
CIÊNCIAS BIOLÓGICAS

NATÁLIA DE OLIVEIRA MARIN

**ALTERAÇÕES NA DINÂMICA DE COLÔNIAS DE *Atta*
sexdens rubropilosa FOREL, 1906 (HYMENOPTERA:
FORMICIDAE) SUBMETIDAS AO TRATAMENTO COM ISCAS
TÓXICAS.**

NATÁLIA DE OLIVEIRA MARIN

ALTERAÇÕES NA DINÂMICA DE COLÔNIAS DE *Atta sexdens rubropilosa* FOREL,
1906 (HYMENOPTERA: FORMICIDAE) SUBMETIDAS AO TRATAMENTO COM
ISCAS TÓXICAS.

Orientador: Odair Correa Bueno

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado ao
Instituto de Biociências da Universidade Estadual
Paulista “Júlio de Mesquita Filho” - Câmpus de Rio
Claro, para obtenção do grau de Bacharela e
Licenciada em Ciências Biológicas.

Rio Claro
2014

595.796 Marin, Natália de Oliveira
M337a Alteração na dinâmica de colônias de *Atta sexdens*
rubropilosa, Forel 1906 (Hymenoptera: Formicidae)
submetidas ao tratamento com iscas tóxicas / Natália de
Oliveira Marin. - Rio Claro, 2014
61 f. : il., figs., gráfs., tabs., fots.

Trabalho de conclusão de curso (licenciatura e
bacharelado - Ciências Biológicas) - Universidade Estadual
Paulista, Instituto de Biociências de Rio Claro
Orientador: Odair Correa Bueno

1. Formiga. 2. Cortadeiras. 3. Sulfluramida. 4.
Hidrametilnona. 5. Comportamento. I. Título.

Aos meus pais, Cecília e Odílio.

Dedico

AGRADECIMENTOS

Aos meus pais, Cecília e Odílio, pela referência que são para mim e pelo amor incondicional. Esta realização não seria possível sem o apoio que sempre me deram, então dedico todas as páginas deste trabalho a vocês.

À minha irmã, Beatriz, pela paciência em me ouvir e o companheirismo de todos os dias, à minha avó, Maria Cecília, pela preocupação e o carinho que sempre teve comigo, e ao meu namorado, Paulo, pelo amor e por estar sempre ao meu lado, em todos os momentos.

A toda minha família e meus amigos, em especial meus avós Ana e Odílio, pela torcida e o incentivo desde o início.

Aos meus amigos Rafael Fávero e Renato Correa, por estarem comigo não só nos anos de graduação, nos trabalhos, nas provas e nos estágios, mas também pela paciência, o companheirismo, a parceria e o bom humor de vocês. Agradeço por estarem presentes nos momentos bons e ruins dos últimos anos.

À Marcela Ceccato, pela doçura, a paciência, a dedicação e a responsabilidade com tudo o que faz. A todas as meninas queridas do CEIS, em especial a Itamar Reiss e Nathália Lorenzon, que deixavam qualquer tarde divertida.

À minha querida turma de Ciências Biológicas Noturna, ano de 2009, pelo vínculo, a amizade e a união. A graduação não teria sido tão boa sem vocês e, com certeza, o melhor que eu levo destes cinco anos são os amigos.

Ao meu orientador, Odair, pela dedicação, a paciência e o aprendizado durante os experimentos. A querida Viviane Tofolo, pela atenção e a enorme ajuda durante a escrita e as correções deste trabalho.

RESUMO

As formigas cortadeiras são consideradas pragas por causarem diversos prejuízos em áreas agrícolas e, por este motivo, há um crescente interesse em métodos variados de controle destes insetos. Atualmente, existem diversos métodos de controle conhecidos, mas o mais utilizado é o controle químico, que apresenta diferentes estratégias de formulação e modos de aplicação. O principal método químico utilizado são as iscas tóxicas, que tem a melhor eficiência e já são utilizadas em escala comercial. O presente trabalho teve como objetivo avaliar as alterações que ocorrem na dinâmica de colônias de *Atta sexdens rubropilosa* Forel, 1906 (Hymenoptera: Formicidae) submetidas ao tratamento com iscas tóxicas contendo os ingredientes ativos sulfluramida e hidrametilnona, as quais serão comparadas com uma colônia controle, que receberá isca sem ingrediente ativo. Para isso, foram utilizadas três colônias de *A. s. rubropilosa*, mantidas em laboratório, com aproximadamente 1000 mL de jardim de fungo cada. Elas foram dispostas em vitrais, interligados a dois potes plásticos, um para a câmara de forrageamento e outro para o lixo. Um dia antes de iniciar o experimento, todo o lixo foi retirado e as colônias foram deixadas sem o fornecimento de alimento. Após 24 horas sem alimentação, as iscas foram oferecidas na câmara de forrageamento de cada colônia. A colônia 1 recebeu 3g de isca sem ingrediente ativo; a colônia 2 recebeu 3g de isca contendo sulfluramida; e a colônia 3 recebeu 3g de isca contendo hidrametilnona. Durante 10 dias, foram avaliados aspectos como carregamento, incorporação e devolução das iscas, alterações comportamentais das operárias classificadas como sintomas de intoxicação, mudanças no aspecto físico dos jardins de fungo, como umidade e aparecimento de fungos contaminantes, e a extinção da colônia. A partir dos dados obtidos, foram feitas análises comparativas das atividades comportamentais das operárias e das alterações no aspecto físico das colônias. O tempo de início de ação da sulfluramida foi de 46 horas e no 6º dia de experimento, a colônia foi considerada morta. Já a hidrametilnona teve tempo de início de ação de 48 horas, e a colônia foi considerada morta do 9º dia. Apesar do tempo de início de ação ser próximo, os sintomas de intoxicação surgiram antes e as condições da colônia regrediram mais rapidamente no tratamento com sulfluramida.

Palavras-chave: Formigas cortadeiras. Controle. Sulfluramida. Hidrametilnona.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1: Fórmula estrutural da sulfluramida.....	20
Figura 2: Fórmula estrutural da hidrametilnona.....	21
Figura 3: Vista geral de uma colônia de <i>Atta sexdens rubropilosa</i> mantida em laboratório, com câmara de forrageamento (A) e de lixo (C) em recipientes plásticos, e câmara de fungo (B) no vitral.	23
Figura 4: Três gramas de isca sem ingrediente ativo sendo pesadas na balança (A) e sendo oferecidas na câmara de forrageamento (B) de uma colônia de <i>Atta sexdens rubropilosa</i>	24
Figura 5: Vista geral das três colônias de <i>Atta sexdens rubropilosa</i> com as respectivas iscas oferecidas na câmara de forrageamento.	24
Figura 6: Jardim de fungo das colônias de <i>Atta sexdens rubropilosa</i> com incorporação completa (círculos vermelhos) e incompleta (círculos amarelos) das iscas após 24 horas de exposição. A: controle, B: sulfluramida 0,3% e C: hidrametilnona 1,0%.....	32
Figura 7: Câmara de lixo das colônias de <i>Atta sexdens rubropilosa</i> após 24 horas de exposição às iscas, contendo apenas resíduos vegetais (seta vermelha) e iscas tóxicas de sulfluramida (seta amarela). A: controle, B: sulfluramida 0,3% e C: hidrametilnona 1,0%.....	33
Figura 8: Operárias carregando os grânulos de isca (círculo vermelho) para a câmara de lixo na colônia de <i>Atta sexdens rubropilosa</i> tratada com isca tóxica contendo sulfluramida 0,3%.....	34
Figura 9: Mortalidade diária das operárias em colônias de <i>Atta sexdens rubropilosa</i> tratadas com iscas controle, sulfluramida 0,3% e hidrametilnona 1,0%.....	36
Figura 10: Câmara de fungo das colônias de <i>Atta sexdens rubropilosa</i> tratadas com iscas controle (A), sulfluramida 0,3% (B) e hidrametilnona 1,0% (C) com ausência (círculo vermelho) e presença (círculo amarelo) de pedaços de fungo cortados no 3º dia de exposição.	39
Figura 11: Comparação entre as câmaras de fungo das colônias de <i>Atta sexdens rubropilosa</i> tratadas com isca controle (A) e hidrametilnona 1,0% (B) no 7º dia de exposição, com pedaços de jardim de fungo cortados pelas operárias (círculo amarelo) na figura B.	40

Figura 12: Contaminação do jardim de fungo da colônia de <i>Atta sexdens rubropilosa</i> tratada com isca à base de sulfluramida 0,3% pelo fungo filamentoso <i>Escovopsis</i> sp. no 3º dia de experimento.....	41
Figura 13: Contaminação com <i>Escovopsis</i> sp. no jardim de fungo da colônia de <i>Atta sexdens rubropilosa</i> tratada com isca sulfluramida 0,3% no 3º dia (A), 4º dia (B), 5º dia (C) e 6º dia (D) de exposição.	42
Figura 14: Contaminação do jardim de fungo da colônia de <i>Atta sexdens rubropilosa</i> tratada com isca à base de hidrametilnona 1,0% pelo fungo filamentoso <i>Escovopsis</i> sp. no 6º dia de exposição.	44
Figura 15: Contaminação com <i>Escovopsis</i> sp. no jardim de fungo da colônia de <i>Atta sexdens rubropilosa</i> tratada com isca hidrametilnona 1,0% no 7º dia (A), 8º dia (B), 9º dia (C) e 10º dia (D) de exposição.	45
Figura 16: Contaminação com outro tipo de fungo não identificado (círculo amarelo) na câmara de lixo da colônia de <i>Atta sexdens rubropilosa</i> no 8º dia de exposição às iscas com base de hidrametilnona 1,0%.	46
Figura 17: Atividade de limpeza individual e coletiva das operárias de <i>Atta sexdens rubropilosa</i> nas colônias tratadas com isca controle, sulfluramida 0,3% e hidrametilnona 1,0%.....	48
Figura 18: Condições diárias das colônias de <i>Atta sexdens rubropilosa</i> tratadas com iscas controle, sulfluramida 0,3% e hidrametilnona 1,0%, sendo que 100% representa ausência de alterações devido a intoxicação, e zero representa morte da colônia por intoxicação.	50

LISTA DE TABELAS

Tabela 1: Alterações comportamentais nas colônias de <i>Atta sexdens rubropilosa</i> tratadas com iscas controle, sulfluramida 0,3% e hidrametilnona 1,0% ao final de 10 dias de exposição.....	30
Tabela 2: Avaliação diária das condições das colônias de <i>Atta sexdens rubropilosa</i> tratadas com iscas controle, sulfluramida 0,3% e hidrametilnona 1,0%.	49

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	10
2 REVISÃO DA LITERATURA	12
2.1 Formigas cortadeiras.....	12
2.1.1 Divisão de castas.....	12
2.1.2 Biologia das cortadeiras.....	13
2.2 O fungo simbiote	13
2.2.1 Microrganismos invasores	14
2.3 Formigas cortadeiras como pragas	15
2.4 Métodos de controle	16
2.4.1 Controle químico.....	17
2.4.2 Iscas tóxicas	18
2.4.3 Sulfluramida	19
2.4.4 Hidrametilnona.....	20
3 OBJETIVOS	22
4 MATERIAIS E MÉTODOS.....	23
4.1. Manutenção das colônias em laboratório e delineamento experimental	23
4.2. Quantificação do carregamento, incorporação e devolução das iscas.....	25
4.3. Toxicidade e alterações comportamentais após a exposição às iscas	25
4.4. Avaliação das alterações comportamentais, determinação do tempo de ação dos ativos e organização do material didático visual	27
5 RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	29
5.1. Quantificação do carregamento, incorporação e devolução das iscas.....	30
5.2. Toxicidade e alterações comportamentais após a exposição às iscas	34
5.2.1. Selfgrooming e allogrooming após a intoxicação.....	47
5.3. Determinação das condições gerais das colônias e organização do material didático visual.....	48
6 CONSIDERAÇÕES GERAIS	51
7 CONCLUSÕES	53
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	54

1 INTRODUÇÃO

As formigas são insetos que apresentam um importante papel no ecossistema terrestre, mantendo a homeostase do ambiente, as condições físicas e químicas do solo, a polinização das plantas e a dispersão das sementes (BROWN Jr., 2000; HÖLLDOBLER; WILSON, 1990). Porém, as mesmas também podem se tornar pragas indesejáveis quando se encontram em ambientes alterados pela atividade humana, tais como na silvicultura, pastagens, canaviais e fruticultura em geral (FORTI, 1993).

As formigas cortadeiras pertencem à família Formicidae, subfamília Myrmicinae e tribo Attini. Os gêneros mais comuns são *Acromyrmex* e *Atta*, popularmente conhecidas como quenquéns e saúvas, respectivamente (WILSON, 1980). São herbívoros que dominam muitos ecossistemas e possuem colônias bem desenvolvidas, destacando-se assim como importantes pragas agrícolas (STRADLING, 1991).

A característica que classifica estas formigas como cortadeiras é o fato de cortarem folhas e partes verdes das plantas, que servem de substrato para o cultivo do fungo *Leucoagaricus gongylophorus*, do qual elas se alimentam (DELLA LUCIA, 2011).

Devido ao grande tamanho de suas colônias, as saúvas necessitam de um enorme volume de folhas para cultivar o fungo, e por isso são responsáveis por vários danos econômicos em áreas agrícolas (HOWARD, 1988). Atualmente, as formigas cortadeiras estão presentes não somente nas áreas agrícolas e pastagens, mas também em algumas áreas urbanas, como jardins, parques, hortas, na arborização de ruas e avenidas (JUSTI Jr. et al., 1996).

Os prejuízos causados por estas formigas são mencionados desde o século XVI, mas as medidas de controle sempre foram insuficientes (MARICONI, 1970), por apresentarem custo elevado, efeitos temporários e, em alguns casos, danos indevidos para o ambiente (WILLIAMS, 1990).

Os métodos mais comuns de controle destes insetos são o mecânico, o físico e o químico. O método mecânico consiste em escavar o ninho até que a rainha seja encontrada e morta. É uma alternativa viável para exterminar ninhos pequenos, porém inadequada quando se trata de ninhos com grandes dimensões. Já o controle físico é feito através do uso de barreiras para proteger a copa das árvores. Também

é uma forma eficiente de controle, porém necessita de reparos e vistorias constantes (JUSTI Jr. et al., 1996).

O controle químico consiste em estratégias que diferem, principalmente, quanto ao tipo de formulação e modo de aplicação. Os principais métodos utilizados são os formicidas pós e líquidos, que causam a morte das formigas por contato direto com o produto; a termonebulização, que consistem em lançar gases tóxicos nas câmaras do formigueiro; e as iscas tóxicas, que são grânulos contendo um ingrediente ativo tóxico às formigas (BUENO, 2005).

Segundo FORTI; BOARETTO (1997), embora existam diversos métodos de controle, o método químico é o único que apresenta tecnologia disponível para ser utilizado em escala comercial e, entre as suas estratégias em relação ao modo de aplicação, as iscas tóxicas destacam-se como as mais eficientes.

As iscas tóxicas devem conter um ingrediente ativo que atue inibindo a atividade das formigas (FORTI; BOARETTO, 1997). Os ingredientes ativos selecionados para a realização do presente trabalho foram a sulfluramida e a hidrametilnona. Experimentos para desenvolver novas formulações de iscas tóxicas com os ingredientes ativos selecionados foram realizados em laboratório no Centro de Estudos de Insetos Sociais por BUENO (2005) e apresentaram resultados eficientes no controle de formigas cortadeiras em ambos os casos.

2 REVISÃO DA LITERATURA

2.1 Formigas cortadeiras

As formigas da tribo *Attini* são atualmente divididas em 15 gêneros, com 297 espécies conhecidas. Os gêneros *Atta* e *Acromyrmex* estão entre os mais citados na literatura devido à vasta distribuição geográfica, capacidade de adaptação e aos danos causados na agricultura (DELLA LUCIA, 2011).

Os ninhos construídos por estas formigas são considerados um dos mais sofisticados da natureza, e sua escavação tem considerável custo energético para a colônia, mas resulta em benefícios significativos (HANSELL, 2007).

As colônias possuem organização social caracterizada pelo polimorfismo, ou seja, a existência de indivíduos morfológicamente diferentes de acordo com a função que desempenham. O polimorfismo está associado à formação de castas que, segundo Wilson (1971), são conjuntos de indivíduos morfológicamente distintos e especializados na execução de certos comportamentos ou atividades.

2.1.1 Divisão de castas

As formigas do gênero *Atta* habitam ninhos subterrâneos caracterizados por inúmeras câmaras e pela complexa organização social e divisão de tarefas entre os indivíduos da colônia (MARICONI, 1970).

As operárias são indivíduos estéreis que, segundo Wilson (1980), são divididos em quatro castas: as jardineiras, com cápsula cefálica entre 0,8 e 1,0 mm, que são responsáveis pela manutenção do jardim de fungo e pelos cuidados de limpeza e alimentação das crias; as generalistas, com cápsula cefálica entre 1,2 e 1,4 mm, que têm a tarefa de explorar recursos alimentares, cortando, limpando e transportando o material vegetal; as forrageiras, com cápsula cefálica entre 2,0 e 2,2 mm, que cortam, transportam e incorporam os fragmentos vegetais no jardim de fungo; e os soldados, com cápsula cefálica de aproximadamente 3,0 mm, que têm a função de defender a colônia, podendo também cortar e transportar material vegetal.

Além das castas de operárias citadas, existem também os machos, com cápsula cefálica de aproximadamente 3,0 mm, que têm como função fertilizar a rainha, e a própria rainha, com cápsula cefálica de 5,2 mm, que é responsável por

fundar a colônia, promover o crescimento do número de indivíduos e propagar a espécie. (WILSON, 1980; BOARETTO, FORTI, 1997).

2.1.2 Biologia das cortadeiras

Anualmente, colônias de *Atta sexdens rubropilosa* produzem machos e fêmeas alados, que saem do formigueiro para reproduzir e criar novas colônias durante um fenômeno chamado revoada. Na região Sudeste, ele normalmente ocorre nas primeiras chuvas da primavera, entre os meses de setembro e outubro (AGROCERES, 2011).

Durante esta época específica do ano, as fêmeas aladas levantam vôo, sendo seguidas pelos machos alados, e o acasalamento ocorre no ar (MARICONI, 1970). As fêmeas de *A. s. rubropilosa* podem copular com até oito machos durante uma única revoada (DELLA LUCIA, BENTO, 1993). Após a fecundação, as fêmeas retornam ao solo, livram-se de suas asas e procuram locais propícios para iniciar a construção de seu ninho. Elas escavam um canal com profundidade entre 10 e 25 cm, ao final do qual é construída uma câmara inicial. Este processo leva aproximadamente 10 horas e, após este período, é fundada uma nova colônia, a princípio formada somente pela rainha (DELLALUCIA, 1993).

Antes de sair de sua colônia inicial para a revoada, a fêmea aloja um pedaço de fungo simbiote em sua cavidade infrabucal. Após a construção da câmara inicial, ela regurgita este pedaço e passa a cultivá-lo com suas próprias fezes e secreções (WILSON, 1980).

2.2 O fungo simbiote

Uma das principais características das formigas cortadeiras é a relação simbiótica obrigatória que mantêm com um fungo específico, o *Leucoagaricus gongylophorus* Singer (Möller), base da alimentação da colônia, que é cultivado sobre fragmentos vegetais frescos (HÖLDOBLER, WILSON, 1990; WEBER, 1972). A origem desta associação é estimada em aproximadamente 45 - 65 milhões de anos, e existem várias hipóteses para explicá-la, mas a mais aceita é a de uma espécie ancestral Attini, que era forrageadora de carcaças de artrópodes e cultivava fungos facultativamente (MUELLER *et al.*, 2001).

Com o passar dos anos, a relação passou a ser obrigatória (MUELLER, 2002) e benéfica para ambos: o fungo é protegido de microrganismos patogênicos pelas formigas, que não permitem o crescimento de competidores e invasores que possam reduzi-lo ou matá-lo; e as formigas se beneficiam da quebra de enzimas feita pelo fungo, que possibilita a detoxificação de compostos dos vegetais que possam agir como inseticida (LITTLEDYKE, CHERRETT, 1978; NORTH et al., 1999).

Desde a origem da simbiose, as formigas e o fungo foram adaptando-se ao convívio mútuo, e um dos aspectos desta relação é a dependência nutricional entre eles (WEBER, 1972). As formigas fornecem o suprimento nutricional que permite o crescimento do fungo (material vegetal), e ele produz, em suas extremidades, estruturas chamadas gongilídeos, semelhantes a uma cápsula de nutrientes; estes formam conjuntos chamados estáfilas, oferecidas às larvas como principal fonte de alimentação, pois são ricas em carboidratos, aminoácidos e lipídeos (HÖLLDOBLER, WILSON, 1990).

2.2.1 Microrganismos invasores

O cultivo e a manutenção do fungo simbiote são alguns dos fatores mais importantes para o bom funcionamento do mutualismo existente entre fungos e formigas (DELLA LUCIA, 2011). As cortadeiras desenvolveram diversas adaptações e estratégias para cuidar de seu fungo, impedindo o crescimento de qualquer microrganismo invasor que possa competir com ele, como a limpeza do substrato vegetal coletado, por meio da retirada de esporos fúngicos e microrganismos da superfície das folhas (CURRIE, STUART, 2001), o uso de secreções antissépticas produzidas em glândulas específicas (RODRIGUES et al, 2008), a remoção de pedaços do jardim de fungo quando ocorre o crescimento de um invasor no local (CURRIE, STUART, 2001), entre outras.

Mesmo com todas estas estratégias, alguns microrganismos resistem a todas as defesas das formigas e são encontrados no interior de seus ninhos (CURRIE et al, 1999b). Isso ocorre quando há uma desestruturação na relação formiga-fungo, tanto pela intensa entrada e saída de operárias, que podem trazer consigo microrganismos variados (DELLA LUCIA, 2011), quanto devido ao uso de um inseticida, que faz com que haja diminuição das atividades de defesa da colônia.

Os fungos do gênero *Escovopsis* (Acomycota: Hypocreales) são encontrados nos jardins de fungo de quase todos os gêneros de formigas da tribo Attini (CURRIE et al., 1999a). São fungos de crescimento rápido, que causam infecções persistentes e diminuição do crescimento do jardim de fungo (CURRIE, 2001a). Seu desenvolvimento pode ocupar todo o espaço disponível na câmara de fungo em poucas horas, e a razão de seu rápido crescimento ainda é desconhecida, mas sabe-se que ele sobrevive devido à ação lítica que realiza sobre o fungo simbiote (REYNOLDS, CURRIE, 2004).

A contaminação pelo *Escovopsis* sp. em uma colônia de formigas cortadeiras ocasiona um impacto significativo em sua sobrevivência, pois diminui a taxa de crescimento, a produção de ovos, o desenvolvimento das larvas, e causa redução da biomassa tanto de formigas quanto de jardim de fungo (CURRIE, 2001b).

2.3 Formigas cortadeiras como pragas

Dentre as formigas cortadeiras presentes no Brasil, a subespécie *A. s. rubropilosa*, popularmente conhecida como saúva limão, encontra-se distribuída nos estados de São Paulo, Minas Gerais, Espírito Santo, Rio de Janeiro, Mato Grosso do Sul, Goiás e Paraná (ANJOS et al, 1998). Muitos estudos são realizados envolvendo esta espécie, que é a maior responsável pelos prejuízos causados em reflorestamentos, pastagens e na agricultura do país (MARICONI, 1970).

As formigas cortadeiras são consideradas pragas devido, principalmente, à sua alta capacidade de proliferação. A habilidade de colonizar e forragear desenvolvida por estas formigas, aliada ao desequilíbrio ecológico causado pela ação humana, permite que elas estabeleçam suas colônias e aumentem rapidamente sua densidade populacional (CHERRETT, 1986), causando danos econômicos não só em áreas agrícolas, mas também em áreas urbanas, como em construções, estradas, praças e parques (MARICONI, 1970; JUSTI Jr. et al, 1996).

As colônias das formigas cortadeiras são muito grandes e populosas. Em alguns casos, o ninho pode conter cerca de 8000 câmaras e mais de um milhão de operárias, necessitando assim de enormes quantidades de material vegetal para servir como substrato para o cultivo do fungo simbiote (KUSNEZOV, 1963; SCHULTZ, BRADY, 2008). Esta grande quantidade de material vegetal é trazida de diversos ambientes, mas a maior parte provém de locais cultivados pelo homem,

como pastagens e plantações, o que aumenta a relevância dos danos causados por elas e as caracteriza como uma das principais pragas presentes em regiões agrícolas (SCHNEIDER, 2003).

2.4 Métodos de controle

As formigas cortadeiras ocorrem durante o ano todo e não apresentam redução de sua população em épocas específicas, além de atacarem espécies vegetais de qualquer idade (DELLA LUCIA, ARAUJO, 2000). Estes fatores, associados aos danos econômicos causados pelos ataques em áreas agrícolas, fazem com que as formigas cortadeiras sejam alvo de inúmeras pesquisas e tentativas para desenvolvimento de novas metodologias de controle (MARINHO et al, 2006).

Diversas características biológicas e comportamentais das cortadeiras representam barreiras para a utilização de diferentes técnicas de controle, como a organização em sociedade, que lhes garante eficiência e maiores chances de sobrevivência (WILSON, 1971), a associação com o fungo simbiote, que serve de alimento e limita a ação de substâncias tóxicas ao fungo (MARTIN, WEBER, 1969), a forma como os ninhos são construídos, com muitas câmaras interligadas que prejudicam a disseminação de tóxicos na colônia (MARINHO et al, 2006), entre outros.

Vários métodos têm sido estudados para controlar as formigas cortadeiras, entre eles o cultural, mecânico, físico, biológico e químico. Porém, desde a década de 50, com o desenvolvimento dos inseticidas, os métodos químicos são utilizados com mais frequência e eficiência que os demais (BOARETTO, FORTI, 1997)

O controle cultural é realizado através da aração do solo, que é perfurado pelas lâminas do equipamento, destruindo o formigueiro e possivelmente matando a rainha (DELLA LUCIA, VILELA, 1993). Este método só é viável em formigueiros jovens, com até quatro meses de idade, quando ainda há somente uma câmara de fungo e ela se localiza a aproximadamente 20 cm de profundidade do solo. Para formigueiros adultos, o método não é eficiente e pode trazer resultados inesperados, pois a perfuração do solo desestrutura a colônia, impedindo sua atividade por certo tempo, mas, posteriormente, ela volta a se reorganizar e sua localização torna-se mais difícil (BOARETTO, FORTI, 1997).

O controle mecânico consiste na escavação dos formigueiros até que a rainha seja encontrada e morta. Também só é viável em ninhos com poucos meses de idade, em que a câmara de fungo encontra-se próxima a superfície (DELLA LUCIA, VILELA, 1993).

O método mais antigo é o controle físico, realizado através do uso de barreiras que protegem as copas das árvores dos ataques das formigas. Estas barreiras podem ser formadas por cones ou tiras plásticas cobertas com graxa, e são muito eficientes em pequenas plantações, porém necessitam de reparos e manutenções constantes para que a proteção seja mantida (JUSTI Jr. et al, 1996).

O controle biológico tem sido uma área de pesquisa muito promissora, mas que necessita de mais estudos para que possa, de fato, ser viabilizada. Ele é realizado através de predadores e microrganismos patogênicos que regulam as populações de formigas, principalmente no período da revoada e início da formação de novas colônias. Os principais predadores são as aves silvestres, aranhas e coleópteros, e os principais microrganismos patogênicos são os fungos (ALMEIDA et al, 1983). Os experimentos de controle biológico feito através de microrganismos invasores são realizados inicialmente em laboratório e apresentam resultados positivos. Porém, quando os testes são levados para condições de campo, os resultados são variados e nem sempre tão eficientes, mostrando a necessidade de mais estudos na área (BOARETTO, FORTI, 1997).

2.4.1 Controle químico

Apesar de também apresentar certas restrições, o controle químico é o único que atualmente apresenta-se viável para utilização em escala comercial no controle de formigas cortadeiras. Seus métodos mais utilizados consistem em aplicar o produto tóxico diretamente ou próximo aos ninhos, porém em diferentes formulações (BOARETTO, FORTI, 1997).

As formulações em pó, por exemplo, constituem-se de um princípio ativo com ação de contato, e são aplicadas diretamente na abertura dos formigueiros utilizando um equipamento manual chamado polvilhadeira. O produto entra em contato diretamente com as formigas, porém apresenta diversas limitações, como a impossibilidade de atingir todas as câmaras de um formigueiro adulto, a necessidade

de solo seco, os riscos para o ambiente e para o aplicador (BUENO, 2005; MOREIRA, 1996).

Devido à baixa eficiência, as formulações líquidas foram pouco utilizadas no controle de cortadeiras. A necessidade de entrar em contato com as formigas e a enorme perda devido à absorção do solo fizeram com que estes produtos fossem rapidamente substituídos e inutilizados (FORTI, PRETTO, 1998).

Outro método utilizado é a termonebulização, que consiste em introduzir nos olheiros dos ninhos um inseticida veiculado em óleo diesel, que sob ação de calor, produz pequenas partículas semelhantes a uma fumaça tóxica (DELLA LUCIA, VILELA, 1993). Utiliza-se um aparelho chamado termonebulizador, e após a introdução do inseticida, todas as saídas de ar do ninho são fechadas para que a fumaça seja mantida na parte interna (FORTI, BOARETTO, 1997). A termonebulização é considerada um método rápido e eficiente para o controle de grandes ninhos, porém apresenta desvantagens econômicas e alto risco de intoxicação para o trabalhador que aplicará o produto (DELLA LUCA, VILELA, 1993).

Frente às desvantagens apresentadas pelos outros métodos de controle químico, as iscas tóxicas têm se tornado uma importante forma de controle de pragas, pois apresentam alta eficiência, custo não elevado, praticidade no manuseio e segurança ao aplicador (DELLA LUCA, VILELA, 1993; FORTI, BOARETTO, 1997), além de não necessitarem de equipamentos especializados e de permitirem o tratamento de formigueiros em locais de difícil acesso (LOEK, NAKANO, 1984).

2.4.2 Iscas tóxicas

As iscas tóxicas consistem em um ingrediente ativo, que é dissolvido em óleo de soja e incorporado a um substrato atrativo (BUENO, 2005). O substrato mais utilizado é a polpa cítrica desidratada, principalmente a derivada da laranja, embora outros materiais já tenham sido utilizados, como os derivados do milho, mandioca, trigo e cana (BOARETTO, FORTI, 1997). A mistura é prensada na forma de *pellets* e distribuída em locais próximos às trilhas das formigas cortadeiras. Ao saírem de seus ninhos para forragear, as operárias encontram os *pellets* e os carregam para o interior de suas colônias, onde eles são incorporados no jardim de fungo.

Segundo Fortiet al. (1998), para que um ingrediente ativo seja formulado em iscas tóxicas, ele deve preencher algumas exigências, como ser letal mesmo em

baixas concentrações, ser um inseticida de ingestão, ter ação lenta, não ser repelente, ser difundido rapidamente entre as operárias, entre outras.

Além destas características, as iscas tóxicas devem ser atrativas às formigas, mesmo a certas distâncias do ninho, devem ter ação tóxica retardada, com mortalidade abaixo de 15% no primeiro dia, pois os pellets devem ser distribuídos amplamente pela colônia antes que apareçam os primeiros sinais de intoxicação. Também devem apresentar especificidade às espécies alvo do controle, baixa toxicidade aos mamíferos e devem ser degradadas rapidamente, sem causar muitos prejuízos ao ambiente (FORTI et al., 1993; BUENO, CAMPOS-FARINHA, 1999).

As primeiras iscas tóxicas produzidas continham dodecacloro como princípio ativo, e apresentavam bom desempenho, pois o ingrediente não era repelente às formigas, agia por ingestão e tinha boa incorporação no jardim de fungo (BOARETTO, FORTI, 1997). A isca granulada com dodecacloro foi amplamente utilizada no Brasil até 1992, quando foi proibida em decorrência dos diversos danos ambientais que causava. No mesmo ano, as buscas por novos princípios ativos culminaram na descoberta da sulfluramida como um ativo substituto para o dodecacloro (FORTI, PRETTO, 1998).

Atualmente, a maioria das iscas comercializadas para controle de formigas cortadeiras é produzida à base de sulfluramida, com concentração 0,3%. Apesar disso, a busca por novos princípios ativos que possam ser desenvolvidos atuando no controle das formigas cortadeiras continua e resultou na descoberta de ingredientes promissores, como a hidrametilnona, que apresenta modo de ação semelhante ao da sulfluramida (RODRIGUES, 2004), e apresenta resultados eficientes e promissores no controle de diferentes espécies de *Atta* (BOARETTO, FORTI, 1997).

2.4.3 Sulfluramida

Lançada no mercado como substituta do dodecacloro, a sulfluramida apresenta baixa toxidade aos mamíferos, inclusive ao homem, e sua meia vida de 180 dias causa menos danos ao ambiente do que seu antecessor, que apresentava meia vida de 12 anos (ZANUNCIO et al., 1993; PINHÃO et al., 1993; CRUZ et al., 1996)

A sulfluramida (N-etil perfluoroctano sulfonamida), com fórmula estrutural representada na figura 01, pertence ao grupo químico das sulfonas fluoralifáticas (VANDER MEER *et al.*, 1985). Quando presente no organismo, este composto se transforma no metabólito perfluoroctano sulfonamida, que atua bloqueando o fluxo de elétrons da cadeia respiratória, na mitocôndria, interrompendo a síntese de ATP. As operárias intoxicadas com este ativo passam a ter movimentos lentos ou ausência de mobilidade (RODRIGUES, 2004; JACOB, 2001).

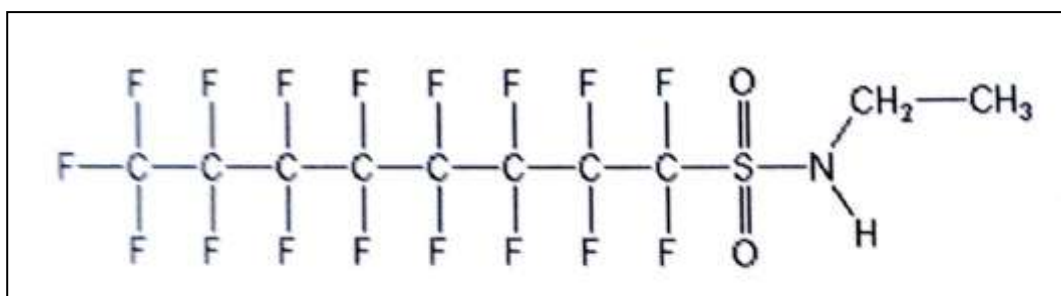


Figura 1: Fórmula estrutural da sulfluramida.

As iscas contendo sulfluramida foram bem aceitas desde o início de seu uso por várias espécies de formigas cortadeiras, como *A. laevigata*, *Acromyrmex subterraneus subterraneus* e *A. s. rubropilosa* (DELLA LUCIA *et al.*, 1992). Por este motivo, a maioria das iscas comercializadas atualmente para controle de formigas cortadeiras é produzida à base de sulfluramida, todas com a mesma concentração (0,3%) e o mesmo ingrediente atrativo, a polpa cítrica. Estas iscas estão disponíveis no mercado em diversas marcas, entre elas Dinagro-S, Mirex-S e Attamex-S (FORTI *et al.*, 1998).

2.4.4 Hidrametilnona

Apesar da descoberta da sulfluramida, diversas empresas continuam realizando investimentos em busca de produtos que tenham eficiência comparável e possam substituir este ativo (JACOB, 2001). Desta forma, muitos produtos de diferentes grupos químicos foram testados, entre eles a hidrametilnona.

Do grupo químico das amidinohidrazonas, com fórmula estrutural mostrada na figura 02, a hidrametilnona apresenta resultados promissores no controle de formigas do gênero *Atta* (MENDONÇA *et al.*, 1987). Ela atua inibindo o transporte

celular de elétrons e interrompendo o metabolismo de produção de energia, gerando perda de ATP (PERRY, 1997), que resulta na inatividade e paralisia das formigas (BLOOMQUIST, 1996).

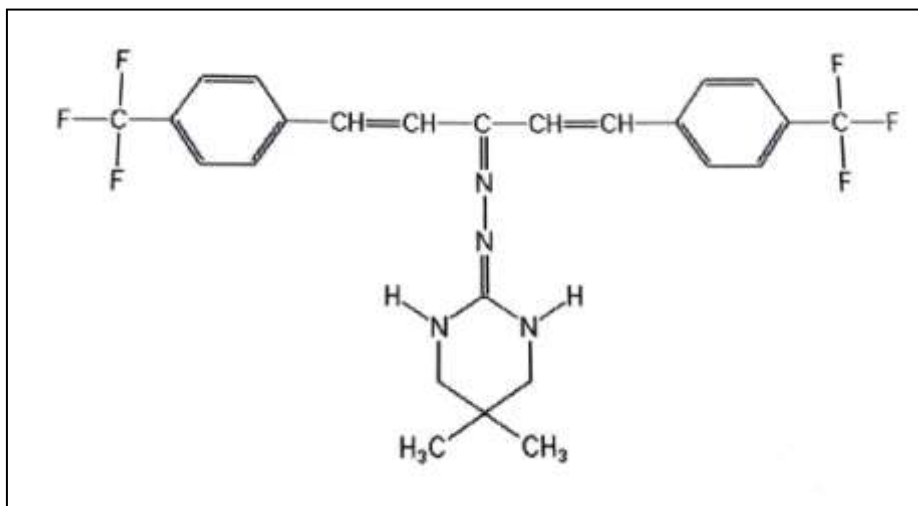


Figura 2: Fórmula estrutural da hidrametilnona.

As vantagens da hidrametilnona são a alta solubilidade em solventes orgânicos, a rápida degradação na luz do sol, meia vida de aproximadamente 4 dias no solo, e a alta toxicidade para insetos cujovia ingestão, mas baixa toxicidade ao contato cuticular dos humanos (HOLLINGSHAUS, 1987; BUENO, 2005).

3 OBJETIVOS

Baseando-se nestas informações, o presente trabalho tem como objetivo avaliar as alterações que ocorrem na dinâmica de colônias de *Atta sexdensrubropilosa* Forel, 1906 (Hymenoptera: Formicidae) submetidas ao tratamento com iscas tóxicas contendo os ingredientes ativos sulfluramida e hidrametilnona, as quais serão comparadas com uma colônia controle, que receberá isca sem nenhum ingrediente ativo.

Especificamente, serão avaliados:

- 1) Forrageamento das operárias sobre as iscas: contato, carregamento e repelência.
- 2) Incorporação e devolução das iscas.
- 3) Alterações comportamentais das operárias (sintomas de intoxicação).
- 4) Aspectos físicos do jardim de fungo: umidade e aparecimento de fungos contaminantes.
- 5) Extinção da colônia.

4 MATERIAIS E MÉTODOS

4.1. Manutenção das colônias em laboratório e delineamento experimental

Para a realização do experimento foram utilizadas três colônias de *Atta sexdens rubropilosa*, mantidas em laboratório no Centro de Estudos de Insetos Sociais (CEIS) do Instituto de Biociências da Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho” (UNESP) Campus de Rio Claro/SP, com aproximadamente 1000 mL de jardim de fungo cada, como representado na figura 03.

Antes do início do experimento, as colônias selecionadas foram adicionadas em vitrais medindo 30x20x03cm, contendo uma camada de gesso no fundo para manter a umidade. Posteriormente, outros dois recipientes plásticos, de 250 mL, foram interligados ao vitral por tubos plásticos transparentes, sendo um para fornecimento do alimento, chamado de câmara de forrageamento, e o outro para deposição de lixo, chamado de câmara de lixo. As colônias foram mantidas em sala climatizada e abastecidas diariamente com folhas de *Eucaliptus* sp. até que o jardim de fungo atingisse o volume ideal para a realização dos testes (1000 mL).

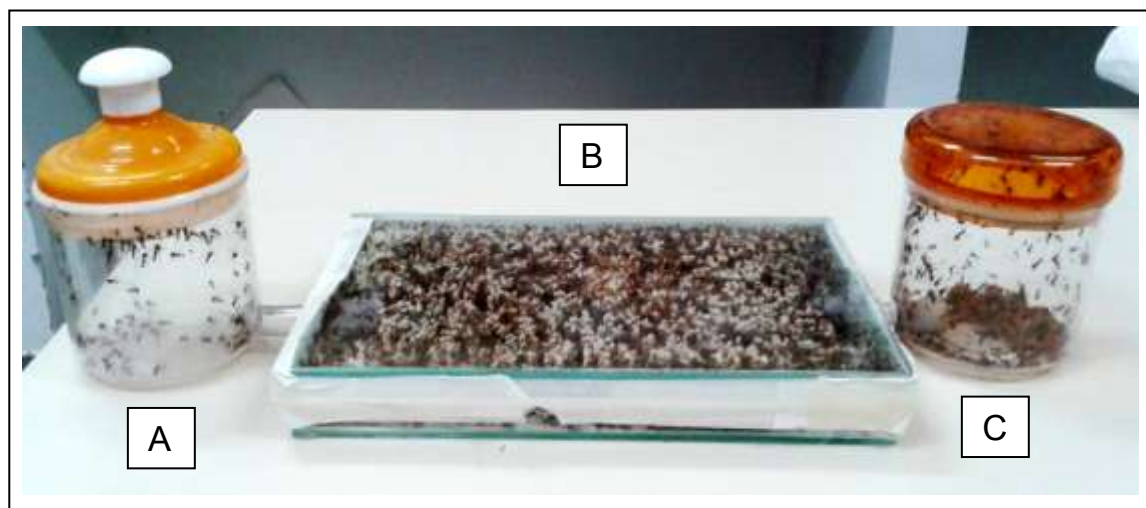


Figura 3: Vista geral de uma colônia de *Atta sexdens rubropilosa* mantida em laboratório, com câmara de forrageamento (A) e de lixo (C) em recipientes plásticos, e câmara de fungo (B) no vitral.

Um dia antes de iniciar o experimento, todo o lixo foi retirado e as colônias foram deixadas sem o fornecimento de seu recurso alimentar, as folhas. Após 24 horas sem

alimentação, as iscas foram oferecidas na câmara de forrageamento (Figuras 04 e 05) conforme o delineamento experimental descrito abaixo:

Colônia 1: foi utilizada como controle, e recebeu 3g de isca sem ingrediente ativo.

Colônia 2: recebeu 3g de isca comercial Dinagro-S contendo o ingrediente ativo sulfluramida na concentração 0,3%.

Colônia 3: recebeu 3g de isca produzida nos laboratórios do CEIS, contendo o ingrediente ativo hidrametilnona na concentração 1,0%.

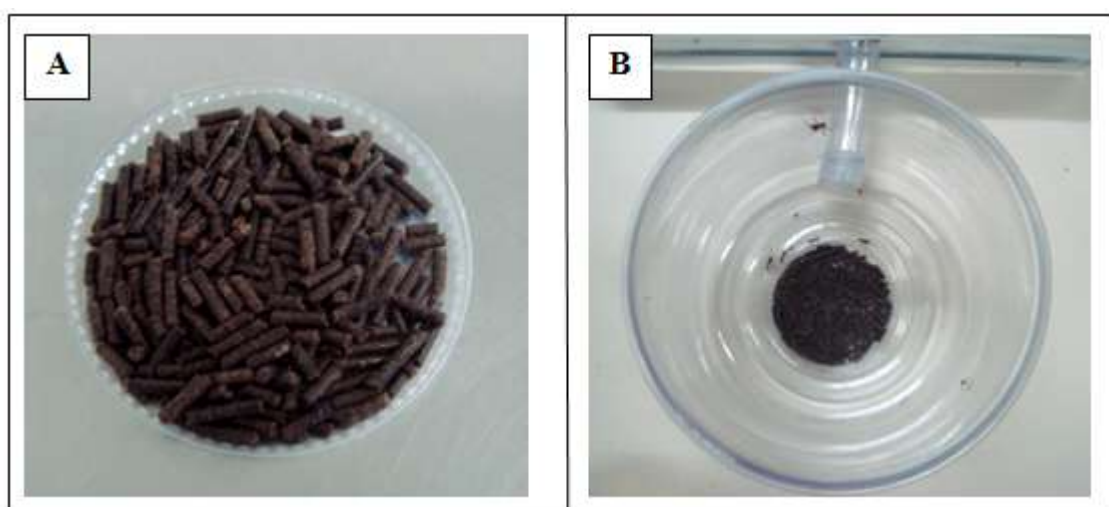


Figura 4: Três gramas de isca sem ingrediente ativo sendo pesadas na balança (A) e sendo oferecidas na câmara de forrageamento (B) de uma colônia de *Atta sexdens rubropilosa*.



Figura 5: Vista geral das três colônias de *Atta sexdens rubropilosa* com as respectivas iscas oferecidas na câmara de forrageamento.

4.2. Quantificação do carregamento, incorporação e devolução das iscas

A partir deste momento (tempo zero) e durante as três horas seguintes, foi avaliado o carregamento, a incorporação e a devolução da isca em cada colônia na seguinte escala:

Carregamento da isca: quantidade de isca que foi carregada da câmara de forrageamento para a câmara de fungo. Atividade realizada pelas operárias, utilizando as mandíbulas, e quantificada como: **0** - sem carregamento; **1** - carregamento de 25%; **2** - carregamento de 50%; **3** - carregamento de 75%; **4** - carregamento de 100%.

Incorporação da isca no jardim de fungo: quantidade de isca que foi efetivamente manipulada e incorporada pelas operárias no jardim de fungo da colônia, utilizando as peças bucais, a mandíbula e as pernas anteriores. Atividade quantificada como: **0** - sem incorporação; **1** - incorporação de 25%; **2** - incorporação de 50%; **3** - incorporação de 75%; **4** - incorporação de 100%.

Devolução da isca: quantidade de isca que foi carregada da câmara de fungo até a câmara de lixo para ser abandonada pelas operárias, utilizando a mandíbula. Atividade quantificada como: **0** - sem devolução; **1** - devolução de 25%; **2** - devolução de 50%; **3** - devolução de 75%; **4** - devolução de 100%.

As iscas foram oferecidas somente no primeiro dia e, após 24 horas do oferecimento, as colônias voltaram a receber a quantidade usual de alimento (três folhas de *Eucalyptus* sp.). As iscas que foram abandonadas na câmara de fungo ou de lixo não foram retiradas.

4.3. Toxicidade e alterações comportamentais após a exposição às iscas

Após a exposição das formigas por 24 horas às iscas com e sem os ingredientes ativos, a mortalidade, sobrevivência e comportamento foram observados, durante 10 dias, no mesmo horário do tempo zero, por meio de avaliações visuais. Estas avaliações foram feitas visualmente a olho nu e com o auxílio de filmagens, feitas com a filmadora SONY HDR-CX150, na escala macro, e seguiram a seguinte escala de quantificação:

Intoxicação de formigas: quantidade de operárias apresentando alterações comportamentais que pudessem ser classificadas como sintomas de intoxicação, tais como tremores nas pernas, dificuldade de se locomover e imobilidade, causadas pelo uso dos ativos nas colônias. A avaliação foi feita diariamente e quantificada como: **0** - sem sintomas de intoxicação; **1** - 25% das formigas com sintomas; **2** - 50% das formigas com sintomas; **3** - 75% das formigas com sintomas e; **4** - 100% das formigas com sintomas.

Corte de folhas: quantidade de folhas de *Eucalyptus* sp. cortadas pelas operárias, utilizando a mandíbula. Observação feita diariamente e quantificada como: **0** - sem corte de folhas; **1** - corte de 25% das folhas; **2** - corte de 50% das folhas; **3** - corte de 75% das folhas; **4** - corte de 100% das folhas.

Mortalidade de formigas: quantidade de operárias mortas em todas as partes da colônia. Observações diárias, quantificadas como: **0** - sem mortalidade de formigas; **1** - 25% das formigas mortas; **2** - 50% das formigas mortas; **3** - 75% das formigas mortas e; **4** - 100% das formigas mortas.

Colônia com mudança de câmara: através das operárias, ocorrência de mudança de pedaços do jardim de fungo e das formas imaturas (crias) da câmara de fungo para outras câmaras da colônia, como a de forrageamento ou de lixo. Observação realizada diariamente e classificada como: **0** - sem mudança de panela; **1** - com mudança de panela.

Corte de fungo: quantidade de pedaços do jardim de fungo cortados pelas operárias utilizando as peças bucais, mandíbulas e pernas anteriores. Atividade quantificada diariamente como: **0** - sem corte de fungo; **1** - 25% do fungo cortado; **2** - 50% do fungo cortado; **3** - 75% do fungo cortado; **4** - 100% do fungo cortado.

Colônia com redução no jardim de fungo: ocorrência de redução no tamanho do jardim de fungo devido à falta de cuidado das operárias. Observação diária e classificação como: **0** - sem redução; **1** - com redução.

Colônia com fungo filamentoso: ocorrência e contaminação da colônia com fungos filamentosos, que surgem quando as operárias deixam de realizar suas atividades e a colônia passa a apresentar alterações, como aumento da umidade, que favorece o surgimento destes fungos oportunistas. Avaliação realizada diariamente como: **0** - sem ocorrência de contaminação; **1** - com ocorrência de contaminação.

Mortalidade da rainha: avaliação da sobrevivência da rainha. Observação realizada diariamente e classificada como: **0** - rainha viva; **1** - rainha morta.

Condições da colônia: avaliação das condições de sobrevivência da colônia. Observação quantificada diariamente como: **0** - colônia completamente morta; **1** - regressão de 75% da colônia; **2** - regressão de 50% da colônia; **3** - regressão de 25% da colônia e; **4** - colônia em perfeitas condições.

Atividade das operárias: quantidade de formigas envolvidas na manipulação das iscas, do jardim de fungo, no cuidado da rainha e das crias. Observações realizadas de hora em hora por 10 dias e quantificadas como: **4** – normal, 0% de alteração; **3** – pouco, 25% de alteração; **2** – médio, 50% de alteração; **1** – muito, 75% de alteração; **0** – total, 100% de alteração.

Limpeza das operárias: a atividade de limpeza, também conhecida como *grooming*, é um comportamento observado com frequência nas formigas cortadeiras. Elas podem realizar a autolimpeza (*selfgrooming*) e a limpeza coletiva (*allogrooming*) (BARBIERI, 2007). Por este motivo, ainda foram realizadas avaliações quantitativas das atividades de limpeza individual e coletiva das operárias nos tratamentos quando comparadas ao controle. As observações foram feitas de hora em hora por 10 dias, e quantificadas como: **0** – normal, 0% de alteração; **1** – pouco, 25% de alteração; **2** – médio, 50% de alteração; **3** – muito, 75% de alteração; **4** – total, 100% de alteração.

Após 10 dias de observações, os dados obtidos foram comparados com aqueles descritos por Bueno (2005), que realizou testes para avaliar a eficiência e a concentração ideal dos ingredientes ativos sulfluramida e hidrametilnona no controle de formigas cortadeiras *A. s. rubropilosa* com iscas tóxicas.

4.4. Avaliação das alterações comportamentais, determinação do tempo de ação dos ativos e organização do material didático visual

A partir dos dados obtidos no presente trabalho, foram feitas análises das atividades comportamentais das colônias, ou seja, as alterações que ocorrem no comportamento das operárias quando elas entram em contato com os inseticidas, comparadas ao controle. Este aspecto é fundamental para verificar o início da intoxicação das operárias e quando elas perdem o controle de seus comportamentos

sociais. As observações também foram utilizadas para determinar, de forma mais precisa, o tempo de ação de cada ingrediente ativo.

Paralelamente a isto, também foram elaborados vídeos, utilizando as filmagens feitas durante o experimento, ilustrando as alterações provocadas pelos ingredientes ativos, quando comparadas com o controle. Os vídeos serão utilizados com fins didáticos em aulas e apresentações do CEIS para alunos e empresas visitantes.

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

A Tabela 01 contém os resultados obtidos ao final de 10 dias de observação das colônias após o oferecimento das iscas. Os aspectos gerais avaliados foram o carregamento dos grânulos de isca, sua manipulação, incorporação no jardim de fungo, e a possível devolução na câmara de lixo. Nos processos de carregamento, incorporação e devolução da iscatóxica ocorreu intensa manipulação dos grânulos por diversas castas da colônia e, desta forma, a maioria das operárias tornou-se contaminada pelo ingrediente ativo (FORTI *et al*, 1993).

Após a contaminação, surgiram diversas mudanças no comportamento das operárias e alterações na dinâmica das colônias tratadas com sulfluramida e hidrametilnona. O processo de limpeza das formigas e sua frequência, o surgimento dos sintomas e a mortalidade das operárias, a contaminação da colônia com o fungo branco, a interrupção do corte das folhas oferecidas como recurso alimentar, a possível mudança de câmara do jardim de fungo, a morte da rainha, a porcentagem de corte do jardim de fungo e a mortalidade geral da colônia foram observados após o oferecimento das iscas.

	Controle	Sulfluramida 0,3%	Hidrametilnona 1,0%
1. Carregamento da isca (%)	100	100	100
2. Incorporação da isca (%)	100	60	100
3. Manipulação da isca	Intensa	Intensa	Intensa
4. Devolução da isca (%)	0	40	0
5. Início dos sintomas das operárias (horas)	0	12 ^a	24 ^a
6. Interrupção no corte das folhas (dias)	Não	2 ^o	2 ^o
7. Mortalidade das formigas (%)	0	100	100
8. Mudança de câmara	Não	Não	Não
9. Corte de fungo após incorporação das iscas (%)	0	10	75
10. Redução no jardim de fungo	Não	Sim	Sim
11. Início da contaminação com fungo branco (dias)	---	3 ^o	6 ^o
12. Mortalidade da rainha	Não	Não	Não
13. Mortalidade da colônia (dias)	---	6 ^o	9 ^o
14. Alteração na atividade das operárias (%)	0	100	100
15. Início da intensificação da limpeza nas operárias (horas)	---	6 ^a	12 ^a
16. Frequência de limpeza	Normal	Alta	Alta
17. Tempo de ação dos ingredientes ativos (horas)	---	46 ^a	48 ^a

Tabela 1: Alterações comportamentais nas colônias de *Atta sexdens rubropilosa* tratadas com iscas controle, sulfluramida 0,3% e hidrametilnona 1,0% ao final de 10 dias de exposição.

5.1. Quantificação do carregamento, incorporação e devolução das iscas

Na Tabela 01, é possível observar que o carregamento das iscas no controle e nos dois tratamentos foi total (100%), ou seja, tanto a isca sem ingrediente ativo quanto a marca comercial com sulfluramida (Dinagro-S) e a elaborada nos laboratórios do CEIS com hidrametilnona foram bem aceitas pelas formigas no momento em que estas entraram em contato. A colônia que recebeu sulfluramida apresentou carregamento completo nas duas primeiras horas de experimento,

seguida pela colônia de hidrametilnona, com seis horas, e a colônia controle, com sete horas.

A manipulação das iscas pelas operárias foi intensa nos três tratamentos, e sua incorporação no jardim de fungo da colônia tratada com hidrametilnona e no controle foi completa, visto através de pontos mais escuros no jardim de fungo (Figura 06, A e C), sem que houvesse devolução. Por outro lado, na colônia que recebeu sulfluramida, somente 60% da isca carregada foi incorporada e, ainda no primeiro dia, os outros 40% foram abandonados na câmara de fungo (Figura 06, B) ou devolvidos na câmara de lixo (Figuras 07 e 08).

Esta devolução também foi registrada nos experimentos de Bueno (2005), onde 40% da isca Dinagro-S também deixou de ser incorporada e foi devolvida na câmara de lixo ainda nos primeiros dias do experimento. Como todas as iscas foram preparadas utilizando a mesma matriz, a polpa cítrica, este fato provavelmente ocorreu porque as formigas detectaram a presença do ingrediente ativo e passaram a rejeitar a isca, retirando-a do interior dos seus ninhos e carregando-a para a câmara de lixo (DELLA LUCIA; VILELA, 1993).

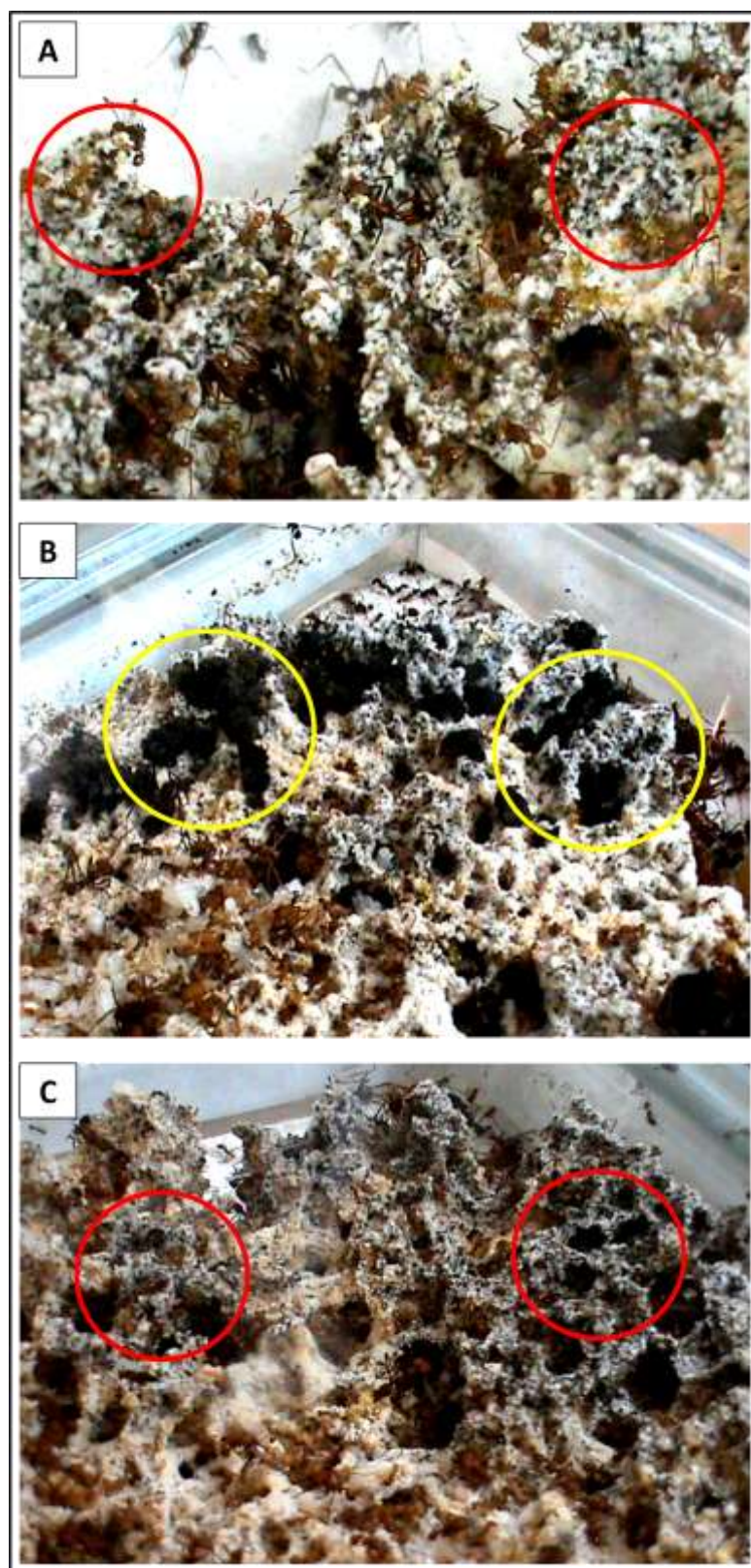


Figura 6: Jardim de fungo das colônias de *Atta sexdens rubropilosa* com incorporação completa (círculos vermelhos) e incompleta (círculos amarelos) das iscas após 24 horas de exposição. A: controle, B: sulfluramida 0,3% e C: hidrametilnona 1,0%.

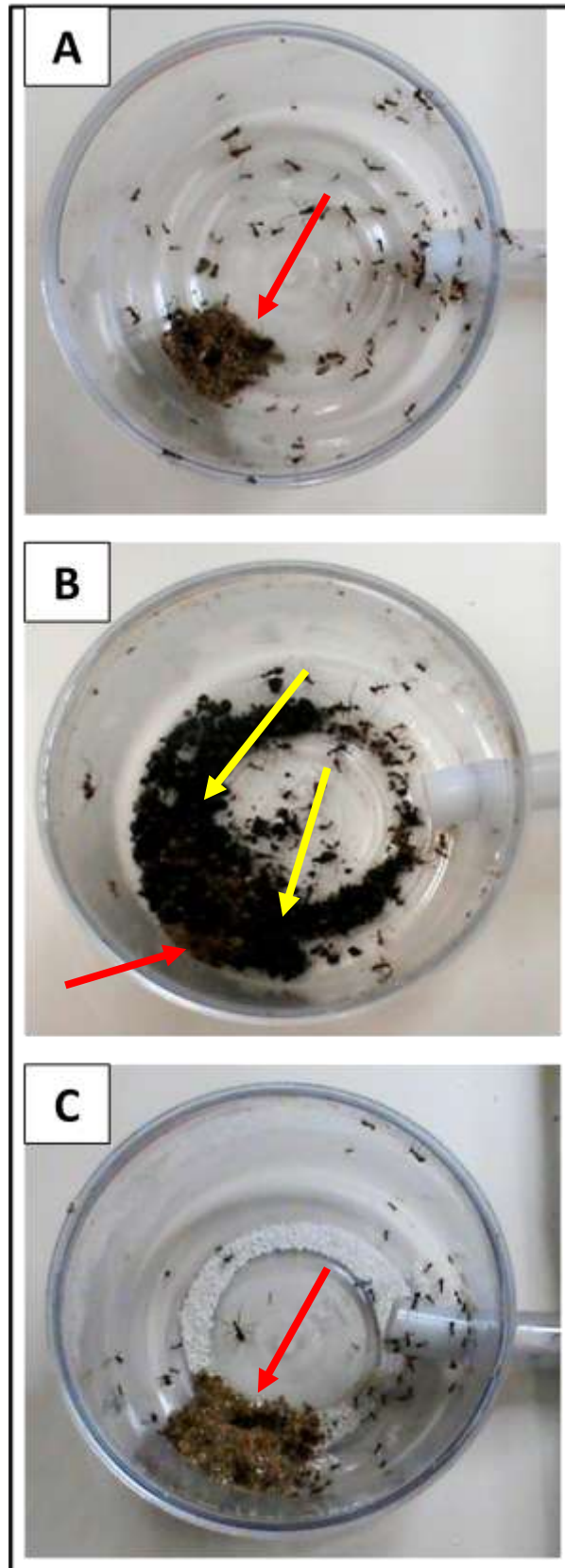


Figura 7: Câmara de lixo das colônias de *Atta sexdens rubropilosa* após 24 horas de exposição às iscas, contendo apenas resíduos vegetais (seta vermelha) e iscas tóxicas de sulfluramida (seta amarela). A: controle, B: sulfluramida 0,3% e C: hidrametilnona 1,0%.



Figura 8: Operárias carregando os grânulos de isca (círculo vermelho) para a câmara de lixo na colônia de *Atta sexdens rubropilosa* tratada com isca tóxica contendo sulfluramida 0,3%.

5.2. Toxicidade e alterações comportamentais após a exposição às iscas

As colônias tratadas com iscas contendo ingredientes ativos apresentaram diversos sinais de intoxicação, principalmente dificuldade de locomoção, tremores nas pernas e imobilidade.

Na colônia tratada com isca controle, nenhuma das formigas apresentou tais sintomas e suas atividades foram mantidas normalmente durante todo o experimento.

Já na colônia que recebeu isca com sulfluramida, os primeiros sinais de intoxicação surgiram a partir da 12^a hora de experimento (Tabela 01), quando algumas formigas pequenas começaram a apresentar alterações na posição das pernas, que ficaram distendidas, e dificuldade de locomoção, o que fez com que suas atividades se tornassem mais lentas. Segundo Rodrigues (2004), a sulfluramida atua bloqueando o fluxo de elétrons da cadeia respiratória nas mitocôndrias, interrompendo a síntese de ATP e diminuindo a mobilidade das formigas, por isso suas atividades ficam mais lentas. Da 30^a hora em diante, todas as operárias já apresentavam os sintomas de intoxicação citados, além de tremores nas pernas e nas antenas, e todas as atividades realizadas por elas sofreram reduções por falta de energia. Nos experimentos de Bueno (2005), os mesmos sinais de intoxicação

foram observados ainda no primeiro dia, como tremores nas pernas e falta de mobilidade.

No tratamento com isca contendo hidrametilnona, os sintomas começaram a partir da 24^a hora (Tabela 01), quando as jardineiras passaram a apresentar espasmos, tremores nas pernas e antenas, e algumas operárias médias permaneceram com as pernas distendidas, porém ainda se locomovendo. Segundo Perry (1997), a hidrametilnona atua inibindo o transporte celular de elétrons e, assim como a sulfluramida, interrompe o metabolismo de produção de energia, gerando perda de ATP. O resultado desta ação é a inatividade e paralisia das formigas, notada a partir da 48^a hora, quando todas as operárias passaram a ficar imóveis, aparentemente sem forças para se locomover, e reduziram suas atividades. Os mesmos sinais de intoxicação foram observados por Bueno (2005), como tremores e imobilidade, a partir do segundo dia de experimento nas colônias tratadas com hidrametilnona 1%.

Portanto, os sintomas tiveram início e atingiram todas as operárias mais rapidamente no tratamento com sulfluramida do que no tratamento com hidrametilnona. Em ambos os tratamentos, as formigas menores foram as primeiras a apresentar sinais de intoxicação, provavelmente porque, por serem responsáveis pela incorporação do alimento no jardim de fungo, elas manipularam mais as iscas do que as operárias maiores, que apenas carregaram os grânulos para o interior da câmara de fungo.

A mortalidade das formigas começou a ocorrer somente após todas as operárias já apresentarem os sintomas de intoxicação. Nas colônias tratadas com os ingredientes ativos, a mortalidade começou a partir do final do segundo dia de experimento, e aumentou gradativamente no decorrer dos dias (Figura 09).

A colônia controle apresentou mortalidade natural das formigas no decorrer do experimento, estimada em 15%.

Por outro lado, na colônia tratada com sulfluramida, a mortalidade começou a partir do final do 2º dia (46^a hora), atingindo primeiro as operárias de tamanhos menores e depois as maiores. Após 3 dias de experimento (72 horas), a maioria das formigas estava morta e as poucas que permaneciam vivas estavam imóveis, sem realizar suas atividades. Assim como nos experimentos de Bueno (2005), a mortalidade total ocorreu após o 6º dia de experimento, quando todas as formigas, exceto a rainha, estavam mortas (Figura 09).

Já no tratamento com hidrametilnona, a mortalidade começou a partir do segundo dia (48 horas), também atingindo inicialmente as operárias pequenas e, após o 4º dia, as operárias grandes. Mesmo com a mortalidade se intensificando, algumas formigas permaneceram vivas, realizando suas atividades lentamente, o que fez com que a colônia sobrevivesse por mais tempo que a colônia tratada com sulfluramida. Somente após o 9º dia ocorreu mortalidade total das formigas, exceto a rainha (Figura 09), mostrando um resultado diferente do obtido nos experimentos de Bueno (2005), quando a colônia tratada com hidrametilnona 1% só foi considerada morta após o 11º dia.

Portanto, a sulfluramida, mesmo tendo uma concentração três vezes menor, parece ser mais tóxica que a hidrametilnona, pois os indivíduos contaminados permaneceram paralisados, sem realizar suas atividades, e morreram mais rapidamente.

O tempo inicial de ação dos dois ativos foi próximo, sendo a sulfluramida com 46 horas e a hidrametilnona com 48 horas. Porém, a concentração da sulfluramida é bem inferior a da hidrametilnona, o que denota seu potencial de contaminação mesmo em pequenas concentrações.

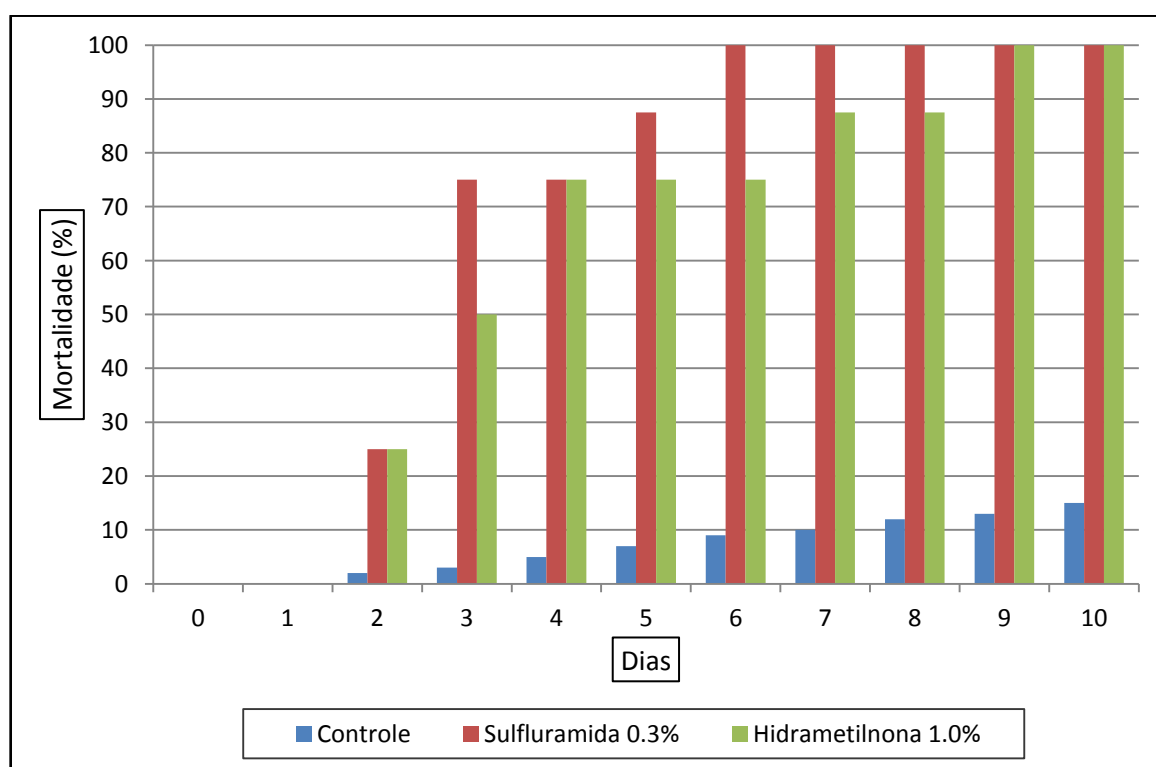


Figura 9: Mortalidade diária das operárias em colônias de *Atta sexdens rubropilosa* tratadas com iscas controle, sulfluramida 0,3% e hidrametilnona 1,0%.

Após o surgimento dos sintomas de intoxicação, o comportamento das operárias foi alterado e todas as atividades realizadas normalmente nas colônias sofreram modificações, como o corte das folhas (oferecidas como substrato) e do jardim de fungo.

Na colônia que recebeu isca controle, o corte de folhas ocorreu normalmente, ou seja, permaneceu constante do primeiro ao último dia de experimento. Entretanto, nas colônias tratadas com sulfluramida e hidrametilnona não houve corte de folhas durante todo o período de avaliação de 10 dias, pois no segundo dia de experimento, quando o alimento voltou a ser oferecido para as colônias, elas já apresentavam sintomas de intoxicação e mudanças no comportamento das operárias. Elas deixaram de realizar as atividades comuns de carregamento, corte e incorporação das folhas, e passaram a utilizar a energia que ainda restava para carregar os grânulos da isca e pedaços do jardim de fungo para a câmara de lixo, provavelmente a fim de eliminar as substâncias contaminantes da colônia, que era a prioridade naquele momento.

Uma das principais estratégias utilizadas pelas operárias para manter uma colônia em boas condições é a constante manutenção de seu jardim de fungo (WEBER, 1972). Quando é detectada a presença de uma substância tóxica ou o crescimento de um microrganismo invasor, partes do jardim de fungo são removidas para impedir a contaminação das operárias e diminuir o desenvolvimento dos organismos que possam competir com fungo simbiote (CURRIE; STUART, 2001).

Na colônia controle, o corte do fungo simbiote foi considerado normal durante todo o experimento mas, nas colônias tratadas com iscas tóxicas, as formigas cortaram pedaços do fungo simbiote (Figura 10), descartaram-nos na câmara de lixo e, conseqüentemente, houve diminuição do tamanho do jardim de fungo.

No tratamento com sulfluramida, após o primeiro dia de experimento, as formigas tentaram cortar pequenos pedaços do fungo simbiote e carregá-los em direção a câmara de lixo. Poucos pedaços foram realmente cortados e levados até lá, pois as operárias já apresentavam sintomas de intoxicação, como tremores nas pernas e imobilidade. Os sintomas aumentaram rapidamente e elas abandonaram suas atividades sobre o jardim de fungo pouco tempo depois, no segundo dia, deixando os poucos pedaços cortados na própria câmara de forrageamento.

Já na colônia tratada com hidrametilnona, o corte começou somente após o segundo dia de experimento, quando as operárias começaram a abandonar as atividades de manipulação dos grânulos da isca e passaram a cortar pedaços do fungo, também carregando-os para a câmara de lixo. Mesmo com o aumento dos sintomas de intoxicação, as operárias que se mantinham vivas permaneceram cortando e carregando pedaços do fungo, na tentativa de eliminar a substância tóxica da colônia. Este comportamento continuou até o 8º dia de experimento, quando as atividades sobre o jardim também foram abandonadas.

De forma comparativa, as operárias do tratamento com hidrametilnona conseguiram cortar e transportar muito mais pedaços de fungo contaminado do que na colônia com sulfluramida (Figura 11). Isto ocorreu, provavelmente, porque os sintomas tiveram início e se intensificaram mais rápido nas operárias tratadas com sulfluramida, que logo abandonaram suas atividades.

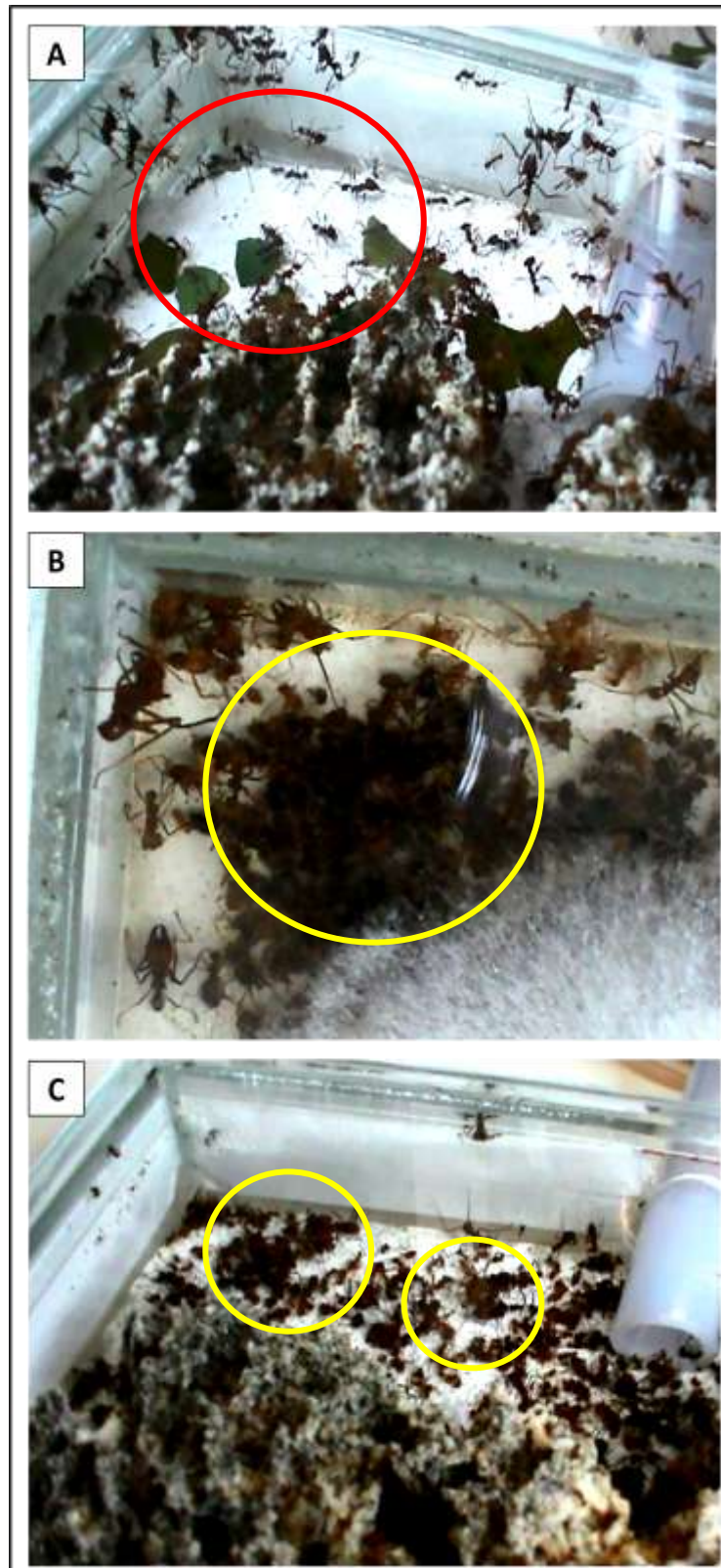


Figura 10: Câmara de fungo das colônias de *Atta sexdens rubropilosa* tratadas com iscas controle (A), sulfluramida 0,3% (B) e hidrametilnona 1,0% (C) com ausência (círculo vermelho) e presença (círculo amarelo) de pedaços de fungo cortados no 3º dia de exposição.

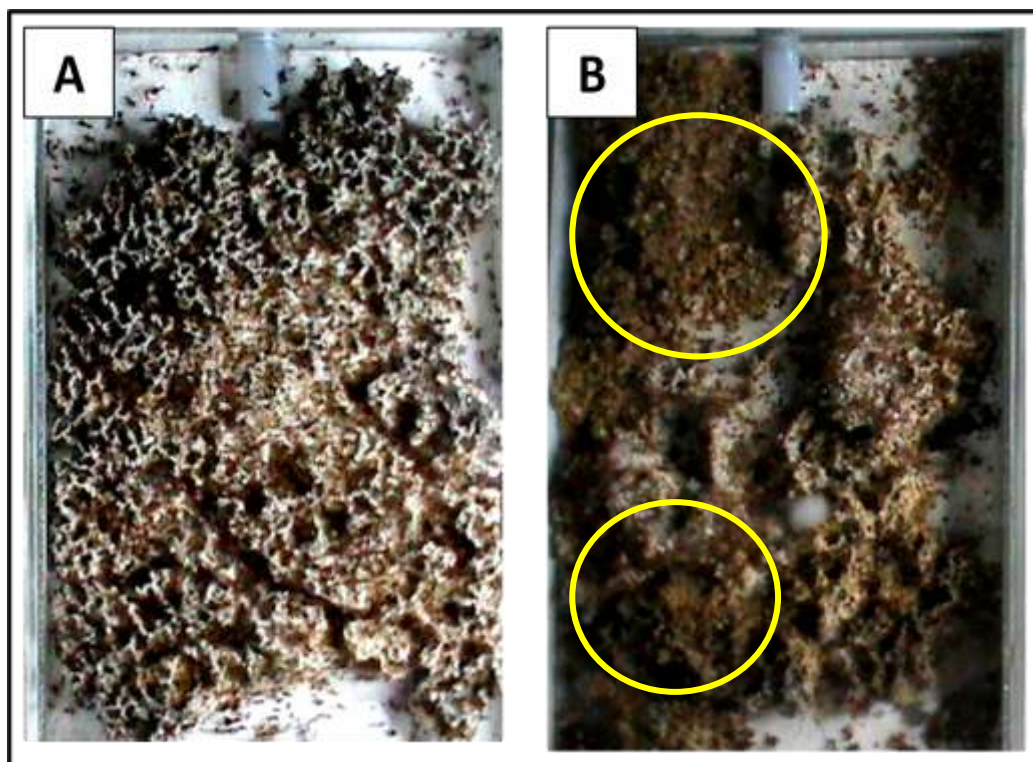


Figura 11: Comparação entre as câmaras de fungo das colônias de *Atta sexdens rubropilosa* tratadas com isca controle (A) e hidrametilnona 1,0% (B) no 7º dia de exposição, com pedaços de jardim de fungo cortados pelas operárias (círculo amarelo) na figura B.

O equilíbrio na relação entre as formigas e o fungo simbiote é um dos fatores mais importantes para o bom funcionamento de uma colônia de formigas cortadeiras. Porém, este equilíbrio pode ser afetado e, quando isso ocorre, alguns microrganismos invasores podem se desenvolver de maneira incontrolável (RODRIGUES, 2004).

Durante o experimento, este desequilíbrio na colônia ocorreu devido ao uso das iscas tóxicas, que gerou sintomas de intoxicação e diminuição das atividades de proteção realizadas pelas operárias. A primeira alteração observada no aspecto geral das colônias tratadas com iscas tóxicas foi o aumento progressivo da umidade, visível na forma de água condensada na tampa do vitral da câmara de fungo. Esta associação entre a diminuição da proteção e o aumento da umidade na colônia contribuiu para o desenvolvimento do fungo filamentosso *Escovopsis* sp. no jardim de fungo dos tratamentos com iscas tóxicas (RODRIGUES, 2004).

Na colônia controle não foi observada a presença de fungo filamentosso ou outro tipo de fungo durante o período das avaliações.

Na colônia tratada com sulfluramida, os sintomas de intoxicação surgiram com poucas horas de experimento e, ao final do 2º dia (48 horas), todas as atividades realizadas pelas operárias haviam sido interrompidas. O aumento da umidade foi observado na sequência, quando surgiram as primeiras gotículas de água na tampa do vitral, e o primeiro sinal do *Escovopsis* sp. surgiu pouco tempo depois, no terceiro dia (52ª hora), como mostra a figura 12. Assim como nos experimentos de Rodrigues (2004) e de Bueno (2005), a incidência do fungo filamentoso foi observada somente no jardim de fungo e seu crescimento ocorreu de forma muito rápida visto que, após o 4º dia (96 horas), ele já havia se espalhado completamente pela câmara de fungo (Figura 13).

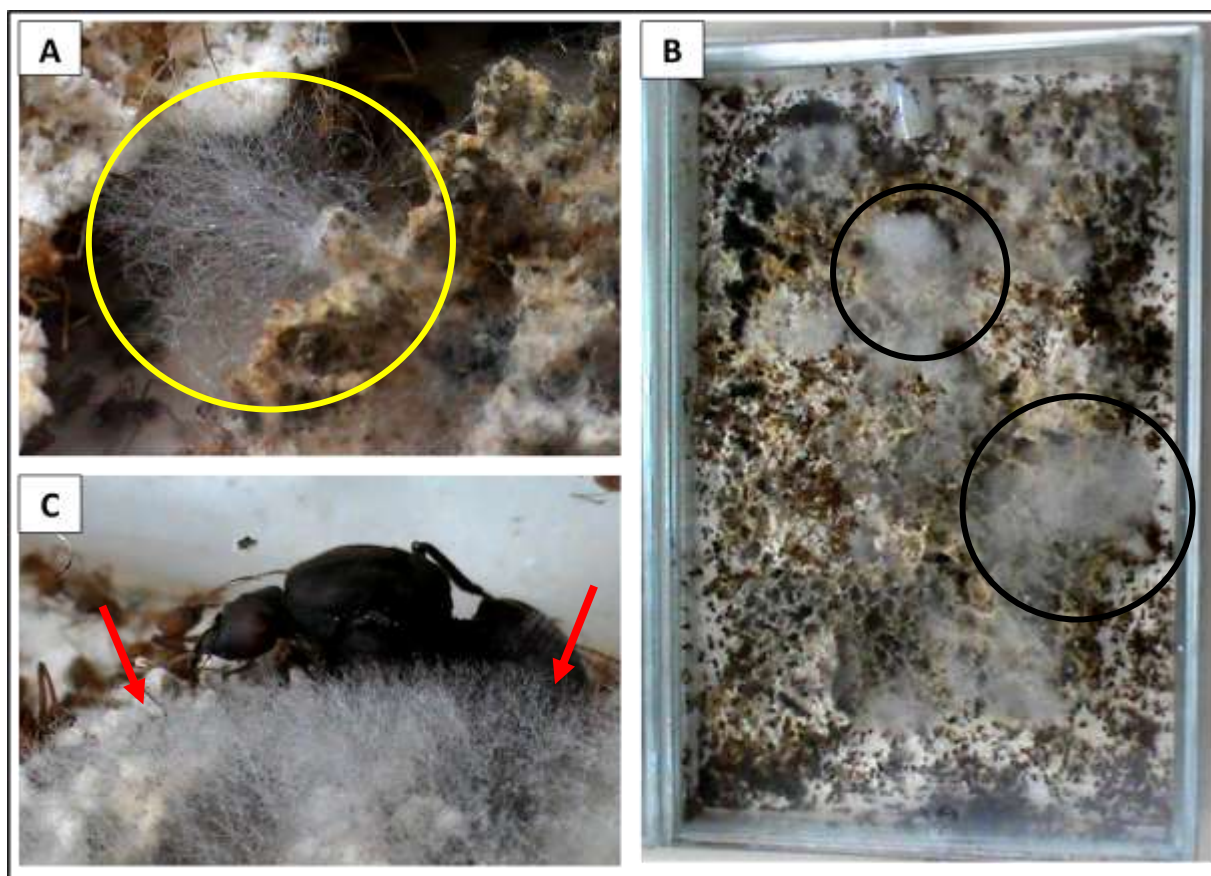


Figura 12: Contaminação do jardim de fungo da colônia de *Atta sexdens rubropilosa* tratada com isca à base de sulfluramida 0,3% pelo fungo filamentoso *Escovopsis* sp. no 3º dia de experimento. A: primeiro sinal do fungo filamentoso (círculo amarelo). B: fungo filamentoso se espalhando (círculo preto) após 4 horas do surgimento do primeiro sinal. C: rainha rodeada pelo fungo filamentoso (seta vermelha).

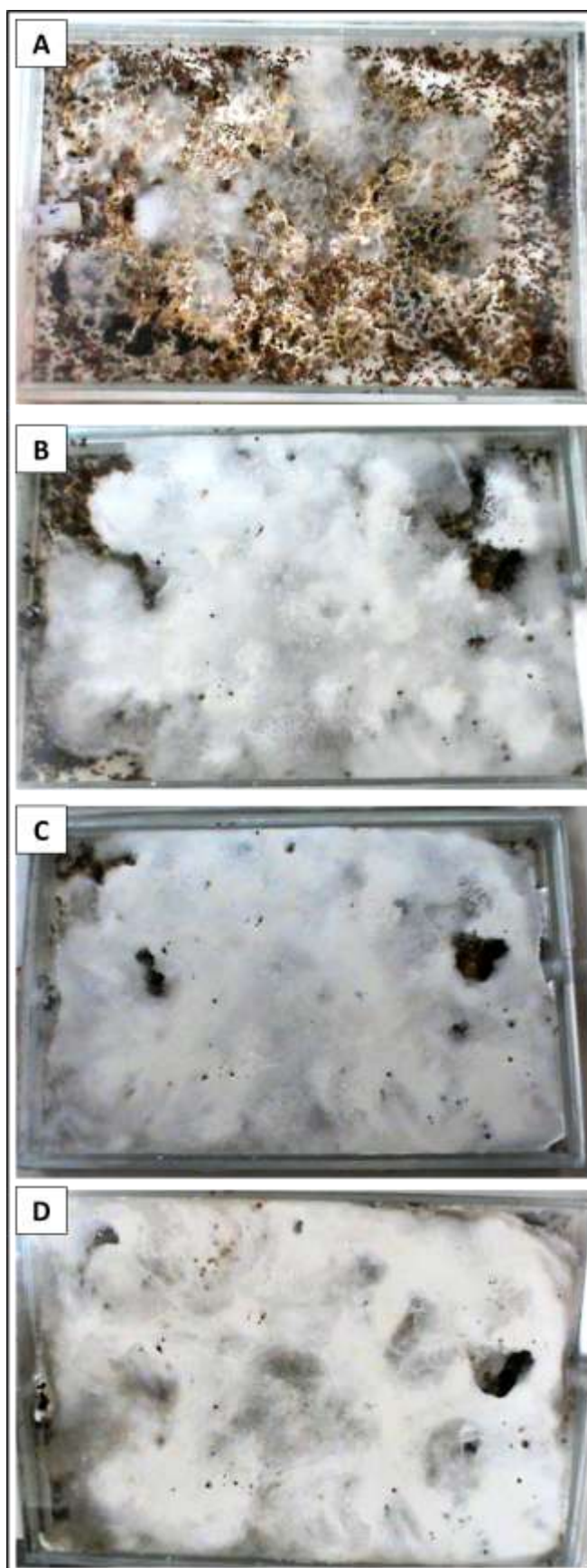


Figura 13: Contaminação com *Escovopsis* sp. no jardim de fungo da colônia de *Atta sexdens rubropilosa* tratada com isca sulfluramida 0,3% no 3º dia (A), 4º dia (B), 5º dia (C) e 6º dia (D) de exposição.

Já na colônia tratada com hidrametilnona, os primeiros sinais de intoxicação das formigas surgiram ao final do primeiro dia, mas em comparação com o tratamento de sulfluramida, a evolução dos sintomas foi mais lenta e as operárias demoraram muito mais tempo para abandonar suas funções. Após o 4º dia (96 horas) de experimento, o aumento da umidade começou a ser observado na tampa do vitral, mas somente no 6º dia (144 horas) surgiram os primeiros sinais do *Escovopsis* sp. (Figura 14). Estas observações diferem dos resultados descritos por Bueno (2005), quando os primeiros sinais do fungo oportunista surgiram mais cedo, e após o 6º dia de experimento, a colônia já estava completamente contaminada.

Apesar de não ter se espalhado por toda a extensão da câmara de fungo, o fungo filamentoso cresceu rapidamente (Figura 15), e outro tipo de fungo não identificado surgiu na câmara de lixo no 8º dia (Figura 16). Segundo Rodrigues (2004), na maioria dos ninhos tratados com hidrametilnona pode-se observar o crescimento de fungos filamentosos na câmara de fungo e também na câmara de lixo.

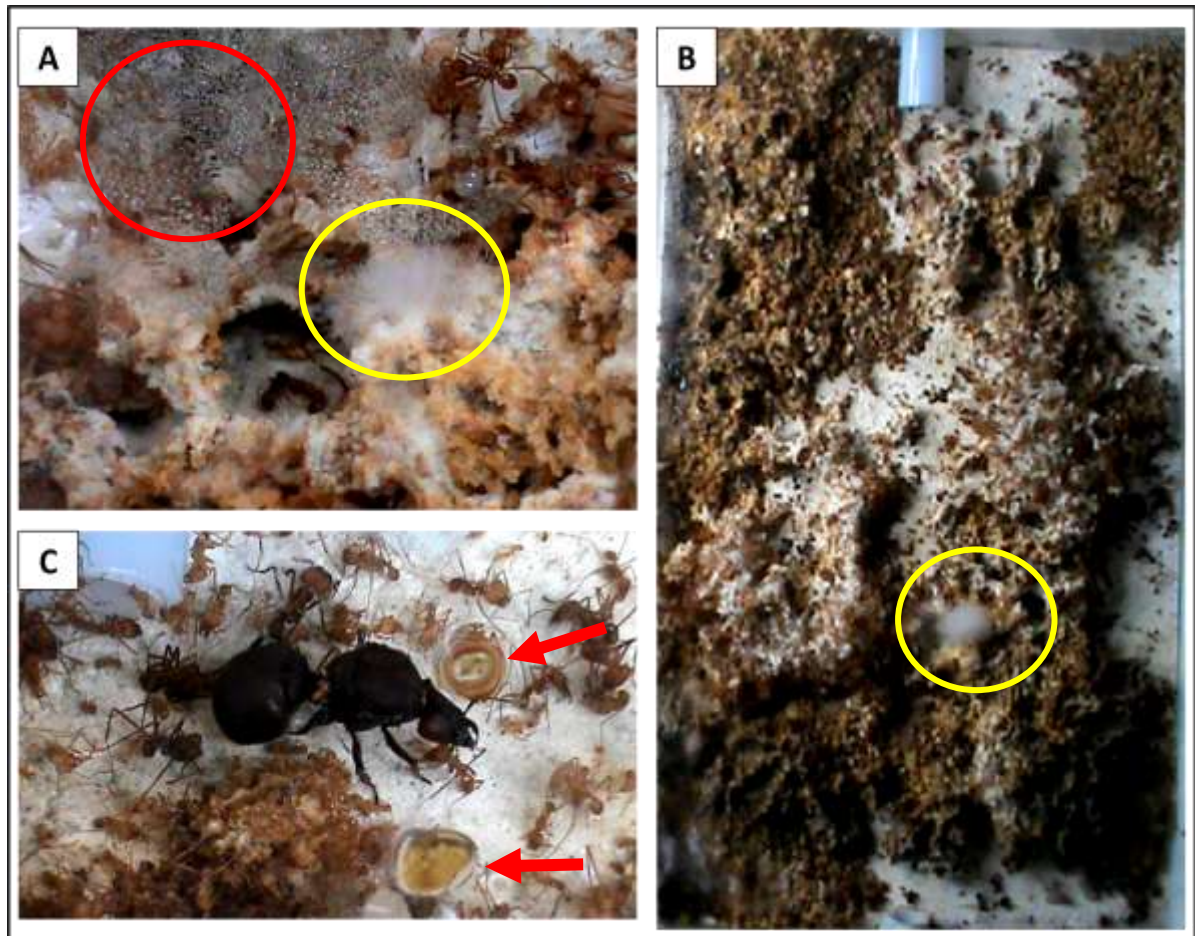


Figura 14: Contaminação do jardim de fungo da colônia de *Atta sexdens rubropilosa* tratada com isca à base de hidrametilnona 1,0% pelo fungo filamentoso *Escovopsis* sp. no 6º dia de exposição. A: umidade na tampa do vitral (círculo vermelho) e o primeiro sinal do fungo filamentoso (círculo amarelo). B: visão geral da colônia com fungo filamentoso (círculo amarelo). C: rainha e umidade na tampa do vitral (seta vermelha).

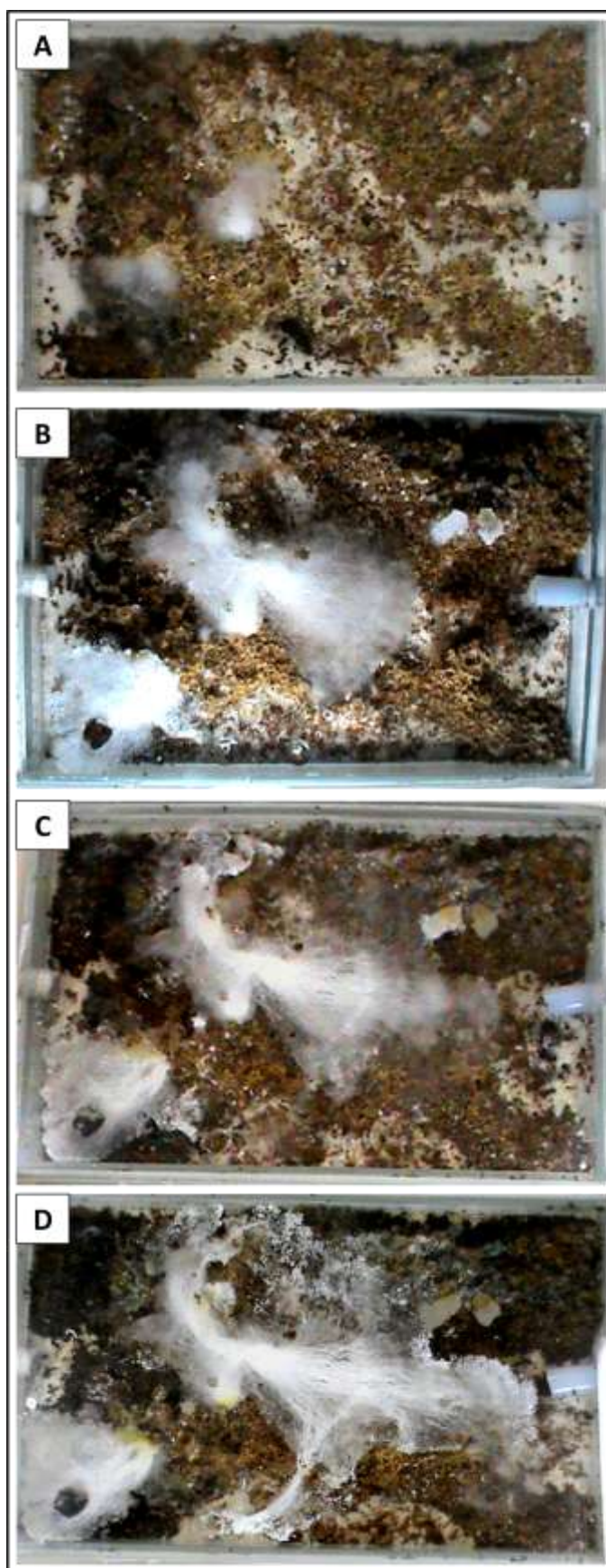


Figura 15: Contaminação com *Escovopsis* sp. no jardim de fungo da colônia de *Atta sexdens rubropilosa* tratada com isca hidrametilnona 1,0% no 7º dia (A), 8º dia (B), 9º dia (C) e 10º dia (D) de exposição.



Figura 16: Contaminação com outro tipo de fungo não identificado (círculo amarelo) na câmara de lixo da colônia de *Atta sexdens rubropilosa* no 8º dia de exposição às iscas com base de hidrametilnona 1,0%.

Portanto, a contaminação com o fungo filamentoso *Escovopsis* sp. começou mais cedo, se espalhou mais rápido e de forma mais intensa na colônia tratada com sulfluramida. As operárias do tratamento com hidrametilnona, mesmo apresentando sinais de intoxicação, mantiveram a atividade de cortar pedaços do jardim de fungo até o 8º dia de experimento, o que possivelmente fez com que o fungo filamentoso não se espalhasse de forma tão rápida e intensa na câmara de fungo.

Segundo Bueno (2005), quando as operárias percebem a presença de ingredientes ativos tóxicos, elas podem isolar suas crias e pedaços do fungo sadio do restante do ninho, que está contaminado, na tentativa de evitar que toda a colônia morra devido ao contato com os ativos. Este comportamento não foi observado nos tratamentos com sulfluramida e hidrametilnona, mesmo após o início dos sintomas e a remoção dos pedaços contaminados. Não houve tentativa de isolamento e mudança do jardim de fungo ou das formas imaturas para outras câmaras nas colônias tratadas com iscas tóxicas.

Também não houve morte da rainha durante o período do experimento em nenhuma das colônias utilizadas. Segundo Boaretto e Forti (1997), mesmo com a colônia desestruturada e a morte das operárias, a rainha ainda pode sobreviver por até 40 dias. A duração do experimento realizado para este trabalho foi de 10 dias, portanto, ou o tempo de observação foi insuficiente para estimar a sobrevivência das rainhas, ou a contaminação não chegou até elas por meio das operárias e o

fungo. Apesar disso, provavelmente a rainha também morreria, pois não haveria jardim de fungo como fonte alimentar nem operárias para executar seus cuidados.

5.2.1. Selfgrooming e allogrooming após a intoxicação

Atividades de limpeza ocorrem nas colônias de *A. s. rubropilosa* mesmo quando não há presença de nenhum contaminante no ninho. Conhecida como *grooming*, a limpeza pode ser individual (*selfgrooming*) ou coletiva (*allogrooming*), e durante este processo, elas se limpam e limpam umas às outras usando as peças bucais e as pernas anteriores, prevenindo a contaminação (BARBIERI *et al*, 2007).

Durante o experimento, observou-se que o *grooming* aumentou nas colônias tratadas com iscas tóxicas à base de sulfluramida e hidrametilnona. Isto ocorreu porque a atividade é considerada um mecanismo de grande importância para a eliminação de substâncias indesejáveis e microorganismos prejudiciais (NAGAMOTO, 2003). Porém, segundo OI e PEREIRA (1993), o contato aleatório durante a limpeza dos corpos das formigas também pode levar à contaminação de outros membros da colônia.

As operárias da colônia que recebeu a isca controle realizaram normalmente suas atividades de limpeza, não aumentando a frequência durante o experimento.

Porém, na colônia que recebeu as iscas com sulfluramida, a atividade de limpeza começou a se intensificar a partir da 6ª hora de experimento, sendo realizada somente de forma individual. Na 24ª hora, metade das operárias já realizava a auto limpeza, e a atividade também passou a ser coletiva, ficando cada vez mais frequente. Entretanto, com a intensificação dos sintomas, as operárias passaram a ficar mais lentas e deixaram de realizar suas atividades, incluindo a limpeza, que passou a diminuir e deixou de ser realizada após 5 dias de exposição.

Já na colônia contendo iscas de hidrametilnona, a limpeza passou a ser mais intensa do que o normal a partir da 12ª hora, inicialmente de forma individual. Após algumas horas, a atividade também passou a ser coletiva e aumentou rapidamente, sendo realizada por praticamente toda a colônia na 48ª hora. Com o aumento dos sintomas de contaminação, as operárias perderam a mobilidade e, lentamente, também deixaram de realizar as atividades de limpeza.

Assim, na colônia com hidrametilnona a limpeza foi mantida por mais tempo, provavelmente porque as operárias demoraram mais tempo para perceber que estavam contaminadas do que no tratamento com sulfluramida (Figura 17).

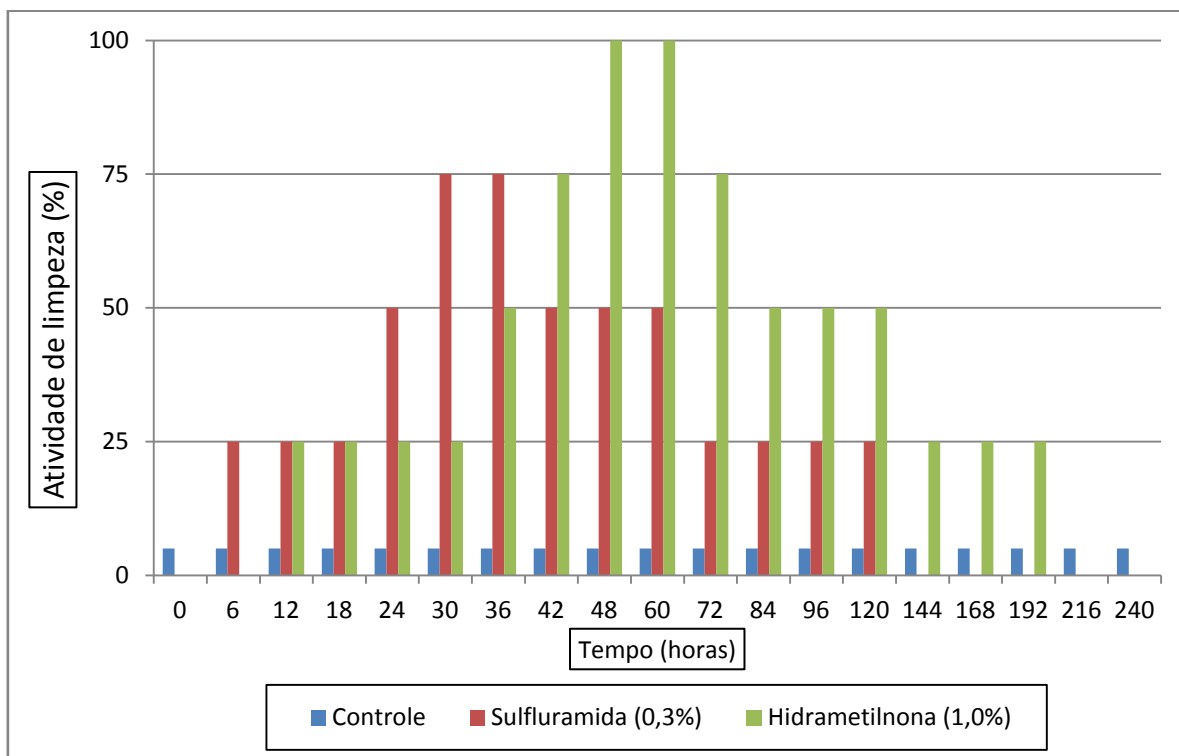


Figura 17: Atividade de limpeza individual e coletiva das operárias de *Atta sexdens rubropilosa* nas colônias tratadas com isca controle, sulfluramida 0,3% e hidrametilnona 1,0%.

5.3. Determinação das condições gerais das colônias e organização do material didático visual

A figura 18 mostra as condições gerais das colônias tratadas com iscas controle, sulfluramida e hidrametilnona durante o período do experimento. As condições gerais baseiam-se no comportamento e mortalidade das operárias, e nas alterações na dinâmica da colônia, categorizados na Tabela 02 e representados graficamente na figura 18.

As observações das condições gerais foram feitas diariamente, no mesmo horário, e quantificadas como: 0 - colônia 100% morta; 1 - alteração de 75% das atividades da colônia; 2 - alteração de 50% das atividades da colônia; 3 - alteração de 25% das atividades da colônia e; 4 - colônia em perfeitas condições ou 0% de alteração nas atividades da colônia.

A colônia controle, que recebeu isca sem ingrediente ativo, não sofreu nenhuma diminuição nas condições até o término do experimento.

No tratamento com sulfluramida, a diminuição das condições da colônia se inicia ainda no 1º dia, quando as operárias começam a apresentar sintomas de intoxicação e passam a abandonar suas atividades. A linha que representa a sulfluramida no gráfico diminui rapidamente e torna-se estável entre o 2º e o 4º dia, quando as operárias ainda não estavam todas mortas, mas já não exerciam suas funções. Após este período, devido ao aumento na mortalidade das formigas, a linha volta a diminuir, atingindo zero no 6º dia, mostrando que a colônia, como um todo, foi considerada morta.

Já no tratamento com hidrametilnona, as condições da colônia foram prejudicadas a partir do 2º dia, mostrando que as operárias demoraram mais para apresentar sintomas de intoxicação e começar a abandonar suas atividades que na colônia com sulfluramida. A linha que representa a hidrametilnona no gráfico diminui mais lentamente e permanece estável durante dois períodos, entre o 2º e o 5º dia e entre o 6º e o 7º dia, quando as operárias ainda exerciam algumas de suas atividades, mas de forma lenta e reduzida. Após este período, a mortalidade aumenta e a atividade diminui, fazendo com que a linha seja reduzida novamente até atingir zero no 9º dia, quando a colônia também foi considerada morta.

TRATAMENTO	DIAS DE EXPOSIÇÃO ÀS ISCAS									
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
Controle	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4
Sulfluramida	3	1	1	1	1	0	0	0	0	0
Hidrametilnona	4	2	2	2	2	1	1	1	0	0

Tabela 2: Avaliação diária das condições das colônias de *Atta sexdens rubropilosa* tratadas com iscas controle, sulfluramida 0,3% e hidrametilnona 1,0%.

Classificação feita como: 0 - colônia 100% morta; 1 - alteração de 75% das atividades da colônia; 2 - alteração de 50% das atividades da colônia; 3 - alteração de 25% das atividades da colônia e; 4 - colônia em perfeitas condições ou 0% de alteração nas atividades.

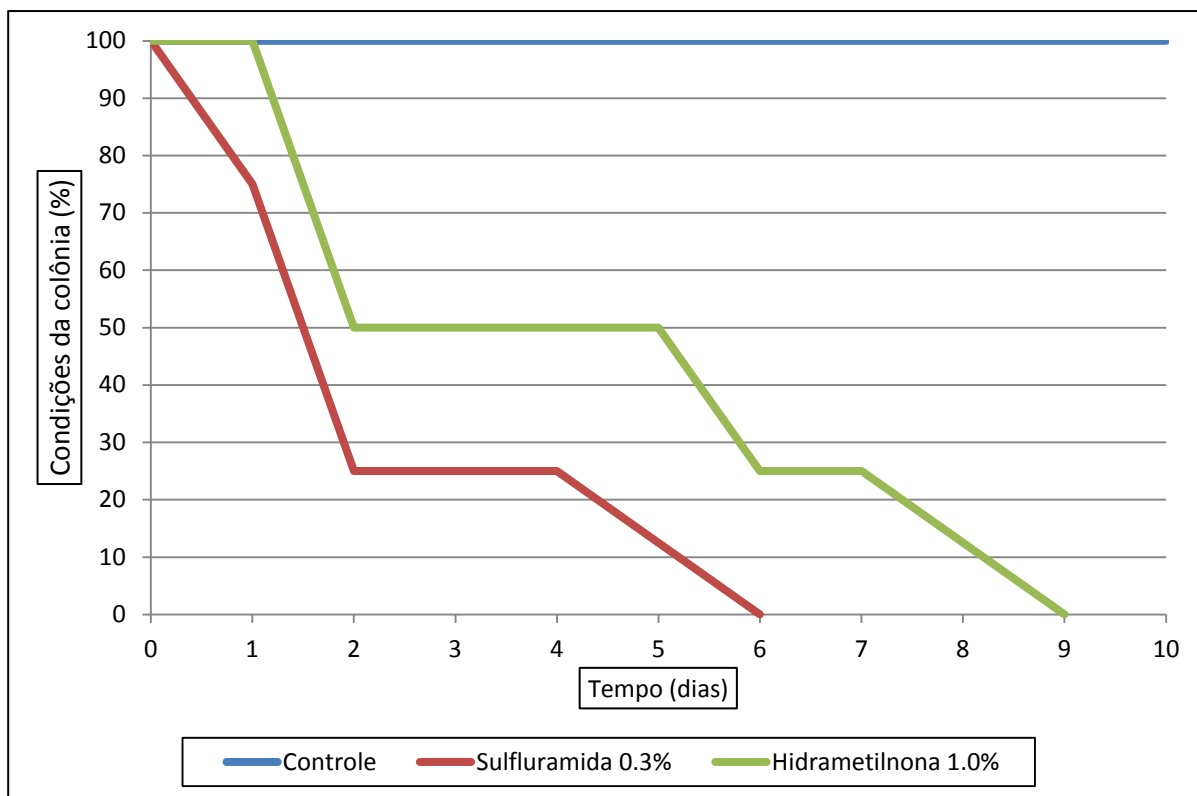


Figura 18: Condições diárias das colônias de *Atta sexdens rubropilosa* tratadas com iscas controle, sulfuramida 0,3% e hidrametilnona 1,0%, sendo que 100% representa ausência de alterações devido a intoxicação, e zero representa morte da colônia por intoxicação.

Para complementar as observações e os resultados obtidos após a finalização do experimento, foram elaborados vídeos, utilizando as filmagens feitas durante o experimento. Estas filmagens ilustram as alterações físicas, comportamentais e os sintomas provocados pelo uso dos ingredientes ativos nas colônias de *A. s. rubropilosa*, quando comparadas com o controle. Os vídeos também foram incluídos em apresentações de slides com detalhes e explicações sobre o experimento, e serão utilizadas com fins didáticos em aulas e apresentações do CEIS para alunos e empresas visitantes.

6 CONSIDERAÇÕES GERAIS

A eficiência dos ingredientes ativos utilizados para o controle de formigas cortadeiras é frequentemente associada à ideia de que bons formicidas matam os indivíduos rapidamente. Entretanto, este é um conceito equivocado, pois utilizar ativos que apresentam ação rápida raramente causa a extinção das colônias. Quando a mortalidade é alta ainda nos primeiros dias, o ativo não é distribuído amplamente pela colônia e são ativados mecanismos que podem impedir a intoxicação de todos ou da maioria dos indivíduos (VANDER MEER *et al.*, 1985).

O conceito de toxicidade lenta foi utilizado pela primeira vez em estudos para a seleção de ingredientes ativos no controle de formigas lava-pés (STRINGER *et al.*, 1964; WILLIAMS, 1983). Posteriormente, foi adaptado por NAGAMOTO (1998) para formigas cortadeiras e passou a envolver pesquisas para a seleção de ativos que causam baixa mortalidade nas primeiras 24 horas após a exposição e alta mortalidade ao final do experimento.

Os ingredientes ativos sulfluramida e hidrametilnona fazem parte do grupo dos inibidores de respiração celular, que apresentam ação lenta, porém a sulfluramida é mais conhecida e bem estudada que a hidrametilnona. A escassez de pesquisas utilizando este ativo no controle de formigas cortadeiras pode estar relacionada à sua rápida degradação na presença de luz solar (VANDER MEER *et al.*, 1985), que é considerada uma característica indesejável para a produção e utilização de iscas em climas tropicais (FORTI *et al.*, 1998).

O presente trabalho avaliou as alterações ocorridas em colônias de *Atta sexdens rubropilosa* submetidas ao tratamento com iscas contendo os ingredientes ativos sulfluramida e hidrametilnona, quando comparadas a uma colônia controle, tratada com isca sem ingrediente ativo. Através do experimento realizado, foi possível observar as alterações causadas nas colônias expostas às iscas, como mudanças no comportamento das operárias e no aspecto físico dos ninhos, e analisar, de forma comparativa, o tempo de ação de cada ingrediente ativo.

Entretanto, os resultados obtidos só podem ser considerados para colônias semelhantes às utilizadas no experimento, ou seja, mantidas em laboratório, com aproximadamente 1000 mL de jardim de fungo, condições climáticas controladas e manutenção diária. Para obter resultados mais amplos, é necessário que haja a realização de outros experimentos que envolvam colônias maiores, ou testes feitos

em campo, que avaliem a influência dos fatores climáticos, como luz solar, temperatura e umidade, nas alterações ocorridas em colônias tratadas com iscas tóxicas.

No entanto, nas condições laboratoriais utilizadas, ambos os ingredientes ativos se apresentaram bastante eficientes e causaram a mortalidade das colônias somente após o tempo necessário para a contaminação de todos os indivíduos, exceto a rainha, ou seja, não apresentaram a característica indesejável de morte imediata por contato, e sim, tardia por contato e ingestão.

Desta forma, o presente trabalho pode auxiliar em pesquisas complementares envolvendo os efeitos da toxicidade dos ingredientes ativos sulfluramida e hidrametilnona em colônias de formiga cortadeira *A. s. rubropilosa*.

7 CONCLUSÕES

- ❖ A presença dos ingredientes ativos não interferiu no carregamento das iscas pelas operárias, visto que os grânulos foram totalmente carregados em todas as colônias.
- ❖ Na colônia tratada com hidrametilnona, a isca carregada foi totalmente incorporada no jardim de fungo. Já na colônia tratada com sulfluramida, a incorporação não foi completa e parte da isca foi abandonada na câmara de fungo ou devolvida na câmara de lixo.
- ❖ As operárias, mesmo apresentando sinais de intoxicação, tentaram proteger as colônias tratadas com iscas tóxicas. Porém, devido ao aumento dos sintomas e da mortalidade, ocorreu diminuição e abandono das atividades realizadas por elas.
- ❖ Apesar do tempo de início de ação de ambos ativos serem próximos, os sintomas de intoxicação surgiram mais cedo e as condições da colônia regrediram mais rapidamente no tratamento com sulfluramida.
- ❖ A colônia tratada com hidrametilnona sobreviveu por mais tempo que a tratada com sulfluramida, pois, apesar de estarem apresentando sintomas, suas operárias continuaram realizando algumas de suas atividades.
- ❖ Embora as colônias tratadas com hidrametilnona e sulfluramida tenham sido consideradas mortas ao final de 10 dias de observações, suas respectivas rainhas ainda permaneciam vivas.
- ❖ Os experimentos contribuíram para a elaboração de material didático visual baseado na comparação do funcionamento considerado normal dentro de uma colônia de *A. s. rubropilosa* com aquelas intoxicadas com iscas formicidas tóxicas.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AGROCERES – **Espécies e Colônias de formigas cortadeiras**– Grupo Agrocere, 2011. Disponível em <<http://www.mirex-s.com.br/index.php/formigas/especies>> Acessado em 15 de agosto de 2013.
- ALMEIDA, A.F.; ALVES, J.E.M.; MENDES FILHO, J.M.A.; LARANJEIRO, A.J. - **A avifauna e o sub-bosque como fatores auxiliares no controle biológico das saúvas em florestas implantadas** - Silvicultura, v. 8, n.28, p.145-150, 1983.
- ANJOS, N.; DELLA LUCIA, T. M. C.; MAYHE-NUNES, A. J. – **Guia prático sobre formigas cortadeiras em reflorestamentos** – Graff cor, Ponte Nova, 97p, 1998.
- BARBIERI, R. F.; FORTI, L. C.; FUJIHARA, R. T.; CARLOS, A. A. – **Fluxo de corante e inseticida entre operárias de formigas cortadeiras** - Biológico, v.69, p.375, São Paulo, 2007.
- BLOOMQUIST, J.R. - **Insecticides: Chemistries and Characteristics** - Radcliffe's IPM World Textbook, University of Minnesota, St. Paul, 1996.
- BOARETTO, M.A.C.; FORTI, L.C. – **Perspectivas no controle de formigas cortadeiras** – Série Técnica IPEF, vol. 11, n. 30, p. 31-46, Botucatu, 1997.
- BROWN Jr., W.L. - **Diversity of ants** – In: measuring and monitoring biological diversity: standard methods for ground living ants (AGOSTI, D. et al). Smithsonian Institution, Washington D.C., p.45, 2000.
- BUENO, F.C. - **Seleção de ingredientes ativos para uso em iscas no controle de formigascortadeiras (Hymenoptera: Formicidae)**-Dissertação de mestrado em CiênciasBiológicas no Instituto de Biociências da Universidade Estadual Paulista “Júlio de MesquitaFilho”, Botucatu, 2005.
- BUENO, O. C.; CAMPOS-FARINHA, A. E. C. – **As formigas domésticas** – Insetos e outros invasores de residências, FEALQ, Piracicaba, p.135, 1999.
- CHERRETT, J.M. - **History of the leaf-cutting ant problems**. In: LOFGREN, C.S. & VANDER MEER, R.K. - Fire ants and leaf-cutting ants:biology and management - Westview Press, Boulder, p.10-17, 1986.

CRUZ, A. P., ZANUNCIO, J. C., ZANETTI, R. – **Eficiência de iscas granuladas à base de sulfluramida e de clorpirifós no controle de *Atta sexdens* no trópico úmido** – Acta Amazônica, v.26, n.03, p. 145-150, 1996.

CURRIE, C. R. – **A community of ants, fungi and bacteria: a multilateral approach to studying symbiosis** – Annual Review of Microbiology, Palo Alto, v. 55, p. 357-380, 2001a.

CURRIE, C. R. – **Prevalence and impact of a virulent parasite on a tripartite mutualism** – Oecologia, Berlim, v. 128, n. 1, p. 99-106, 2001b.

CURRIE, C. R.; MUELLER, U. G.; MALLOCH, D. – **The agricultural pathology of ant fungus garden** – National Academy of Science of the United States of America, Washington, v. 26, n. 7, p. 7998-8002, 1999a.

CURRIE, C. R.; SCOTT, J. A.; SUMMERBELL, R. C.; MALLOCH, D. – **Fungus growing ant use antibiotic producing bacteria to control garden parasites** – Nature, London, v. 398, n. 6729, p. 701-704, 1999b.

CURRIE, C. R.; STUART, A.E. - **Weeding and grooming of pathogens in agriculture by ants** - The Royal Society, v.268, p.1033-1039, 2001.

DELLA LUCIA, T.M.C. - **As formigas cortadeiras** - Sociedade de Investigação Florestal, Viçosa, 262p, 1993.

DELLA LUCIA, T. M. C. - **Formigas-cortadeiras: da bioecologia ao manejo** – Editora da UFV, 2ª ed., Viçosa, 2011.

DELLA LUCIA, T. M. C.; ARAUJO, M. S. - **Formigas cortadeiras: atualidades no combate** In: ZAMBOLIM, L - Manejo integrado: doenças, pragas e plantas daninhas. Suprema, Visconde do Rio Branco, p.245-273, 2000.

DELLA LUCIA, T.M.C.; BENTO, J.M.S. - **Vôo nupcial ou revoada** - In: DELLA LUCIA, T.M.C. - **As formigas cortadeiras** - Folha de Viçosa, Viçosa, p. 54-59, 1993.

DELLA LUCIA, T. M. C.; CAMERON, R. S.; VILELA, E. F.; BENTO, J. M. S. – **Aceitação de iscas granuladas com sulfluramida** – Revista Árvore, Viçosa, v.16, n.2, p.218-223, 1992.

DELLA LUCIA, T. M. C.; VILELA, E. F. - **Métodos atuais de controle e perspectivas** In: DELLA LUCIA, T. M. C. - As formigas cortadeiras - Folha de Viçosa, Viçosa, p.163-190, 1993.

FORTI, L. C.; BOARETTO, M. A. C. - **Formigas Cortadeiras: biologia, ecologia, danos e controle**- Universidade Estadual Paulista, Botucatu, 1997.

FORTI, L. C.; DELLA LUCIA, T. M. C.; YASSU, W. K.; BENTO, J. M.; PINHÃO, M. A. - **Metodologias para experimentos com iscas granuladas para formigas cortadeiras** – In: DELLA LUCIA, T. M. C – As formigas cortadeiras – Folha de Viçosa, cap.13, Viçosa, p. 191-211, 1993.

FORTI, L.C.; MARTINS, F.S.D.; YASSU, W.K.; PINHÃO, M.A.S. – **Trofalaxia entre operárias-operárias e operárias-larvas de *Atta sexdens rubropilosa* Forel, 1908 (Hymenoptera, Formicidae)**– In: Congresso Brasileiro de Entomologia, Piracicaba, 1993.

FORTI, L. C., NAGAMOTO, N. S., PRETTO, D. R. – **Controle de formigas cortadeiras com iscas granuladas** – In: Simpósio de Formigas Cortadeiras dos Países do MERCOSUL, Anais do Simpósio de Formigas Cortadeiras dos Países do Mercosul, FEALQ, Piracicaba, p.113-132, 1998.

FORTI, L. C.; PRETTO, D.R. - **Controle químico de formigas cortadeiras: passado, presente e futuro** - In: FOWLER, H.G.; FORTI, L.C. - Formigas praga - Editora da UNESP, 1998.

HANSELL, M. H. – **Built by animals: the natural history of animal architecture** – New York, Oxford University Press, 2007, 268p.

HÖLLDOBLER, B.; WILSON, E. O. - **The ants** – Harvard University Press, Cambridge, 732p, 1990.

HOLLINGSGAUS, J. G. – **Inhibition of mitochondrial electron transport by hydramethylnon: a new amidinohydrazone insecticide** – Pesticide Biochemical Physiology, v.27, n.1, p.61-70, 1987.

HOWARD, J. J. - **Toxity of terpenoid deterrents to the leaf-cutting *Atta cephalotes* and its mutualistic fungus** - Journal of Chemical Ecology, New York. v.14, p.59-69, 1988.

JACOB, L. – **Seleção de ingredientes ativos para o controle de formigas urbanas** - Dissertação para obtenção do título de Mestre em Zoologia no Instituto de Biociências, Universidade Estadual Paulista “Julio de Mesquita Filho”, Rio Claro, 2001.

JUSTI Jr., J.; IMENES, S. L.; BERGMANN, E. C.; CAMPOS-FARINHA, A. E. C. ZORZENON, F. J. - **Formigas cortadeiras** -Boletim Técnico do Instituto Biológico, São Paulo,n.4, 1996.

KUSNEZOV, N. – **Zoogeografia de lashormigas em Sudamerica** – Acta ZoologicaLilloana, v. 19, p. 25-186, 1963.

LITTLEDYKE, M.; CHERRETT, J.M. - **Defense mechanisms in young and old leaves against cutting by the leaf-cutting ants *Atta cephalotes* and *Acromyrmexoctospinosus* (Hymenoptera: Formicidae)** - Bulletin of Entomological Research,Inglaterra, v.68, p.263-270, 1978.

LOEK, A.E.; NAKANO, O. – **Efeitos de novas substâncias visando o controle de saúvas novos de *Atta laevigata***– Solo, v.1, p. 25-30, 1984.

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

MARINHO, C. G. S.; DELLA LUCIA, T. M C.; PICANÇO, M. C. – **Fatores que dificultam o controle de formigas cortadeiras** – Bahia Agrícola, v. 7, n. 2, 2006.

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

MENDONÇA, N.T.; MILAN-NETO, A.; MENDONÇA, R.S. – **Biologia e testes experimentais com novos formicidas para o controle de formigas dos gêneros *Atta* e *Acromyrmex***. - In: PACHECO, P. & BERTI FILHO, E. - Formigas cortadeiras e o seu controle - Piracicaba,IPEF/GTFC, 1987.

MOREIRA, A.A. - **Arquitetura das colônias de *Atta laevigata* Smith, 1858 (Hymenoptera, Formicidae) e distribuição de substrato nas câmaras de fungo** – Tese (Mestrado) da Faculdade de Ciências Agrônômicas, Botucatu, 1996.

MUELLER, U.G. - **Ant versus fungus mutualism: ant-cultivar conflict and the deconstruction of the attine ant-fungus symbiosis** -American Naturalist, Chicago. v.160, p.67-98, 2002.

MUELLER, U. G., SCHULTZ, T.R., CURRIE, C. R., ADAMS, R. M. M., MALLOCH, D. – **The origin of the attine ant-fungus mutualism** – The Quarterly Review of Biology, Chicago, v.76, n.02, p. 169-197, 2001.

NAGAMOTO, N. S. – **Metodologia para a seleção de inseticidas visando confecção de iscas tóxicas para formigas cortadeiras (Hymenoptera: Formicidae)** – Dissertação para obtenção do título de Mestre em Agronomia na área de Proteção de Plantas, Faculdade de Ciências Agrônômicas, Universidade Estadual Paulista “Julio de Mesquita Filho” UNESP, Botucatu, 1998.

NAGAMOTO, N. S. – **Estudos toxicológicos de princípios ativos utilizando como modelo *Atta sexdensrubropilosa***– Dissertação para obtenção do título de Doutor em Agronomia na área de Proteção de Plantas, Faculdade de Ciências Agrônômicas, Universidade Estadual Paulista “Julio de Mesquita Filho” UNESP, Botucatu, 2003.

NORTH, R. D.; JACKSON, C. W.; HOWSE, P. E. - **Communication between the fungus garden and workers of the leaf-cutting ant, *Atta sexdensrubropilosa*, regarding choice of substrate for the fungus** - Physiological Entomology, Oxford, v.24,p.127-133, 1999.

PERRY, A.S. - **Insecticides in agriculture and environmental: retrospects and prospects.**– Springer Verlag, Berlim, p.261, 1997.

PINHÃO, M.A.S. et al. – **Mirex-S (sulfluramida): uma sulfonafluoralfática para o controle de *Atta* (Hymenoptera>Formicidae)** – In: Congresso Brasileiro de Entomologia de 1993, Sociedade Entomológica do Brasil, Piracicaba, p.511, 1993.

REYNOLDS, H. T.; CURRIE, C. R. – **Pathogenicity of *Escovopsisweberi*: the parasite of the attine microbe symbiosis directly consumes the ant cultivated fungus** – Mycologia, Lawrence, v. 96, n. 5, p. 955-959, 2004.

RODRIGUES, A. – **Ocorrência de fungos filamentosos em ninhos de *Atta sexdensrubropilosasubmetidos a tratamentos com iscas tóxicas*** – Dissertação para obtenção do título de Mestre em Microbiologia Aplicada, Universidade Estadual Paulista “Julio de Mesquita Filho”, Rio Claro, 2004.

RODRIGUES, A.; CARLETTI, C. D.; BUENO, O. C.; PAGNOCCA, F. C. – **Leaf-cutting ant faecal fluid and mandibular gland secretion: effects on microfungi spore germination** – Brazilian Journal of Microbiology, São Paulo, v. 39, n. 1, p. 64-67, 2008.

SCHNEIDER, M. O. – **Comportamento de cuidado com a prole da saúva limão *Atta sexdensrubropilosa* Forel (1906)** – Tese (Mestrado em Zoologia) do Instituto de Biociências, Universidade Estadual Paulista, Rio Claro, 2003.

SCHULTZ, T. R.; BRADY, S. G. – **Major evolutionary transitions in ants agriculture** – National Academy of Science, v. 105, n. 14, p. 5435-5440, 2008.

STRADLING, D.J. - **An introduction to fungus growing ants Attini** - In: HUXLEY, C.R.; CUTLER, D.F. - Ant plantinteractions -Oxford, Oxford University Press, p.15-18, 1991.

STRINGER, C. E., LOFGREN, C. S.; BARTELETT, F. J. – **Imported fire ant toxic bait studies: evaluation of toxicants** – Journal of Economical Entomology, v.57, n.6, p.941-945, 1964.

VANDER MEER, R.K.; LOFGREN, C. S.; WILLIAMS, D. F. - **Fluoroaliphaticsulfones: a new class of delayed-action.** – Journal of Economic Entomology, vol. 78, p.1190, 1985.

WEBER, N.A. - **Gardening ants: the Attines** – Philadelphia, The American Philosophical Society, 146p, 1972.

WILLIAMS, D. F. – **The development of toxic baits for the red fire ant** – Florida Entomologist, v.66, p.162-171, 1993.

WILLIAMS, D. F. - **Overview** - In: VANDER MEER, R. K.; JAFFE, F.; CEDENO, A. (Ed.). - Applied Myrmecology:a world perspective – Boulder, São Francisco & Oxford Westview Press, p.493-495, 1990.

WILSON, E. O. – **The insect societies** –Harvard University Press, Cambridge, 548p, 1971.

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

ZANUNCIO, J. C., RODRIGUES, F. A., FAGUNDES, M., BORESTAINER, S. –
Eficiência da isca Mirex-S no controle de *Acromyrmexcrassispinus* – In:
Congresso Brasileiro de Entomologia de 1993, Sociedade Entomológica do Brasil,
Piracicaba, p.696, 1993.

Orientador: Prof. Dr. Odair Correa Bueno

Aluna: Natália de Oliveira Marin

Rio Claro

2014