNCIAS

- ANDRADE, A. P. P. et al. Behavior of *Atta sexdens rubropilosa* (Hymenoptera: Formicidae) workers during the preparation of the leaf substrate for symbiont fungus culture. **Sociobiology**, Chico, v. 40, n.2, p. 293-306, 2002.
- ANJOS, N.; MOREIRA, D. D. O.; DELLA LUCIA, T. M. C. Manejo integrado de formigas cortadeiras em reflorestamentos. *In*: DELLA LUCIA, T. M. C. (Ed.). **As formigas cortadeiras**. Viçosa: Folha de Viçosa, p. 212-241, 1993.
- BOARETOO, M.A.C. **Seleção de substratos com potencial para uso em iscas granuladas para as saúvas *Atta capiguara* Gonçalves, 1944 e *Atta bisphaerica* Forel, 1908 (Hymenoptera: Formicidae) e isolamento do fungo simbiote**. 2000, 161 p. Tese (Doutorado em Agronomia – Proteção de Plantas). Faculdade de Ciências Agrônômicas, Universidade Estadual Paulista, Botucatu, 2000.
- BRITTO, J. S. et al. Use of alternatives to PFOS, its salts and PFOSF for the control of leaf-cutting ants *Atta* and *Acromyrmex*. **International Journal of Research in Environmental Studies**, New York, v. 3, p. 11-92, 2016.
- DELLA LUCIA, T. M. C. **Formigas cortadeiras: Da bioecologia ao manejo**. Viçosa, MG: Ed. da UFV, 2011. 419 p.
- FSC. Forest Stewardship Council, **Pesticide Policy**, 2017. Disponível em <<http://pesticides.fsc.org/about>> acesso em: 01 Janeiro 2019.
- FORTI, L. C. et al. Trajectory of Water-and Fat-Soluble Dyes in the Grass-Cutting ant *Atta capiguara*: Evaluation of Infrabuccal Cavity, Post-Pharyngeal Glands and Gaster (Hymenoptera, Formicidae). **Sociobiology**, Chico, v. 59, n. 2, p. 511-520, 2012.
- GRANDA, L.C. et al. Mechanism of leaf-cutting ant colony suppression by fipronil used in attractive toxic baits. **Pest Management Science**, West Sussex, v.72 n. 8, p. 1475-1481, 2016.
- LARANJEIRO, A. J.; ZANÚNCIO, J. C. Avaliação da isca à base de sulfluramida no controle de *Atta sexdens rubropilosa* pelo processo dosagem única de aplicação. **Instituto de Estudos e Pesquisas Florestais**, Piracicaba, v. 48, n. 49, p. 144-152, 1995.
- MARTIN, P.; BATESON, P. **Measuring behaviour: an introductory guide**. Cambridge, Cambridge University Press. 1986. 200 p.
- NAGAMOTO, N.S; FORTI, L.C.; ANDRADE, A.A. Eficiência das iscas granuladas Mirex-S e Mirex-S Plus para o controle de *Atta sexdens rubropilosa*, *Atta laevigata* e *Atta capiguara* (Hymenopetra: Formicidae). *In*: CONGRESSO BRASILEIRO DE ENTOMOLOGIA, 17., 1998, Rio de Janeiro. **Resumos...** Rio de Janeiro, Sociedade Brasileira de Entomologia, 1998, p. 567.

SILVA, M. S. **Ação tóxica de ingredientes ativos em *Atta sexdens rubropilosa* Forel, 1908 (Hymenoptera: Formicidae) visando seu emprego em iscas Formicidas**. 2012. 100 p. Dissertação (Mestrado em Agronomia - Proteção de Plantas). Faculdade de Ciências Agrônômicas. Universidade Estadual Paulista, 2012.

STEFANELLI, L. E. P. et al. Avaliação do carregamento de iscas de origem botânica. *In: XIII Workshop de plantas medicinais de Botucatu: Em busca de produtos naturais bioativos*, 13, 2018. Botucatu. **Anais...** Botucatu, Instituto de Biociências, 2018, p. 23.

WILSON, E. O. Caste and division of labor in leaf-cutter ants (Hymenoptera: Formicidae: *Atta*). **Behavioral Ecology and Sociobiology**, Heidelberg, v. 7, p. 143-156, 1980.

CAPÍTULO 3: ATIVIDADE FORMICIDA DO I.A INDOXACARBE EM DIFERENTES CONCENTRAÇÕES PARA OPERÁRIAS DE *Atta sexdens rubropilosa*.

RESUMO

A busca por novos ativos no controle de formigas cortadeiras é uma constante, e para isto, muitas empresas e centros de pesquisa concentram seus esforços para a síntese de substâncias. Dentre as muitas etapas realizadas para o lançamento de um produto comercial, é necessário a realização de testes toxicológicos, essa premissa é fundamental para avaliar o desempenho e eficácia de uma substância. Estes testes são realizados para definir uma concentração adequada, para que os produtos comercializados sejam ambientalmente seguros.

Para os testes toxicológicos, foram selecionados seis tratamentos com diferentes concentrações de ativos sendo: indoxacarbe (0,017%; 0,033%; 0,0083%; 0,05%), sulfluramida (padrão) e testemunha (polpa cítrica desidratada) onde cada repetição era composta por um conjunto de 20 operárias. Foram formuladas iscas pastosas e ofertadas para os insetos, seguindo o protocolo da IN nº 42, do MAPA (Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento) para formigas cortadeiras. As avaliações foram realizadas a cada 24 horas até os 21 dias após a aplicação. Foi feita a correção de mortalidade de indivíduos que foram submetidos às concentrações pela fórmula de Abbott. As concentrações de 0,017% e 0,033% tiveram taxa de mortalidade média na ordem de 60%. A sulfluramida matou todos os indivíduos no final dos 21 dias de avaliação. Os resultados obtidos mostraram que as iscas pastosas contendo indoxacarbe não foram eficientes no controle apesar do potencial inseticida deste ingrediente ativo, sendo necessário o ajuste da concentração.

Palavras chave: isca pastosa. indoxacarbe. inseticida

CHAPTER 3: FORMIC ACTIVITY OF THE INDOXACARBE I.A IN DIFFERENT CONCENTRATIONS FOR WORKERS OF *Atta sexdens rubropilosa*.

ABSTRACT

The search for new assets in the control of leaf-cutting ants is a constant, and for this, many companies and research centers concentrate their efforts on the synthesis of substances. Among the many steps taken to launch a commercial product, it is necessary to perform toxicological tests, this premise is fundamental to evaluate the performance and effectiveness of a substance. These tests performed to define an adequate concentration so that the products marketed are environmentally safe.

For the toxicological tests, six treatments with different active concentrations selected: indoxacarb (0.017%, 0.033%, 0.0083%, and 0.05%), sulfluramide (standard) and control (dehydrated citrus pulp) where each replicate was composed of a group of 20 workers. Paste and insect baits formulated following the protocol of IN No. 42 of MAPA (Ministry of Livestock and Supply) for leaf-cutting ants. Evaluations performed every 24 hours up to 21 days after application. Mortality corrected for subjects who we submitted to concentrations using the Abbott formula. The concentrations of 0.017% and 0.033% had an average mortality rate of around 60%. Sulfluramide killed all subjects at the end of the 21-day evaluation. The results showed that the indoxacarb-containing pasty baits were not efficient in the control despite the insecticidal potential of this active ingredient, being necessary the adjustment of the concentration

Keywords: pasty bait. indoxacarb. insecticide

3.1 INTRODUÇÃO

As formigas cortadeiras são temas recorrentes de estudo, estes insetos pertencem a família Formicidae, subfamília Myrmicinae e tribo Attini. As formigas dessa tribo são exclusivas do Novo Mundo e ocorrem desde o norte-leste dos Estados Unidos latitude 40°N (RABELING et al.,2007) até o centro da Argentina, latitude 41°S. (FARJI-BRENER; CORLEY, 1998), com exceção do Chile e algumas ilhas das Antilhas.

De maneira específica, o gênero *Atta* está situado entre as latitudes 32°N e 33°S e o gênero *Acromyrmex* é distribuído entre as latitudes 34°N e 41°S (MEHDIABADI; SCHULTZ,2009), Atualmente a tribo Attini é composta de um número superior à 250 espécies catalogadas, (SOSA-CALVO et al., 2013). Esses dois gêneros representam importantes pragas agrícolas e florestais na região Neotropical. Em se tratando de Brasil, a espécie *Atta sexdens* é apontada como a que apresenta maior distribuição territorial e a maior causadora prejuízos às lavouras dentre as cortadeiras de espécies vegetais (GONÇALVES, 1963), e devido a esta importância agrícola, as espécies do gênero *Atta* estão entre as mais estudadas dentre os insetos tropicais (MUELLER; RABELING, 2008), em decorrência das formigas cortadeiras atacarem muitas espécies vegetais, ainda existe o fator de destaque que é preferência de plantas cultivadas para utilizá-las como substrato (CHERRETT, 1968).

Diante deste cenário a busca por produtos efetivos para o controle destes insetos é fundamental, só que a prospecção de novas substâncias é um processo demorado, principalmente pois os compostos testados devem apresentar uma toxicidade menor do que a comumente utilizada pelas indústrias, pois não faria sentido desenvolver uma formulação ambientalmente pior. Para avaliar o desempenho dos ingredientes ativos testados são realizados testes toxicológicos em condições de controladas de laboratório.

Os bioensaios de toxicidade são compostos geralmente de duas etapas. A primeira etapa é constituída na seleção dos tratamentos (novas moléculas sintetizadas, com características inseticidas, fungicidas ou herbicidas, além dessas moléculas podem ser testados extratos vegetais, microrganismos entomopatogênicos e etc. que proporcionem mortalidade ao inseto-praga alvo. A segunda etapa após a seleção das substâncias utilizadas, é estimar dentre os produtos selecionados quais

serão as concentrações letais para o organismo alvo. (CARVALHO et al, 2017). Este estudo buscou identificar a efetividade da utilização do indoxacarbe no controle de formigas cortadeiras, através de um bioensaio toxicológico avaliando a taxa de mortalidade de formigas como resultado da ingestão oral dessa substância.

3.2 MATERIAIS E MÉTODOS

3.2.1 Colônia estudada

A colônia utilizada neste experimento foi coletada na cidade de Botucatu e armazenada no Laboratório de Insetos Sociais-Praga (LISP), integrante do Departamento de Produção Vegetal da Faculdade de Ciências Agrônomicas - UNESP, Botucatu-SP. A colônia selecionada possuía volume aproximado de 5L e foi utilizada para a retirada das operárias da espécie *Atta sexdens rubropilosa*. Para a manutenção da colônia até a data do experimento foram ofertadas folhas de *Acalypha* spp. como substrato para manutenção da esponja fúngica e mantidas a $22 \pm 2^\circ\text{C}$ sob umidade relativa de $70 \pm 10\%$

3.2.2 Formulação e aplicação

A formulação na forma de isca pastosa e análise da taxa de mortalidade das operárias em decorrência da ingestão oral das formulações foi avaliada seguindo a Instrução Normativa nº 042, do protocolo desenvolvido por Nagamoto et al. (2004) e estabelecido pelo Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento / Controle de Pragas (Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento / Secretaria de Defesa Agropecuária - MAPA / SDA) (Brasil, 2011).

Neste protocolo, as seleções dos tratamentos foram compostas por: um controle negativo (formulação de pasta de polpa cítrica), um controle padrão ou positivo (0,1% sulfluramida; 1000 $\mu\text{g/g}$) e três concentrações de indoxacarbe 0,05% (500 $\mu\text{g/g}$), 0,033%, 0,017% e 0,0083%), totalizando seis tratamentos em quatro repetições (onde cada repetição foi representada por um recipiente plástico com 20 operárias de *A. sexdens*, segundo Nagamoto et al. (2004). As operárias selecionadas para o experimento tinham a cápsula encefálica com largura média de 2,0 mm.

No experimento foram realizadas as seguintes etapas: Primeiramente cada

ingrediente ativo (indoxacarbe e sulfluramida) foi dissolvido em solvente p.a. e em seguida foi misturado com pó de polpa cítrica; realizou-se o processo de homogeneização da mistura através de um bastão de vidro e aguardou-se a evaporação do solvente; nesta mistura foi adicionada uma solução de sacarose (10%) até a obtenção de uma pasta; Todas as formulações foram preparadas como p / p (peso / peso), da mesma forma feita por Sousa et al. (2018). Foi oferecida 2,0g da pasta formulada por repetição (conjunto de 20 operárias) e as operárias permaneceram 24 h em contato com a isca pastosa, a qual após esse período foi retirada. Em seguida, foi oferecida para cada repetição um volume aproximado de 2,0 cm³ de esponja fúngica, contendo 20 jardineiras (operárias pequenas) para auxiliar no cultivo do fungo simbiote. A avaliação da mortalidade foi realizada nos dias 1, 2, 3, 5, 7, 9, 11, 14, 17 e 21 após a adição da isca pastosa.

Com a finalidade de mensurar a mortalidade natural ou decorrente do manuseio experimental utilizou-se um tratamento controle ou testemunha negativa. Para esse tipo de tratamento a isca pastosa referente ao controle negativo foi preparada seguindo o mesmo procedimento, no entanto, sem adição de ingredientes ativos.

3.3.4 Preparação e uso da isca pastosa com operárias de *A. sexdens*.

Recipientes plásticos transparentes medindo 101 mm de diâmetro x 61 mm de altura com tampas herméticas foram usados nos experimentos. O fundo de cada recipiente foi coberto por uma fina camada de gesso (1 cm de espessura) e seco por 24 horas a 50 ° C, antes da pasta ser oferecida para as operárias, o gesso foi umedecido com água destilada.

A taxa de mortalidade das operárias foi corrigida utilizando a fórmula proposta por Abbot (1925), para reduzir a influência de fatores como a idade do inseto e mortalidade natural. O valor médio desse tratamento é utilizado na obtenção da mortalidade corrigida dos demais tratamentos. Usualmente esse cálculo é realizado com a fórmula representada pela Equação 1 (E1).

$$\text{Sobrevivência} = [(St-Str)]/(St)* 100 \quad (E1)$$

Onde: St: sobrevivência da testemunha (%);

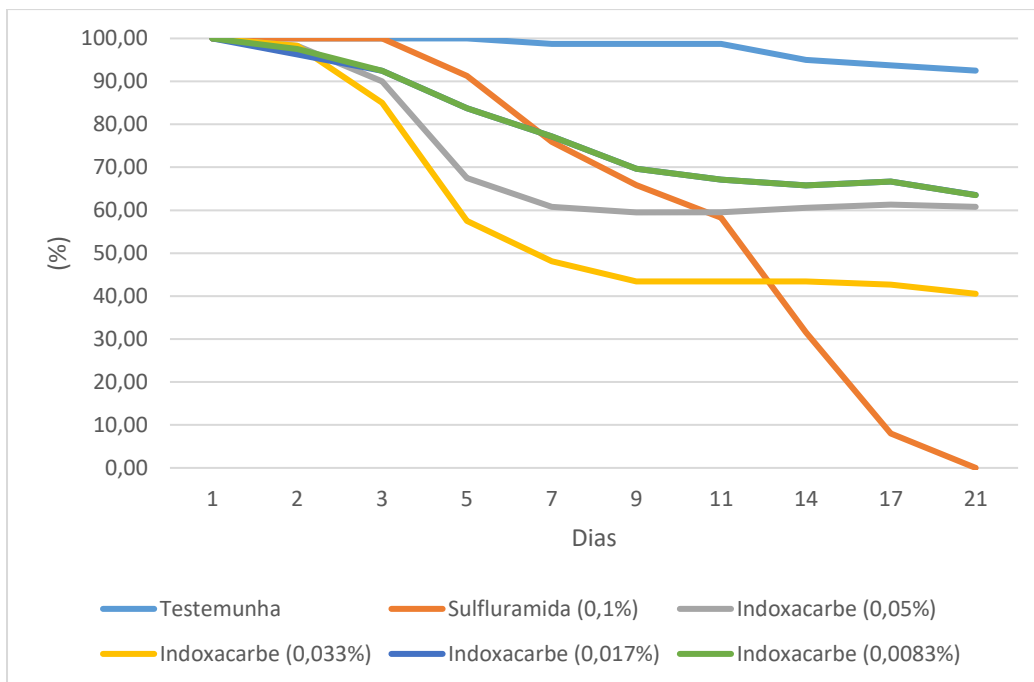
Str: sobrevivência do tratamento (%).

3.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

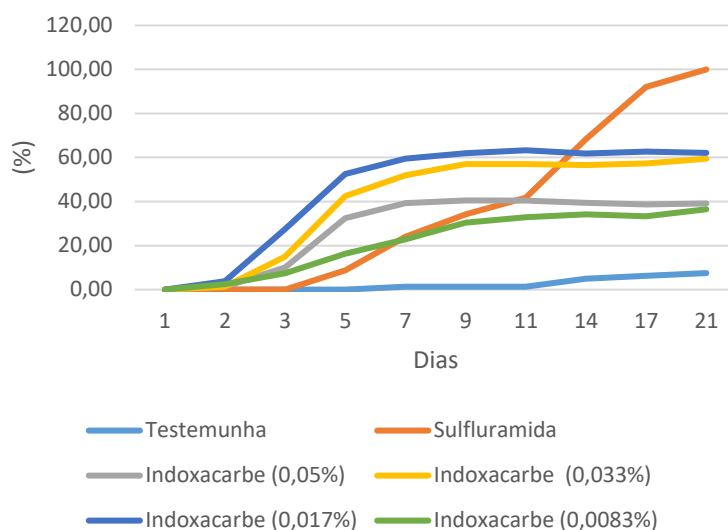
Quanto à mortalidade gerada em cada tratamento individualmente, apenas o controle negativo não apresentou diferença significativa, levando-se em consideração o aumento de dias após a aplicação. Com este resultado é possível afirmar que a mortalidade ocorrida na testemunha (controle negativo) pode ser considerada natural, permitindo a constatação do efeito de IA's sobre as operárias.

Em se tratando da taxa de sobrevivência dos indivíduos de cada tratamento, após os 21 dias de avaliação, a sulfluramida não apresentou nenhuma operária sobrevivente, desta forma a sua curva de sobrevivência convergiu para zero. Percebeu-se que o tratamento 0,033% de indoxacarbe apresentou as menores taxas de sobrevivência (aproximadamente 40%) e as concentrações de 0,017%, 0,0083% e 0,05% apresentaram taxa de sobrevivência semelhantes na ordem de 60% conforme a Figura 1.

Figura 1. Taxa de sobrevivência dos tratamentos (%).



A partir da curva de sobrevivência é possível calcular a mortalidade corrigida para cada tratamento, logicamente a mortalidade é inversamente proporcional a taxa de sobrevivência, como é demonstrado na neste caso a Figura 2, onde é demonstra a evolução da mortalidade após a aplicação da isca pastosa.

Figura 2. Taxa de mortalidade dos tratamentos (%).

Na Figura 2, notou-se que a sulfluramida (0,1%), que neste caso é o ingrediente ativo padrão alcançou a mortalidade de 100% após o período de 21 dias, também foi observado que para o indoxacarbe de forma geral, as mortalidades dos insetos ocorrem na sua maioria até o 11º dia, talvez isso seja explicado por ser uma inseticida de contato e ação rápida. No caso da sulfluramida, percebe-se o efeito da mortalidade aumentando progressivamente em função do tempo, isso pode ser explicado principalmente pelo seu modo de ação lento, essa ação retardada é muito interessante no caso das formigas cortadeiras, permitindo desta forma que o ingrediente ativo seja atue ao longo do tempo. Pesquisadores como Nagamoto et al., (2004), ainda apontam para a dificuldade das operárias de *Atta sexdens* realizarem a desintoxicação de sulfluramida e outros autores como Silva (2012) avaliaram a ação tóxica de ingredientes ativos em operárias da espécie *A. sexdens*, como: diafentiuron, imidaclopride e indoxacarbe.

Na interpretação dos resultados foi possível verificar quais tratamentos podem ser promissores. Para tal, adotou-se como critério valores de mortalidade iguais ou superiores a 80%. Neste caso, somente a sulfluramida atingiu valores de mortalidade média superior ao limite estabelecido, neste caso é necessário o ajuste da concentração para do indoxacarbe para estudos futuros, porém nos estudos anteriores foi possível aferir seu potencial de utilização do ingrediente ativo indoxacarbe como isca formicida.

3.4 CONCLUSÃO

O indoxacarbe apresenta atividade inseticida para formigas *A. sexdens*, No entanto as concentrações não foram suficientes para causar a mortalidade maior que 80% das operárias, neste caso a concentração deve ser ajustada em estudos futuros.

REFERÊNCIAS

- ABBOTT, W. S. A method of computing the effectiveness of an insecticide. **Journal of Economic Entomology**, Lanham, v. 18, n. 1, p. 265-267, 1925.
- BRASIL. **Instrução normativa n. 42**, de 05 de dezembro de 2011, Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Diário Oficial da União, Brasília, DF, pp. 4-5, Seção 1, 2011.
- CARVALHO, J.R.et al. **Análise de probit aplicada a bioensaios com insetos**. Instituto Federal de Ensino, Ciência e Tecnologia do Espírito Santo, Colatina, 2017, 102p.
- CHERRETT, J. M. The foraging behaviour of *Atta cephalotes* L. (Hymenoptera: Formicidae).L. Foraging patterns and plant species attacked in tropical rain forest. **Journal of Animal Ecology**, Londres, v. 37, p. 387- 403, 1968.
- FARJI-BRENER, A.G.; CORLEY, J.C. Successful invasions of hymenopteran insects into NW Patagonia. **Ecologia Austral**, Buenos Aires, v.8, p.237-249, 1998.
- GONÇALVES, C. R. Nota sobre a sistemática de *Atta sexdens* (L., 1758) e de suas subespécies (Hymenoptera: Formicidae). Rio de Janeiro, **Boletim Fitossanitário**, Rio de Janeiro, v.9, n. ½, p.1-3, 1963.
- MEHDIABADI, N.J.; SCHULTZ, T.R. Natural history and phylogeny of the fungus-farming ants (Hymenoptera: Formicidae: Myrmicinae: Attini). Austria, **Myrmecological News**, Austria, v. 13, p. 37-55, 2009.
- MUELLER, U. G.; RABELING, C. A breakthrough innovation in animal evolution. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, Washington D. C., v. 105, p. 5287-5288, 2008.
- NAGAMOTO, N.S. et al. Method for the evaluation of insecticidal activity over time in *Atta sexdens rubropilosa* workers (Hymenoptera: Formicidae). **Sociobiology**, Chico, v. 44, n. 2, p. 413–431, 2004.
- RABELING, C. et al. A review of the North American species of the fungus-gardening ant genus *Trachymyrmex* (Hymenoptera: Formicidae). **Zootaxa**, Auckland, v. 1664, n. 1, p. 1-53, 2007.
- SILVA, M. S. **Ação tóxica de ingredientes ativos em *Atta sexdens rubropilosa* Forel, 1908 (Hymenoptera: Formicidae) visando seu emprego em iscas Formicidas**. 2012. 100 p. Dissertação (Mestrado em Agronomia - Proteção de Plantas). Faculdade de Ciências Agrônômicas. Universidade Estadual Paulista, 2012.
- SOSA-CALVO, J. et al. *Cyatta abscondita*: Taxonomy, evolution, and natural history of a new fungus-farming ant genus from Brazil. **PLoS ONE**, São Francisco, v.8, n. 11, p.1-20, 2013.

SOUSA, K. K. A. et al. Effects of cycloheximide on the mortality of *Atta sexdens* leaf-cutting worker ants. Curitiba, **Revista Brasileira de Entomologia**, Curitiba, v. 62, n. 3, p. 169-171, 2018.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

A utilização de iscas formicidas representam um método eficiente de controle, e de acordo com este estudo o diâmetro do pellet e o ingrediente ativo utilizados podem exercer influências significativas no processamento, dispersão e contaminação de operárias. Neste caso, a ingestão dos ingredientes ativos é dependente da toxicidade e tamanho de partícula utilizada. E ainda existiram diferenças no processamento em relação à classe de tamanho das formigas. Os menores diâmetros de partícula podem ser altamente recomendáveis para a formulação de iscas formicidas, podendo desta forma impactar de forma sinérgica no controle de formigas cortadeiras.

O indoxacarbe provoca grande toxicidade às operárias de *A. sexdens rubropilosa*, principalmente em concentrações superiores à 0,10%. Este ingrediente ativo apresentou potencial para sua utilização na formulação de iscas formicidas, no entanto ainda não foi encontrada a concentração adequada para o controle. As iscas contendo indoxacarbe são candidatas potenciais para o controle colônias de *A. sexdens rubropilosa*, no entanto ainda não devem ser indicadas para o controle de formigas cortadeiras.

As glândulas pós-faríngeas são estruturas que devem ser melhores estudadas, mas podem representar uma boa alternativa para a avaliação dos ingredientes ativos e sua interação com a população da colônia.

Mais estudos com a prospecção de novos ativos devem ser incentivados para existir menor dependência da utilização da sulfluramida por parte principalmente do setor florestal, este estudo pode contribuir de forma relevante para proporcionar novas alternativas de pesquisa para a comunidade científica e uma solução para os produtores.

REFERÊNCIAS

- ANDRADE, A. P. P. et al. Behavior of *Atta sexdens rubropilosa* (Hymenoptera: Formicidae) workers during the preparation of the leaf substrate for symbiont fungus culture. **Sociobiology**, Chico, v. 40, n. 2, p. 293-306, 2002.
- BOARETTO, M.A.C.; FORTI, L.C. Perspectivas no controle de formigas-cortadeiras. **Série Técnica IPEF**, Botucatu, v. 11, n. 30, p. 31-46, 1997.
- BRITTO, J. S. et al. Use of alternatives to PFOS, its salts and PFOSF for the control of leaf-cutting ants *Atta* and *Acromyrmex*. **International Journal of Research in Environmental Studies**, New York, v. 3, p. 11-92, 2016.
- CRUZ, J. M. et al. Adaptação de uma motocicleta para termonebulização no controle de formigas saúvas (*Atta* spp.) em áreas reflorestadas de cerrado. **Revista Árvore**, Viçosa, v. 8, n. 2, p. 104-111, 1984.
- DAVIDSON, D.; McKEY, D. The evolutionary ecology of symbiotic ant-plant relationships. **Journal of Hymenoptera Research**, Sória, v. 2, n. 1, p. 18-33, 1993.
- DELLA LUCIA, T. M. C. **Formigas cortadeiras: Da bioecologia ao manejo**. Viçosa, MG: Ed. da UFV, 2011. 419 p.
- DELLA LUCIA, T. M. C.; GANDRA, L. C.; GUEDES, R. N. C. Managing leaf-cutting ants: peculiarities, trends and challenges. **Pest management science**, West Sussex, v. 70, n. 1, p. 14-23, 2014.
- DINIZ, E. A.; BUENO, O.C. Substrate preparation behaviors for the cultivation of the symbiotic fungus in leaf-cutting ants of the genus *Atta* (Hymenoptera: Formicidae). **Sociobiology**, Chico, v. 53, n. 3, p. 651-666, 2009.
- FORTI, L.C.; NAGAMOTO, N.S.; PRETTO, D.R. Controle de formigas cortadeiras com isca granulada. *In*: SIMPÓSIO SOBRE FORMIGAS CORTADEIRAS DOS PAÍSES DO MERCOSUL, 1998, Piracicaba. **Anais...** Piracicaba, FEALQ, 1998, p. 113-132.
- FORTI, L. C. et al. Dispersal of the delayed action insecticide sulfluramid in colonies of the leaf-cutting ant *Atta sexdens rubropilosa* (Hymenoptera: Formicidae). **Sociobiology**, Chico, v. 50, n. 3, p. 1149-1164, 2007.
- FSC. Forest Stewardship Council, **Pesticide Policy**, 2017. Disponível em <<http://pesticides.fsc.org/about>> acesso em: 01 Janeiro 2019.
- HERNANDEZ, J. V.; JAFFÉ, K. Dano econômico causado por populações de formigas *Atta laevigata* (F. Smith) em plantações de *Pinus caribaea* Mor. e elementos para o manejo da praga. **Anais da Sociedade Entomológica do Brasil**, Londrina, v. 24, n. 2, p. 287-298, 1995.

- LÖFSTEDT GILLJAM, J. et al. Is ongoing sulfloramid use in South America a significant source of perfluorooctanesulfonate (PFOS)? Production inventories, environmental fate, and local occurrence. **Environmental science & technology**, Washington D.C., v. 50, n. 2, p. 653-659, 2015.
- MATRANGOLO, C.A.R. et al. Crescimento de eucalipto sob efeito de desfolhamento artificial. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 45, n. 9, p. 952–957, 2010.
- MINISTRY OF THE ENVIROMENT (2015a) Foreword *In*: National Implementation Plan – Brazil: Stockholm Convention, 2015, p. 31
- MINISTRY OF THE ENVIROMENT (2015b) Inventory of new POPs of industrial use *In*: National Implementation Plan – Brazil: Stockholm Convention, 2015, p. 87–99.
- MUELLER, U. G. Ant versus fungus versus mutualism: Ant-cultivar conflict and the deconstruction of the attine ant-fungus symbiosis. **The American Naturalist**, Chicago, v. 160, n. 4, p. 67-98, 2002.
- NAGAMOTO, N.S; FORTI, L.C.; ANDRADE, A.A. Eficiência das iscas granuladas Mirex-S e Mirex-S Plus para o controle de *Atta sexdens rubropilosa*, *Atta laevigata* e *Atta capiguara* (Hymenoptera: Formicidae). *In*: CONGRESSO BRASILEIRO DE ENTOMOLOGIA, 17,1998, Rio de Janeiro, **Resumos...**, Sociedade Brasileira de Entomologia, p. 567.
- NAGAMOTO, N.S et al. Method for evaluation activity over time in *Atta sexdens rubropilosa* workers (Hymenoptera: Formicidae). **Sociobiology**, Chico, v. 44, n. 2, p. 413-432, 2004.
- QUINLAN, R .J. ; CHERRETT, J. M. Studies on the role of the infrabuccal pocket of the leaf-cutting ant *Acromyrmex octospinosus* (Reich) (Hymenoptera, Formicidae). **Insectes Sociaux**, Basel, v.25, n.3, p.237-245, 1978.
- REBULA, C. A.; MORAIS, H. C.; ALVES, F. S. Estudo de altas concentrações de alumínio na dieta de *Atta sexdens* aspectos da dinâmica colonial. *In*: CONGRESSO DE ECOLOGIA DO BRASIL, 6, 2003, Fortaleza, **Resumos...** p. 406-407.
- SILVA, A. et al. Survival of *Atta sexdens* workers on different food sources. **Journal of Insect Physiology**, Reino Unido, v. 49, n.4, p. 307-313, 2003.
- SOSA-CALVO, J. et al. *Cyatta abscondita*: Taxonomy, evolution, and natural history of a new fungus-farming ant genus from Brazil. **PLoS ONE**, São Francisco, v.8, n. 11, p.1-20, 2013.
- WEBER, N. A. **Gardening ants**: The Attines. Philadelphia, PA: The American Philosophical Society, 1972. 146p.

ZANUNCIO J.C et al. The impact of the Forest Stewardship Council (FSC) pesticide policy on the management of leaf-cutting ants and termites in certified forests in Brazil. **Annals of Forest Science**, New York, v. 73, n. 2, p. 205-214, 2016.