

# RESSALVA

Atendendo solicitação do autor, o texto completo desta dissertação será disponibilizado somente a partir de 29/01/2027.

---

PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS BIOLÓGICAS  
(BIOLOGIA CELULAR, MOLECULAR E MICROBIOLOGIA)

---

IMPACTOS DE *SYNCEPHALASTRUM* EM COLÔNIAS DE  
FORMIGAS-CORTADEIRAS

RAPHAEL AFFONSO PEREIRA DA SILVA

Rio Claro – SP  
2025



---

**PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS BIOLÓGICAS  
(BIOLOGIA CELULAR, MOLECULAR E MICROBIOLOGIA)**

---

**IMPACTOS DE *SYNCEPHALASTRUM* EM COLÔNIAS DE  
FORMIGAS-CORTADEIRAS**

**RAPHAEL AFFONSO PEREIRA DA SILVA**

Dissertação apresentada ao Instituto de Biociências do Câmpus de Rio Claro, Universidade Estadual Paulista, como parte dos requisitos para obtenção do título de Mestre em Ciências Biológicas (Biologia Celular, Molecular e Microbiologia).

Orientador: Dr. André Rodrigues  
Coorientadores: Dr. Odair Correa Bueno  
Dra. Amanda Aparecida de Oliveira

**Rio Claro – SP  
2025**

S586i

Silva, Raphael Affonso Pereira da Silva

Impactos de *Syncephalastrum* em colônias de formigas-cortadeiras /  
Raphael Affonso Pereira da Silva. -- Rio Claro, 2025

46 p. : tabs., fotos

Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual Paulista (UNESP),  
Instituto de Biociências, Rio Claro

Orientador: André Rodrigues

Coorientador: Odair Correa Bueno, Amanda Aparecida de Oliveira

1. Mutualismo. 2. Oportunismo. 3. Entomopatógeno. 4. Attina. 5.  
Mucorales. I. Título.

## **IMPACTO POTENCIAL DESTA PESQUISA**

Este estudo demonstrou os efeitos do fungo *Syncephalastrum* sp. quando esporos foram aspergidos em colônias de formigas-cortadeiras. Colônias completas (i.e., contendo crias, operárias e rainha) e em diferentes estágios de desenvolvimento apresentaram diminuição no corte de folhas e redução no volume do jardim de fungo, sugerindo que *Syncephalastrum* sp. apresenta um potencial para o controle desses insetos. Este estudo também demonstrou que o fungo está presente nas colônias desde a coleta em campo e que *Syncephalastrum* sp. pode atuar como um oportunista em momentos de instabilidade das colônias. Além disso, este estudo contempla os Objetivos de Desenvolvimento Sustentável (ODS) da Organização das Nações Unidas (ONU), enquadrando-se nos objetivos número dois (fome zero e agricultura sustentável), nove (indústria, inovação e infraestrutura) e número 12 (consumo e produção sustentáveis). O controle biológico das formigas-cortadeiras é desafiador, mas este estudo motiva a realização de bioensaios utilizando *Syncephalastrum* sp. em consórcio com agentes que desestabilizem as colônias, sejam eles consórcios bacterianos, fúngicos ou com extratos naturais.

## **POTENTIAL IMPACT OF THIS RESEARCH**

This study showed the effects *Syncephalastrum* sp. fungal spores when sprayed on leaf-cutting ant colonies. Whole colonies (i.e., containing brood, workers, and queen) at different stages of development showed a decrease in leaf-cutting and a reduction in the volume of the fungus garden, suggesting that *Syncephalastrum* sp. has potential for the control of these insects. We also showed that *Syncephalastrum* sp. is present in field collected colonies and that it can act as an opportunist during colony instability. This study is in line with the United Nations (UN) Sustainable Development Goals (SDGs), under goals number two (zero hunger and sustainable agriculture), nine (industry, innovation and infrastructure) and number 12 (sustainable consumption and production). Biological control of leaf-cutting ants is challenging, but this study motivates bioassays using *Syncephalastrum* sp. in consortium with agents that destabilize the colonies, whether bacterial, fungal or natural extract consortia.

## CERTIFICADO DE APROVAÇÃO

TÍTULO DA DISSERTAÇÃO: Impactos de *Syncephalastrum* em colônias de formigas-cortadeiras: perspectiva de controle biológico

**AUTOR: RAPHAEL AFFONSO PEREIRA DA SILVA**

**ORIENTADOR: ANDRÉ RODRIGUES**

**COORIENTADOR: ODAIR CORREA BUENO**

**COORIENTADORA: AMANDA APARECIDA DE OLIVEIRA**

Aprovado como parte das exigências para obtenção do Título de Mestre em Ciências Biológicas (Biologia Celular, Molecular e Microbiologia), área: Diversidade Biológica e Biologia Ambiental pela Comissão Examinadora:

Documento assinado digitalmente



ANDRE RODRIGUES

Data: 29/01/2025 19:30:24-0300

Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Prof. Dr. ANDRÉ RODRIGUES (Participação Virtual)  
Departamento de Biologia Geral e Aplicada / Unesp - IB Rio Claro

Documento assinado digitalmente



KARINA DIAS AMARAL

Data: 29/01/2025 18:04:57-0300

Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Profa. Dra. KARINA DIAS AMARAL (Participação Virtual)  
Universidade Federal de Viçosa

**Italo Delalibera  
Júnior**

Assinado de forma digital por  
Italo Delalibera Júnior

Dados: 2025.01.29 17:46:34 -03'00'

Prof. Dr. ITALO DELALIBERA JÚNIOR (Participação Virtual)  
Departamento de Entomologia e Acarologia / USP

**Título alterado para: IMPACTOS DE SYNCEPHALASTRUM EM COLÔNIAS DE FORMIGAS-CORTADEIRAS**

Rio Claro, 29 de janeiro de 2025

## AGRADECIMENTOS

Agradeço à minha mãe Leila e meu pai Dorival, por não medir esforços para proporcionar as melhores condições possíveis durante meu processo de formação desde a escola, graduação e pós-graduação, sem vocês isso não seria possível.

À minha irmã Lisandra, por sempre estar ao meu lado e sempre enxergar o melhor de mim.

À minha namorada Natalia, por toda a parceria durante esses anos, sempre acompanhando de perto minha caminhada acadêmica, me ajudando e, por vezes, indo ao laboratório comigo.

Aos amigos do Laboratório de Ecologia e Sistemática de Fungos, pelo bom convívio, pelas sugestões que agregaram muito para este trabalho e também pelas risadas que sempre tornaram os dias mais leves.

Ao Mateus Cruz, pela receptividade no momento em que entrei no laboratório, pelos ensinamentos de técnicas de microbiologia, por toda a ajuda com a manutenção das culturas fúngicas e também pela amizade e risadas diárias.

Ao Aryel Goes e Diego Assis pelos ensinamentos e ajuda com as análises estatísticas de glmm, binomiais e clmm.

Aos membros da manutenção do Laboratório de Formigas-Cortadeiras, Eduarda, Rayane e Raul pelos cuidados com as colônias utilizadas nos experimentos.

Ao Danilo Azevedo e Matheus Muller, pela amizade construída desde a graduação, pelas risadas compartilhadas, pelos conselhos valiosos e por seguirem comigo nesta jornada da pós-graduação.

À Bianca Nogueira pelos conselhos no início de minha jornada científica e ajudas iniciais com as análises das curvas de sobrevivência.

À minha coorientadora e amiga Amanda Oliveira, pela ajuda com ideias, discussões, realizações de experimentos e parceria.

Ao meu coorientador Odair Correa Bueno por aceitar a coorientação e disponibilizar toda a estrutura do laboratório de formigas-cortadeiras.

Ao meu orientador André Rodrigues, por aceitar orientar um trabalho com enfoque em controle biológico, pelos ensinamentos, ajuda, conselhos e vivências que sempre levarei comigo.

À Universidade Estadual Paulista, pela estrutura e ensino.

O presente trabalho foi realizado com apoio da Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP), Brasil. Processo nº 2023/05135-3. As opiniões, hipóteses e conclusões ou recomendações expressas neste material são de responsabilidade do(s) autor(es) e não necessariamente refletem a visão da FAPESP. O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – Brasil (CAPES) – Código de Financiamento 001.

## RESUMO

As formigas-cortadeiras mantêm uma relação de mutualismo com o fungo *Leucoagaricus gongylophorus*, o principal alimento da colônia. Devido à grande quantidade de material vegetal cortado para suprir o fungo, esses insetos são considerados pragas em ambientes antropizados, causando prejuízos econômicos. Esforços para desenvolver métodos de controle biológico desses insetos são cruciais, devido aos impactos do controle químico no ambiente. Além do fungo mutualista, diversos microrganismos ocorrem nas colônias das formigas-cortadeiras, dentre eles, *Syncephalastrum* sp., um fungo filamentososo, cujo impacto em colônias de *Acromyrmex* e subcolônias de *Atta* já foram descritos. No presente estudo, descrevemos o impacto de *Syncephalastrum* sp. em operárias de *Atta sexdens*, bem como em colônias que apresentam todos os elementos da eussocialidade. Filtrados obtidos a partir do cultivo de diferentes isolados de *Syncephalastrum* sp., quando combinados em dieta artificial, provocaram mortalidade significativa de operárias. No geral, testes de atratividade demonstraram que os filtrados adicionados em flocos de arroz não apresentaram diferença de carregamento pelas operárias, sugerindo que as formigas não reconhecem os filtrados como repelentes. Observou-se também mortalidade de operárias quando expostas aos esporos, no entanto, não foi possível verificar uma associação direta ao fungo. Quando esporos de *Syncephalastrum* sp. foram aspergidos em colônias jovens e adultas de *A. sexdens*, houve uma diminuição significativa no corte de folhas, das condições gerais da colônia, bem como um aumento da quantidade de jardim de fungo removido e descartado no lixo. Nenhuma colônia que recebeu esporos de *Syncephalastrum* sp. morreu durante os 21 dias de experimento. Fragmentos do lixo coletados de colônias jovens mostraram uma elevada incidência do fungo, mesmo antes da aspersão dos esporos, sugerindo que *Syncephalastrum* sp. está presente em colônias desde o campo. Foi possível observar o crescimento de *Syncephalastrum* sp. no jardim de colônias debilitadas com baixas dosagens de sulfloramida (um inseticida) e aspergidas com os esporos. Os impactos causados por *Syncephalastrum* sp. em colônias completas corroboram o conhecimento de que esse fungo é um patógeno para a colônia, no entanto, nossos resultados sugerem que este atue como um oportunista, aproveitando de momentos de instabilidade da colônia. Tal fato abre oportunidades para combinar a aplicação desse fungo, com outros compostos, de modo a avaliar seu potencial como um agente de controle biológico.

**Palavras-chave:** Mutualismo; Oportunismo; Entomopatógeno; *Attina*; *Mucorales*.

## ABSTRACT

Leaf-cutting ants maintain a mutualistic relationship with the fungus *Leucoagaricus gongylophorus*, which they cultivate for food. Due to the large quantities of plant material they forage to nourish the fungus, these insects are considered pests in human-modified environments, often causing significant economic damage. Efforts to develop biological control methods are crucial, given the environmental impact of chemical control measures currently in place. In addition to the fungus cultivar, leaf-cutting ant colonies host a complex microbiota, including the filamentous fungus *Syncephalastrum* sp. The impacts of this fungus on *Acromyrmex* colonies and *Atta* subcolonies have already been documented. Building on previous research, this study evaluated the impacts of *Syncephalastrum* sp. on *Atta sexdens* workers and on whole colonies exhibiting all the elements of eusociality. Culture filtrates from different *Syncephalastrum* sp. isolates, when incorporated into an artificial diet, caused significant worker mortality. Attractiveness assays revealed no significant difference on how workers handled the filtrates when added to rice flakes, suggesting that the ants do not perceive the filtrates as repellent. Worker mortality was also observed when they were exposed to spores, though it remains unclear a direct association with the fungus. Spraying *Syncephalastrum* sp. spores onto healthy, young and adult *A. sexdens* colonies led to a reduction in leaf cutting, a decline in the general health of the colonies, and an increased amount of fungus garden material being discarded as waste. However, no colonies treated with *Syncephalastrum* sp. spores died during the 21-day experiment. Fragments collected from the waste piles of young colonies revealed a high incidence of the fungus even before the spores were sprayed, suggesting that *Syncephalastrum* sp. may already be present in field colonies. Growth of *Syncephalastrum* sp. was observed in the fungus gardens of colonies weakened by sulfluramid (an insecticide), both in colonies sprayed with spores and in those that did not receive the spore suspension. These findings support previous research that *Syncephalastrum* sp. may act as a pathogen to the colony. However, our data suggest that the fungus is more likely an opportunist, taking advantage of instability within the colony. This study opens up promising windows for research into combining *Syncephalastrum* sp. with other compounds to assess its potential as a biological control agent.

**Keywords:** Mutualism; Opportunism; Entomopathogen; *Attina*; *Mucorales*.

**Title in english:** Impacts of *Syncephalastrum* on leaf-cutting ant colonies.

## LISTA DE FIGURAS

- Figura 1.** *Syncephalastrum* sp. LESF 127. A: Macro morfologia da colônia. Cultivo em meio Ágar Malte 2% a 25 °C, durante cinco dias, no escuro. B: Esporangióforo, estrutura assexuada de reprodução, compreendendo uma vesícula recoberta por merosporângios (seta). Cada merosporângio contém merósporos (esporos assexuados). ..... 14
- Figura 2.** Sobrevivência de operárias de *Atta sexdens* após 21 dias de exposição a suspensão de esporos dos isolados de *Syncephalastrum* sp. LESF 127 e MOC 27. .... 25
- Figura 3.** Operária de *Atta sexdens* colonizada pelo crescimento do isolado de *Syncephalastrum* sp. MOC 27, após exposição a suspensão de esporos. Operária foi mantida em câmara úmida durante 5 dias, a 25 °C, no escuro. Setas indicam os esporangióforos do fungo. .... 25
- Figura 4.** Sobrevivência de operárias de *Atta sexdens* alimentadas com dietas, durante 21 dias, suplementadas com filtrados de cultivo de diferentes isolados de *Syncephalastrum* sp. (filtrados obtidos com sete dias, sob 105 RPM de rotação). A: Concentração de 50%. B: Concentração de 25% de filtrado. Valores de p foram obtidos pelo teste de Kaplan-Meier. .... 26
- Figura 5.** Sobrevivência de operárias de *Atta sexdens* alimentadas com dietas, durante 21 dias, suplementadas com filtrados de cultivo de *Syncephalastrum* sp. LESF 127, nas concentrações de 50% e 25% (filtrados obtidos com sete dias, sem rotação). Valor de p foi obtido pelo teste de Kaplan-Meier. .... 27
- Figura 6.** Quantidade de flocos de arroz coletados por operárias de *Atta sexdens* na segunda combinação. Os flocos continham filtrados de cultivo de diferentes isolados de *Syncephalastrum* sp. .... 28
- Figura 7.** Variação nos escores de corte de folhas de colônias jovens e adultas de *Atta sexdens* aspergidas com esporos de *Syncephalastrum* sp. LESF 127 e MOC 27. Escores 0: 100% das folhas carregadas e incorporadas; 1: 75% das folhas carregadas e incorporadas; 2: 50% das folhas carregadas e incorporadas; 3: 25% das folhas carregadas e incorporadas; 4: 0% das folhas carregadas e incorporadas. .... 29
- Figura 9.** Variação no escores de condição do sauveiro de colônias jovens e adultas de *Atta sexdens* aspergidas com esporos de *Syncephalastrum* sp. LESF 127 e MOC 27. Escores 0: Colônia com todas as atividades normais; 1: Colônia com redução nas atividades de corte e incorporação; 2: Colônia com redução no corte e sem incorporação; 3: Colônia sem corte e incorporação; 4: Jardim de fungo morto com poucas ou nenhuma operária viva. .... 30
- Figura 9.** Variação no escore de jardim de fungo novo descartado no lixo de colônias jovens e adultas de *Atta sexdens* aspergidas com esporos do fungo *Syncephalastrum* sp. LESF 127 e MOC 27. Escores: 0: Sem alteração em relação ao controle; 1: 25% de fragmentos novos de jardim descartados; 2: 50% de fragmentos novos de jardim descartados; 3: 75% de fragmentos novos de jardim descartados; 4: 100% do jardim descartado no lixo. .... 31
- Figura 10.** Fragmentos de lixo de colônias jovens e adultas de *Atta sexdens* aspergidas com esporos de *Syncephalastrum* sp. LESF 127 e que apresentaram crescimento do fungo. Controle não recebeu esporos. .... 32
- Figura 11.** Fragmentos de lixo de colônias jovens e adultas de *Atta sexdens* aspergidas com esporos de *Syncephalastrum* sp. MOC 27 e que apresentaram crescimento do fungo. Controle não recebeu esporos. .... 33
- Figura 12.** Colônias de *Atta sexdens* debilitadas pela aplicação de iscas com sulfluramida e aspersão do isolado *Syncephalastrum* sp. MOC 27. A: Colônia no dia em que recebeu as iscas. B: Colônia com cinco dias após a aplicação das iscas. Note a coloração acinzentada do jardim, devido a presença de merosporângios do fungo. .... 34

## LISTA DE TABELAS

<b>Tabela 1.</b> Descrição dos isolados de <i>Atta sexdens</i> e <i>Acromyrmex lundii</i> utilizados no estudo. .....	16
<b>Tabela 2.</b> Descrição dos escores de cada parâmetro avaliado nas colônias de <i>Atta sexdens</i> , nos bioensaios com colônias sadias e debilitadas com sulfluramida. ....	23

## SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO.....	11
2 OBJETIVOS.....	15
2.1 Geral.....	15
2.2 Específicos.....	15
3 MATERIAL E MÉTODOS.....	15
3.1 Manutenção das colônias da saúva-limão.....	15
3.2 Cultivo e manutenção dos fungos.....	16
3.3 Obtenção dos filtrados.....	17
3.4 Sobrevivência de operárias expostas aos esporos de <i>Syncephalastrum</i> sp.....	18
3.5 Bioensaio de sobrevivência das operárias.....	19
3.6 Bioensaio de atratividade dos filtrados para operárias.....	20
3.7 Avaliação do impacto de <i>Syncephalastrum</i> sp. em colônias sadias.....	21
3.8 Oportunismo de <i>Syncephalastrum</i> sp. em colônias desestabilizadas com sulfloramida....	23
4 RESULTADOS.....	24
4.1 Sobrevivência de operárias expostas aos esporos de <i>Syncephalastrum</i> sp.....	24
4.2 Sobrevivência de operárias alimentadas com filtrados de <i>Syncephalastrum</i> sp.....	26
4.3 Atratividade dos filtrados de <i>Syncephalastrum</i> sp. para operárias.....	27
4.4 Impacto de <i>Syncephalastrum</i> sp. em colônias de <i>Atta sexdens</i> .....	28
4.5 Oportunismo de <i>Syncephalastrum</i> sp. em colônias desestabilizadas com sulfloramida....	33
5 DISCUSSÃO.....	35
6 CONSIDERAÇÕES.....	38
REFERÊNCIAS.....	40
APÊNDICE.....	45

## 1 INTRODUÇÃO

Formigas-cortadeiras do gênero *Atta* Fabricius, 1804 pertencem a subtribo *Attina* (as atíneas), que reúne formigas que cultivam fungos para alimentação (Ward *et al.*, 2015). As formigas-cortadeiras são polimórficas, ou seja, as operárias apresentam diferenças morfológicas associadas às diferentes tarefas que desempenham na colônia. O formato das mandíbulas, por exemplo, está relacionado com o tipo de material forrageado para cultivar o fungo e, conseqüentemente, com o número de tarefas necessárias para o processamento desse substrato (Hölldobler; Wilson, 1990; Camargo *et al.*, 2016;).

As formigas dos gêneros *Atta*, *Acromyrmex* Mayr, 1865 e *Amoimyrmex* Cristiano, 2020 formam um grupo monofilético (Barrera *et al.*, 2022). As espécies deste grupo utilizam flores e folhas frescas como substrato para nutrir o fungo, sendo considerado o grupo mais derivado de *Attina*. Nesta subtribo, também estão as formigas chamadas de atíneas basais ou menos derivadas (Brandão; Mayhé-Nunes; Sanhudo, 2011). Por característica, essas atíneas apresentam colônias menores em comparação com as formigas-cortadeiras, construindo ninhos pouco visíveis no solo, ou em troncos de árvores, alimentando o fungo mutualista com diferentes substratos (Brandão; Mayhé-Nunes; Sanhudo, 2011).

O cultivo de fungo pelas atíneas é caracterizado como um mutualismo obrigatório (Weber, 1972). Neste, as formigas dependem do fungo (como estômago externo) para degradar o substrato que coletam, para nutrirem-se das hifas. Por sua vez, o fungo é transportado pelas operárias de uma colônia parental para filha, além de receber proteção das formigas (Little *et al.*, 2003). Tal mutualismo originou-se há 66 milhões de anos atrás, no período cretáceo, após a queda do asteroide que dizimou parte dos dinossauros (Schultz *et al.*, 2024). A grande quantidade de matéria orgânica disponível propiciou um ambiente em que as formigas nutriam o fungo com matéria orgânica que, em contra partida, era metabolizada e compartilhada com as operárias (Schultz *et al.*, 2024).

O fungo *Leucoagaricus gongylophorus* (Möller) Singer (1986) (*Basidiomycota: Agaricales: Agaricaceae*) é o cultivar fúngico das formigas do gênero *Atta* (Branstetter *et al.*, 2017; Schultz; Brady, 2008). Estima-se que essa relação originou-se há 8 a 12 milhões de anos, moldando o hábito do corte de material vegetal fresco para o cultivo fúngico (Schultz; Brady, 2008; Schultz, 2022). A alimentação das formigas se dá por estruturas específicas produzidas por esse fungo, os gongilídeos. Através de processos de autofagia do conteúdo citoplasmático, o fungo produz vesículas na extremidade das hifas, chamadas de gongilídeos (Leal-Dutra *et al.*,

2023). Estes são organizados em agrupamentos semelhantes a cachos (estáfílas), estruturas ricas em nutrientes, sendo utilizadas para a alimentação (Mueller *et al.*, 2001).

A necessidade de alimentar o fungo mutualista com material vegetal fresco, faz com que as formigas-cortadeiras consumam mais vegetação do que qualquer outro herbívoro. Tal característica as coloca como os herbívoros dominantes do Neotrópico (Wirth *et al.*, 2003). O corte massivo de folhas, faz com que essas formigas adquiram o *status* de pragas, principalmente, quando ocorrem em ambientes antropizados, causando grandes prejuízos financeiros nas monoculturas (Della Lucia; Gandra; Guedes, 2014). Como as espécies cultivadas nas monoculturas não são nativas do Neotrópico, ou seja, essas não coevoluíram com as formigas-cortadeiras, sendo então vulneráveis aos ataques desses insetos (Montoya-Lerma *et al.*, 2012).

Costa *et al.* (2008) estimou que as formigas-cortadeiras podem consumir cerca de 558,1 kg de folhas frescas em um hectare, correspondendo aproximadamente a 15% do material vegetal produzido na área de estudo. Projeções realizadas no ano de 1997 mostram que o prejuízo causado às culturas pode atingir valores de 60 milhões de dólares ao ano, quando considerada a presença de apenas uma colônia de formiga-cortadeira por hectare em cultivo de cana-de-açúcar, limitando a produtividade da área (Della Lucia; Souza, 2011; Della Lucia; Gandra; Guedes, 2014). Portanto, o impacto econômico das formigas-cortadeiras exige métodos de controle para mitigar danos nas plantações.

Existem diversos métodos de controle, incluindo controle mecânico, físico, cultural, biológico e químico, com o controle manual sendo o menos usado e o químico o mais comum para as formigas-cortadeiras (Boaretto; Forti, 1997). Dentre os métodos que empregam substâncias químicas, o mais utilizado é a aplicação de iscas formicidas, compostas por ingredientes ativos e atrativos (Oliveira *et al.*, 2011). Os ingredientes ativos são responsáveis por causar a morte das operárias, sendo a sulfluramida e o fipronil, os mais empregados como ingredientes ativos; como atrativo, costuma-se utilizar a polpa cítrica desidratada, composta por laranja (Boaretto; Forti, 1997). Outros atrativos, como o farelo de soja e a farinha de trigo também podem ser utilizados (Boaretto; Forti, 1997). Entretanto, a sulfluramida e o fipronil causam sérios danos ao ambiente, sendo que o último pode permanecer no solo durante 12 anos (Britto *et al.*, 2016). Neste cenário, uma das metas do Plano Nacional de Implementação do Brasil, para a Convenção de Estocolmo sobre Poluentes Orgânicos Persistentes, é encontrar alternativas ao uso da sulfluramida, segundo o Ministério do Meio Ambiente (Brasil, 2023).

Uma alternativa aos meios tradicionais de controle de pragas e doenças é o controle biológico. Este consiste na utilização de um predador natural para reduzir a população de

pragas, sem causar sua erradicação, de modo que o predador continue presente no agrossistema (Lemes; Zanuncio, 2021). Os agentes biológicos são classificados como predadores, parasitoides e patógenos. Os últimos incluem bactérias, fungos, nematoides, protozoários e vírus, que são denominados de entomopatógenos, quando causam a morte dos insetos (Khan *et al.*, 2012; Lemes; Zanuncio, 2021).

Os fungos entomopatógenos mais utilizados para o controle biológico de insetos são: *Metarhizium anisopliae* (Metschn.) Sorokīn (1883) e *Beauveria bassiana* (Bals.-Criv.) Vuill. (1912) (Boaretto; Forti, 1997; Montoya-Lerma *et al.*, 2012). A aplicação de fungos e de outros microrganismos formulados em bioinsumos apresenta resultados promissores, exemplos são a formulação de inseticidas orgânicos utilizando *B. bassiana* e *Bacillus thuringiensis* Berliner (1915) para controle do Percevejo-Bronzeado (*Thaumastocoris peregrinus*) Carpintero & Dellapé (2006) e de lagartas, respectivamente (Lemes; Zanuncio, 2021; Soliman *et al.*, 2019); utilização de *M. anisopliae* para controle da cigarrinha da cana-de-açúcar, *Mahanarva fimbriolata* (Stål, 1854) (Filho *et al.*, 2003; Lemes; Zanuncio, 2021).

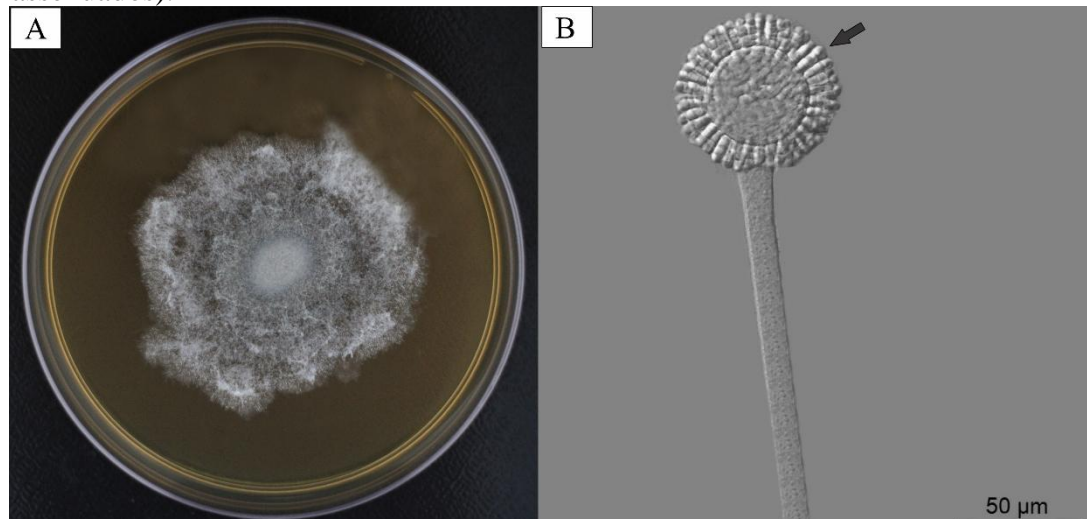
O controle microbiológico de formigas-cortadeiras ainda é desafiador por diversos fatores. Dentre eles, o principal são as estratégias desenvolvidas pela eussocialidade desses insetos, como o reconhecimento de substâncias químicas prejudiciais às operárias e ao fungo mutualista (Oliveira *et al.*, 2011). Além disso, esses insetos apresentam diferentes respostas higiênicas, desde comportamentos de limpeza até o uso de secreções das glândulas metapleurais com atividade antimicrobiana, que compõem a imunidade social dessas formigas, para eliminar microrganismos indesejáveis às suas colônias (Currie; Stuart, 2001; Fernández-Marín *et al.*, 2015; Yek; Mueller, 2011).

No presente estudo, investigamos o potencial de fungos do gênero *Syncephalastrum* J. Schröt. (1886) (*Mucoromycota: Mucorales*) como possível agente de controle de *A. sexdens*. *Syncephalastrum* sp. é um fungo filamentoso que pode ser encontrado em amostras clínicas de pacientes imunodeprimidos, em fezes de animais e no solo, como um saprotrofo (i.e., degradador de matéria orgânica, Figura 1) (Souza *et al.*, 2017; Lima *et al.*, 2020; Kabtani *et al.*, 2024). Estudos demonstraram que *Syncephalastrum racemosum* Cohn ex J. Schröt. (1886) apresenta potencial biotecnológico, por ser utilizado na obtenção de biosurfactantes, durante a bioconversão de substratos de baixo custo (Bione *et al.*, 2022), ou na produção de quitosana com baixo nível de acetilação (Amorim *et al.*, 2006).

Espécies de *Syncephalastrum* também são encontradas habitando colônias de *A. sexdens*. Rodrigues *et al.* (2005) notaram uma elevada incidência do fungo em colônias de laboratório tratadas com inseticidas. Barcoto *et al.* (2017) mostraram que *Syncephalastrum* sp.

é um patógeno para as colônias de *A. sexdens* por preencher os postulados de Koch, além de apresentar a capacidade de inibir o crescimento do fungo mutualista em testes de co-cultivo (Bizarria *et al.*, 2018). *Syncephalastrum* sp. afetou negativamente subcolônias de *A. sexdens*, principalmente na ausência da rainha, diminuindo a taxa do corte de folhas pelas operárias (Barcoto *et al.*, 2017). Ao ser aplicado em colônias de *Acromyrmex subterraneus* Forel, 1893, *Syncephalastrum* sp. também acarretou uma diminuição na taxa do corte de folhas, principalmente nas subcolônias sem rainhas (Bautz *et al.*, 2023). Goes *et al.* (2022) demonstraram que as operárias de colônias aspergidas com esporos de *Syncephalastrum* sp. apresentaram maiores respostas higiênicas, em comparação com *M. anisopliae* e *Escovopsis* J.J. Muchovej & Della Lucia (1990). O último considerado um antagonista do fungo cultivado pelas formigas-cortadeiras (Jiménez-Gómez *et al.*, 2021). O efeito de *Syncephalastrum* sp. pode ter sido amplificado pelo uso de subcolônias no estudo de Barcoto *et al.* (2017), uma vez que Bautz *et al.* (2023) mostraram que, em colônias completas de *A. subterraneus*, *Syncephalastrum* sp. apresentou baixo impacto nas condições gerais das colônias.

**Figura 1.** *Syncephalastrum* sp. LESF 127. A: Macro morfologia da colônia. Cultivo em meio Ágar Malte 2% a 25 °C, durante cinco dias, no escuro. B: Esporangióforo, estrutura assexuada de reprodução, compreendendo uma vesícula recoberta por merosporângios (seta). Cada merosporângio contém merósporos (esporos assexuados).



**Fonte:** Elaborado pelo autor.

O presente estudo determinou os efeitos de diferentes isolados de *Syncephalastrum* sp. em operárias e em colônias de *A. sexdens*. Nosso interesse em avaliar operárias advém do fato da maioria dos estudos demonstrar os efeitos de *Syncephalastrum* no fungo cultivado ou em subcolônias, porém nada se sabe se pode afetar indiretamente as operárias. Para tanto, foram

realizados bioensaios para determinar a mortalidade de operárias frente aos filtrados de cultivo dos isolados fúngicos e seus esporos, bem como testes de atratividade dos filtrados. Além disso, foram realizados experimentos com colônias jovens e maduras, nas quais foram aspergidos esporos de *Syncephalastrum* sp. para saber se afetam negativamente colônias contendo todos os elementos da eussocialidade e também a aplicação de esporos em colônias que receberam iscas formicidas, para avaliar o impacto causado pelo fungo em colônias debilitadas.

## **6 CONSIDERAÇÕES**

Este trabalho mostrou que *Syncephalastrum* sp. pode não somente causar a mortalidade de operárias de *A. sexdens* pela ingestão de filtrados de cultivo do fungo, mas também de

impactar negativamente as condições de colônias jovens e adultas, com todos os elementos da sociedade. No entanto, ao expor as operárias aos esporos do fungo, não podemos comprovar a ação entomopatogênica deste. A presença do fungo em colônias que não foram previamente inoculadas com esporos sugere que este habita as colônias no campo. Por motivos ainda não compreendidos, esse fungo permanece nas colônias durante a manutenção no laboratório, sendo que nossos resultados sugerem que colônias iniciais sejam mais afetadas por *Syncephalastrum* sp. O crescimento de *Syncephalastrum* sp. em colônias debilitadas com sulfluramida suporta a ideia de que esse fungo seja um oportunista.

O controle biológico de formigas-cortadeiras é desafiador, mas considerando a necessidade de desenvolvimento de métodos alternativos de combate, estudos futuros poderiam considerar o emprego de *Syncephalastrum* sp. em iscas não peletizadas, juntamente com outros fungos prejudiciais às formigas. Alternativamente, tais iscas poderiam conter um composto natural, com ação inseticida, que desestabilize o equilíbrio da colônia, assim possibilitando o crescimento oportunista de *Syncephalastrum* sp.

## REFERÊNCIAS

- AMORIM, R. V. S. *et al.* Chitosan from *Syncephalastrum racemosum* using sugar cane substrates as inexpensive carbon sources. **Food Biotechnology**, [s. l.], v. 20, n. 1, p. 43–53, 2006. Disponível em: <http://www.tandfonline.com/doi/abs/10.1080/08905430500524028>. Acesso em: 9 jun. 2024.
- BARCOTO, M. O. *et al.* Pathogenic nature of *Syncephalastrum* in *Atta sexdens rubropilosa* fungus gardens. **Pest Management Science**, [s. l.], v. 73, n. 5, p. 999–1009, 2017. Disponível em: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/ps.4416>.
- BAUTZ, K. R. *et al.* Limited impacts of the fungus *Syncephalastrum* on nests of leaf-cutting ants. **Fungal Ecology**, [s. l.], v. 62, p. 101198, 2023. Disponível em: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1754504822000599>.
- BENJAMINI, Y.; HOCHBERG, Y. Controlling the false discovery rate: A practical and powerful approach to multiple testing. **Journal of the Royal Statistical Society Series B: Statistical Methodology**, [s. l.], v. 57, n. 1, p. 289–300, 1995. Disponível em: <https://academic.oup.com/jrssb/article/57/1/289/7035855>. Acesso em: 18 dez. 2024.
- BEROVIČ, M. *et al.* Submerged citric acid fermentation: rheological properties of *Aspergillus niger* broth in a stirred tank reactor. **Applied Microbiology and Biotechnology**, [s. l.], v. 34, n. 5, p. 579–581, 1991. Disponível em: <https://link.springer.com/article/10.1007/BF00167902>. Acesso em: 30 maio 2024.
- BIONE, A. P. *et al.* Valorization of agro-industrial by-products for sustainable production of biosurfactant by *Syncephalastrum racemosum* UCP 1302. **Research, Society and Development**, [s. l.], v. 11, n. 9, p. e58011932372, 2022. Disponível em: <https://rsdjournal.org/index.php/rsd/article/view/32372>.
- BIZARRIA, R. *et al.* Soluble compounds of filamentous fungi harm the symbiotic fungus of leafcutter ants. **Current Microbiology**, [s. l.], v. 75, n. 12, p. 1602–1608, 2018. Disponível em: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/30203337>.
- BOARETTO, M. A. C.; FORTI, L. C. Perspectivas no controle de formigas cortadeiras. **Série Técnica IPEF**, [s. l.], v. 11, p. 31–46, 1997. Disponível em: Acesso em: 26 fev. 2023.
- BRANDÃO, C. R. F.; MAYHÉ-NUNES, A. J.; SANHUDO, C. E. D. Taxonomia e filogenia das formigas-cortadeiras. In: DELLA LUCIA, T. M. C. (org.). **Formigas cortadeiras: da bioecologia ao manejo**. 1. ed. Viçosa: UFV, 2011. p. 27–48.
- BRANSTETTER, M. G. *et al.* Dry habitats were crucibles of domestication in the evolution of agriculture in ants. **Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences**, [s. l.], v. 284, n. 1852, p. 20170095, 2017. Disponível em: <https://royalsocietypublishing.org/doi/10.1098/rspb.2017.0095>. Acesso em: 17 dez. 2024.
- BRASIL. MINISTÉRIO DO MEIO AMBIENTE. **Plano nacional de implementação do Brasil para a convenção de Estocolmo sobre poluentes orgânicos persistentes**. [S. l.: s. n.], 2023. Disponível em: <https://www.gov.br/mma/pt-br/brasil-atualiza-plano-de-implementacao-da-convencao-de-estocolmo-sobre-poluentes-organicos->

persistentes/atualizacao-do-plano-nacional-de-implementacao-da-convencao-de-estocolmo-sobre-pops.pdf. Acesso em: 6 jun. 2024.

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**, [s. l.], v. 3, p. 11–92, 2016.

BROOKS, M. *et al.* glmmTMB Balances speed and flexibility among packages for zero-inflated generalized linear mixed modeling. **The R Journal**, [s. l.], v. 9, n. 2, p. 378, 2017. Disponível em: <https://journal.r-project.org/archive/2017/RJ-2017-066/index.html>. Acesso em: 18 dez. 2024.

BUENO, F. C. **Seleção de ingredientes ativos para o desenvolvimento de iscas tóxicas para o controle de formigas-cortadeiras (Hymenoptera: Formicidae)**. 2013. 1–74 f. - Universidade Estadual Paulista, Rio Claro, 2013. Disponível em: <https://repositorio.unesp.br/handle/11449/108739>. Acesso em: 1 mar. 2023.

BUENO, O. C. *et al.* Sobrevivência de operárias de *Atta sexdens rubropilosa* Forel (Hymenoptera: Formicidae) isoladas do formigueiro e alimentadas com dietas artificiais. **Anais da Sociedade Entomológica do Brasil**, [s. l.], v. 26, n. 1, p. 107–113, 1997. Disponível em: [http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0301-80591997000100015&lng=pt&tlng=pt](http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0301-80591997000100015&lng=pt&tlng=pt).

CAMARGO, R. D. S. *et al.* Mandibles of leaf-cutting ants: Morphology related to food preference. **Sociobiology**, [s. l.], v. 63, n. 3, p. 881, 2016. Disponível em: <http://periodicos.uefs.br/index.php/sociobiology/article/view/1014>. Acesso em: 5 jun. 2024.

CHRISTENSEN, R. H. B. **Regression models for ordinal data**. [S. l.], 2023. Disponível em: [https://scholar.google.com.br/scholar?hl=pt-BR&as\\_sdt=0%2C5&q=Christensen+R+%282023%29.+\\_ordinal-Regression+Models+for+Ordinal+Data\\_.+R+++package+version+2023.12-4.1%2C&btnG=](https://scholar.google.com.br/scholar?hl=pt-BR&as_sdt=0%2C5&q=Christensen+R+%282023%29.+_ordinal-Regression+Models+for+Ordinal+Data_.+R+++package+version+2023.12-4.1%2C&btnG=). Acesso em: 18 dez. 2024.

COSTA, A. N. *et al.* Do herbivores exert top-down effects in Neotropical savannas? Estimates of biomass consumption by leaf-cutter ants. **Journal of Vegetation Science**, [s. l.], v. 19, n. 6, p. 849–854, 2008. Disponível em: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.3170/2008-8-18461>. Acesso em: 7 jun. 2024.

CURRIE, C. R.; STUART, A. E. Weeding and grooming of pathogens in agriculture by ants. **Proceedings of the Royal Society of London. Series B: Biological Sciences**, [s. l.], v. 268, n. 1471, p. 1033–1039, 2001. Disponível em: <https://royalsocietypublishing.org/doi/10.1098/rspb.2001.1605>. Acesso em: 19 jun. 2024.

DELLA LUCIA, T. M. C.; GANDRA, L. C.; GUEDES, R. N. Managing leaf-cutting ants: Peculiarities, trends and challenges. **Pest Management Science**, [s. l.], v. 70, n. 1, p. 14–23, 2014.

DELLA LUCIA, T. M. C.; SOUZA, D. J. Importância e história de vida das formigas cortadeiras. In: DELLA LUCIA, T. M. C. (org.). **Formigas cortadeiras: da bioecologia ao manejo**. 1. ed. Viçosa: UFV, 2011. p. 13–26.

FERNÁNDEZ-MARÍN, H. *et al.* Functional role of phenylacetic acid from metapleural gland secretions in controlling fungal pathogens in evolutionarily derived leaf-cutting ants.

**Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences**, [s. l.], v. 282, n. 1807, p. 20150212, 2015. Disponível em:

<https://royalsocietypublishing.org/doi/10.1098/rspb.2015.0212>. Acesso em: 19 jun. 2024.

FILHO, A. *et al.* Eficiência de isolados de *Metarhizium anisopliae* no controle de cigarrinha-da-raiz da cana-de-açúcar *Mahanarva fimbriolata* (Hom.: Cercopidae). **Arquivos do Instituto Biológico**, [s. l.], v. 70, p. 309–314, 2003. Disponível em:

[http://www.biologico.sp.gov.br/uploads/docs/arq/V70\\_3/batista.PDF](http://www.biologico.sp.gov.br/uploads/docs/arq/V70_3/batista.PDF). Acesso em: 9 jun. 2024.

GOES, A. C. *et al.* Distinct and enhanced hygienic responses of a leaf-cutting ant toward repeated fungi exposures. **Ecology and Evolution**, [s. l.], v. 12, n. 7, 2022. Disponível em: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/ece3.9112>.

GREEN, P. W. C.; KOOIJ, P. W. The role of chemical signalling in maintenance of the fungus garden by leaf-cutting ants. **Chemoecology**, [s. l.], v. 28, n. 3, p. 101–107, 2018. Disponível em: <http://link.springer.com/10.1007/s00049-018-0260-x>. Acesso em: 23 jun. 2024.

HÖLLDOBLER, B.; WILSON, E. O. **The Ants**. [S. l.]: Belknap Press, 1990.

JIMÉNEZ-GÓMEZ, I. *et al.* Host susceptibility modulates *Escovopsis* Pathogenic potential in the fungiculture of higher Attine ants. **Frontiers in Microbiology**, [s. l.], v. 12, p. 673444, 2021. Disponível em: <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fmicb.2021.673444/full>. Acesso em: 13 jun. 2024.

KABTANI, J. *et al.* *Syncephalastrum massiliense* sp. nov. and *Syncephalastrum timoneanum* sp. nov. Isolated from Clinical Samples. **Journal of Fungi**, [s. l.], v. 10, n. 1, p. 64, 2024. Disponível em: <https://www.mdpi.com/2309-608X/10/1/64>. Acesso em: 18 jun. 2024.

KASSAMBARA, A.; KOSINSKI, M.; BIECEK, P. **Survminer: Drawing survival curves using “ggplot2”**. [S. l.], 2024. Disponível em: [https://scholar.google.com.br/scholar?hl=pt-BR&as\\_sdt=0%2C5&q=Kassambara+A%2C+Kosinski+M%2C+Biecek+P+%282024%29.+\\_survminer%3A+Drawing+++Survival+Curves+using+%27ggplot2%27\\_.+R+package+version+0.5.0%2C+++%3Chttps%3A%2F%2FCRAN.R-project.org%2Fpackage%3Dsurvminer%3E.&btnG=](https://scholar.google.com.br/scholar?hl=pt-BR&as_sdt=0%2C5&q=Kassambara+A%2C+Kosinski+M%2C+Biecek+P+%282024%29.+_survminer%3A+Drawing+++Survival+Curves+using+%27ggplot2%27_.+R+package+version+0.5.0%2C+++%3Chttps%3A%2F%2FCRAN.R-project.org%2Fpackage%3Dsurvminer%3E.&btnG=). Acesso em: 19 dez. 2024.

KHAN, S. *et al.* Entomopathogenic fungi as microbial biocontrol agent. **Molecular Plant Breeding**, [s. l.], 2012. Disponível em: <http://biopublisher.ca/index.php/mpb/article/view/346>.

LEAL-DUTRA, C. A. *et al.* Evidence that the domesticated fungus *Leucoagaricus gongylophorus* recycles its cytoplasmic contents as nutritional rewards to feed its leafcutter ant farmers. **IMA Fungus**, [s. l.], v. 14, n. 1, p. 1–13, 2023. Disponível em: <https://link.springer.com/articles/10.1186/s43008-023-00126-5>. Acesso em: 7 jun. 2024.

LEMES, P. G.; ZANUNCIO, J. C. **Novo manual de pragas florestais brasileiras**. Montes Claros: [s. n.], 2021.

LIMA, D. X. *et al.* Communities of Mucorales (phylum Mucoromycota) in different ecosystems of the Atlantic Forest. **Acta Botanica Brasilica**, [s. l.], v. 34, n. 4, p. 796–806, 2020. Disponível em: [http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0102-33062020000400796&tlng=en](http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0102-33062020000400796&tlng=en). Acesso em: 18 jun. 2024.

LITTLE, A. E. F. *et al.* The infrabuccal pellet piles of fungus-growing ants. **Naturwissenschaften**, [s. l.], v. 90, n. 12, p. 558–562, 2003. Disponível em: <http://link.springer.com/10.1007/s00114-003-0480-x>. Acesso em: 17 dez. 2024.

LOUREIRO, E. de S. *et al.* Pathogenicity of *Beauveria bassiana* to *Atta sexdens rubropilosa* (Hymenoptera: Formicidae) in laboratory conditions. **Research, Society and Development**, [s. l.], v. 11, n. 2, p. e41011225831, 2022. Disponível em: <https://rsdjournal.org/index.php/rsd/article/view/25831>. Acesso em: 1 jan. 2025.

LOUREIRO, E. de S.; MONTEIRO, A. C. Patogenicidade de isolados de três fungos entomopatogênicos a soldados de *Atta sexdens sexdens* (Linnaeus, 1758) (Hymenoptera : Formicidae). **Revista Árvore**, [s. l.], v. 29, n. 4, p. 553–561, 2005. Disponível em: [http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0100-67622005000400007&lng=pt&tlng=pt](http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0100-67622005000400007&lng=pt&tlng=pt). Acesso em: 1 jan. 2025.

MANTZOUKAS, S. *et al.* Entomopathogenic Fungi: Interactions and Applications. **Encyclopedia**, [s. l.], v. 2, n. 2, p. 646–656, 2022. Disponível em: <https://www.mdpi.com/2673-8392/2/2/44>.

MONTOYA-LERMA, J. *et al.* Leaf-cutting ants revisited: Towards rational management and control. **International Journal of Pest Management**, [s. l.], v. 58, n. 3, p. 225–247, 2012. Disponível em: <http://www.tandfonline.com/doi/abs/10.1080/09670874.2012.663946>. Acesso em: 8 fev. 2023.

MUELLER, U. G. *et al.* The origin of the attine ant-fungus mutualism. **The Quarterly Review of Biology**, [s. l.], v. 76, n. 2, p. 169–197, 2001. Disponível em: <https://www.journals.uchicago.edu/doi/10.1086/393867>. Acesso em: 7 jun. 2024.

NOGUEIRA, B. R. *et al.* Collection and long-term maintenance of leaf-cutting ants (*Atta*) in laboratory conditions. **Journal of Visualized Experiments**, [s. l.], n. 186, 2022. Disponível em: <https://www.jove.com/v/64154/collection-long-term-maintenance-leaf-cutting-ants-atta-laboratory>. Acesso em: 9 jun. 2024.

OLIVEIRA, M. A. D. *et al.* Manejo de formigas-cortadeiras. In: DELLA LUCIA, T. M. C. (org.). **Formigas cortadeiras: da bioecologia ao manejo**. 1. ed. Viçosa: UFV, 2011. p. 400–419.

R CORE TEAM. **A language and environment for statistical computing**. [S. l.]: R Foundation For Statistical Computing., 2024.

RODRIGUES, A. *et al.* Variability of non-mutualistic filamentous fungi associated with *Atta sexdens rubropilosa* nests. **Folia Microbiologica**, [s. l.], v. 50, n. 5, p. 421, 2005. Disponível em: <https://link.springer.com/10.1007/BF02931424>.

SCHULTZ, T. R. *et al.* The coevolution of fungus-ant agriculture. **Science (New York, N.Y.)**, [s. l.], v. 386, n. 6717, p. 105–110, 2024. Disponível em: Acesso em: 8 dez. 2024.

SCHULTZ, T. R. The convergent evolution of agriculture in humans and fungus-farming ants. *In*: THE CONVERGENT EVOLUTION OF AGRICULTURE IN HUMANS AND INSECTS. Cambridge: The MIT Press, 2022. p. 281–313. Disponível em: <https://direct.mit.edu/books/book/5272/chapter/3612463>. Acesso em: 15 fev. 2023.

SCHULTZ, T. R.; BRADY, S. G. Major evolutionary transitions in ant agriculture. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, [s. l.], v. 105, n. 14, p. 5435–5440, 2008. Disponível em: <https://pnas.org/doi/full/10.1073/pnas.0711024105>. Acesso em: 23 fev. 2023.

SEARLE, S. R.; SPEED, F. M.; MILLIKEN, G. A. Population marginal means in the linear model: An alternative to least squares means. **The American Statistician**, [s. l.], v. 34, n. 4, p. 216–221, 1980. Disponível em: <http://www.tandfonline.com/doi/abs/10.1080/00031305.1980.10483031>. Acesso em: 18 dez. 2024.

SOLIMAN, E. P. *et al.* Susceptibility of *Thaumastocoris peregrinus* (Hemiptera: Thaumastocoridae), a *Eucalyptus* pest, to entomopathogenic fungi. **Scientia Agricola**, [s. l.], v. 76, n. 3, p. 255–260, 2019. Disponível em: [http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0103-90162019001300255&tlng=en](http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0103-90162019001300255&tlng=en). Acesso em: 19 dez. 2024.

SOUZA, C. A. F. de *et al.* Coprophilous mucorales (ex Zygomycota) from three areas in the semi-arid of Pernambuco, Brazil. **Brazilian Journal of Microbiology**, [s. l.], v. 48, n. 1, p. 79–86, 2017. Disponível em: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1517838216309054>.

STEFANELLI, L. E. P. *et al.* Effects of entomopathogenic fungi on individuals as well as groups of workers and Immatures of *Atta sexdens rubropilosa* leaf-cutting ants. **Insects**, [s. l.], v. 12, n. 1, p. 10, 2020. Disponível em: <https://www.mdpi.com/2075-4450/12/1/10>.

WARD, P. S. *et al.* The evolution of myrmicine ants: phylogeny and biogeography of a hyperdiverse ant clade (Hymenoptera: Formicidae). **Systematic Entomology**, [s. l.], v. 40, n. 1, p. 61–81, 2015. Disponível em: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.1111/syen.12090>. Acesso em: 6 mar. 2023.

WEBER, A. Gardening ants, the attines. **The American Philosophical Society**, [s. l.], 1972. Disponível em: <https://cir.nii.ac.jp/crid/1130282270937844608>. Acesso em: 19 dez. 2024.

WILSON, E. O. Caste and division of labor in leaf-cutter Ants (Hymenoptera: Formicidae: *Atta*) - II. The ergonomic optimization of leaf cutting. **Behavaviotal Ecology and Sociobiology.**, [s. l.], v. 7, p. 157–165, 1980.

WIRTH, R. *et al.* **Herbivory of leaf-cutting ants: a case study on *Atta colombica* in the tropical rainforest of Panama.** Berlin, Heidelberg: Springer Berlin Heidelberg, 2003. (Ecological Studies). v. 164 Disponível em: <http://link.springer.com/10.1007/978-3-662-05259-4>.

YEK, S. H.; MUELLER, U. G. The metapleural gland of ants. **Biological Reviews**, [s. l.], v. 86, n. 4, p. 774–791, 2011. Disponível em: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/j.1469-185X.2010.00170.x>. Acesso em: 2 jul. 2024.

ZHOU, Y.; DU, J.; TSAO, G. T. Mycelial pellet formation by *Rhizopus oryzae* ATCC 20344. **Applied Biochemistry and Biotechnology - Part A Enzyme Engineering and Biotechnology**, [s. l.], v. 84–86, n. 1, p. 779–789, 2000. Disponível em: <https://link.springer.com/article/10.1385/ABAB:84-86:1-9:779>. Acesso em: 30 maio 2024.