

LUANA DE SOUZA CRUZ

**AÇÃO DA ISCA À BASE DE ISOCICLOSERAM EM COLÔNIAS DE *Atta sexdens*
(L.)**

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Viçosa, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Entomologia, para obtenção do título de *Magister Scientiae*.

Orientador: Raul Narciso Carvalho Guedes

Coorientadores: Karina Dias Amaral
Terezinha M. C. Della Lucia

**VIÇOSA - MINAS GERAIS
2022**

**Ficha catalográfica elaborada pela Biblioteca Central da Universidade
Federal de Viçosa - Campus Viçosa**

T

C957a Cruz, Luana de Souza, 1995-
2022 Ação da isca à base de isocicloseram em colônias de *Atta
sexdens* (L.) / Luana de Souza Cruz. – Viçosa, MG, 2022.
1 dissertação eletrônica (36 f.): il. (algumas color.).

Orientador: Raul Narciso Carvalho Guedes.
Dissertação (mestrado) - Universidade Federal de Viçosa,
Departamento de Entomologia, 2022.
Referências bibliográficas: f. 31-36.
DOI: <https://doi.org/10.47328/ufvbbt.2022.505>
Modo de acesso: World Wide Web.

1. Inseticidas. 2. Isocicloseram (Inseticida). 3. Insetos
nocivos - Controle. 4. Insetos como transmissores de doenças
das plantas. 5. Formiga-cortadeira. I. Guedes, Raul Narciso
Carvalho, 1967-. II. Universidade Federal de Viçosa.
Departamento de Entomologia. Mestrado em Entomologia.
III. Título.

CDD 22. ed. 668.651

Bibliotecário(a) responsável: Euzébio Luiz
Pinto CRB-6/3317

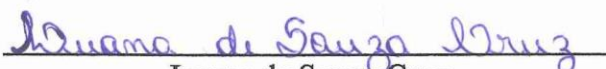
LUANA DE SOUZA CRUZ

**AÇÃO DA ISCA À BASE DE ISOCICLOSERAM EM COLÔNIAS DE *Atta sexdens*
(L.)**

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Viçosa, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Entomologia, para obtenção do título de *Magister Scientiae*.

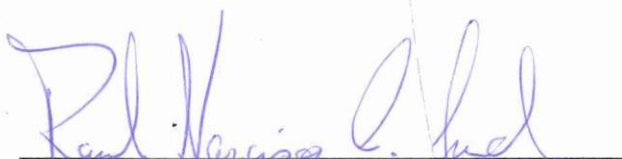
APROVADA: 29 de julho de 2022.

Assentimento:



Luana de Souza Cruz

Autora



Raul Narciso Carvalho Guedes

Orientador

*Aos meus pais e meus irmãos por todo amor
incondicional e incentivo,
Dedico.*

AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus, pelo dom da vida, por me guiar todos os dias e pela força inesgotável em todos os momentos.

Aos meus pais, Natalice e Adilson, por todo amor incondicional, apenas posso agradecer por tudo que vocês têm me dado, pois nunca conseguiria compensar devidamente a dedicação que sempre manifestaram. Amo vocês.

À Universidade Federal de Viçosa e ao Programa de Pós-Graduação em Entomologia, pela oportunidade de me tornar uma profissional melhor.

Ao meu orientador, Prof. Raul Guedes, por me aceitar fazer parte do laboratório, pela confiança, incentivo e dedicação do seu escasso tempo ao meu trabalho de pesquisa.

Às minhas coorientadoras, Karina Dias Amaral e Prof^a Terezinha Maria Castro Della Lucia, por todo ensinamento, paciência e dedicação, especialmente, Karina pela orientação, carinho, amizade e por ser um exemplo de mulher e profissional.

Ao Prof. Dr. Marco Antônio, pela disponibilidade de participar da minha banca examinadora e pelas contribuições pessoais, enriquecendo o conteúdo deste trabalho.

À Syngenta, pelo suporte necessário e por abrir portas do seu espaço para a realização dessa pesquisa. Em especial à Leandro Valerim, pela disponibilidade e apoio.

Aos membros do Laboratório de Ecotoxicologia de Inseticidas, pelo convívio, aprendizagem e momentos de descontração. Agradeço a Leonardo pelas ideias, suporte e por estar sempre disponível quando foi preciso.

O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – Brasil (CAPES) – Código de Financiamento 001.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – Brasil (CAPES), pela concessão da bolsa para realização desse trabalho.

Aos estagiários do Laboratório de Formigas-cortadeiras, Davi, Bruno e Josiele, pelo auxílio na execução dos experimentos.

Ao Sr. Manoel, pelo auxílio e diversão nas coletas de formigas em campo.

À Rodrigo Cupertino, por toda paciência e disponibilidade do seu tempo, auxiliando nas avaliações dos experimentos e sugestões enriquecendo esse trabalho.

Às minhas famílias Souza e Cruz, agradeço a cada um de vocês: avó, tios(as), primos(as), cunhado(a), sobrinho e afilhadas. Em especial a minha dinda Maria da Conceição, pelas orações, proteção e por ser fonte de amor e cuidado em minha vida.

À minha irmã Alaís, por ser meu porto seguro. Ao meu irmão Anderson, por todo amor e força positiva. E ao meu irmão Adson (*in memorian*), com todo amor e saudade agradeço a sua memória.

À minha amiga Mayara Picanço, por todo acolhimento, por ter sido uma irmã que Deus me presenteou nesse mestrado. Agradeço à sua família, pois hoje faço parte dela.

Às amigas que conheci em Viçosa, Carol e Keminy, pelo companheirismo em nosso apê, torcida e amizade, especialmente, à Carol, por se tornar uma amiga e irmã. Sou grata pelo carinho.

Aos meus amigos da graduação para vida, Taís e Wesley, por todo incentivo, torcida e por terem me ensinado a acreditar mais em mim. Vocês tornaram meus dias mais leves e divertidos.

À Andressa Graebin, pelo grande apoio na execução dos experimentos e companheirismo na etapa final de nosso trabalho.

Minha imensa gratidão a todos!

*“Justo quando a lagarta pensou que o mundo tinha acabado,
ela virou uma borboleta.”.*

(Lamartine)

RESUMO

CRUZ, Luana de Souza, M.Sc., Universidade Federal de Viçosa, julho de 2022. **Ação da isca à base de isocloseram em colônias de *Atta sexdens* (L.)**. Orientador: Raul Narciso Carvalho Guedes. Coorientadores: Karina Dias Amaral e Terezinha Maria Castro Della Lucia.

As formigas-cortadeiras são pragas de difícil controle, pois são insetos sociais e possuem táticas de defesas e sistema de seleção dos vegetais que cortam. O uso de inseticidas, na atualidade, é a melhor alternativa no controle às formigas, apesar dos danos que potencialmente causam ao ambiente. Têm-se buscado o avanço de novos formicidas com objetivo de controlar esses insetos, reduzindo assim as perdas causadas por sua atividade forrageira, além de minimizar seus efeitos potencialmente adversos ao ambiente. O plinazolin, tem se mostrado uma alternativa potencial no controle de formigas-cortadeiras, demonstrando alta eficiência em estudos de campo, porém pouco se sabe sobre como este composto atua nas colônias de formigas-cortadeiras. Assim, o objetivo principal desse trabalho é elucidar como a isca à base de plinazolin atua em colônias de formigas-cortadeiras *Atta sexdens* e seus possíveis efeitos relevantes nas diferentes castas, desde efeitos letais a subletais. Além disso, avaliar a sobrevivência das operárias com dieta semi-sólida, contendo o ingrediente ativo. Além disso, avaliou-se consumo foliar, massa de lixo produzida, volume do jardim de fungo, sobrevivência das colônias e interações entre as castas. Os efeitos dessa isca foram comparados aos efeitos da isca comercial contendo sulfluramida e uma isca artesanal utilizada como controle. O plinazolin causou supressão das colônias ocasionando rápida mortalidade das operárias, comprometendo a vida da colônia. Além dos efeitos letais às formigas e colônias, o plinazolin foi disperso de forma igualitária entre as castas causando redução no consumo foliar e na massa lixo produzida pelas colônias em decorrência da rápida mortalidade das operárias. Do mesmo modo, a dieta semi-sólida com plinazolin afetou a mortalidade de todas as castas mostrando que o ingrediente ativo foi disperso de forma igualitária, ao contrário apresentou a sulfluramida que evidenciou mortalidade de jardineiras nos primeiros dias após exposição das iscas. Por outro lado, os resultados mostraram que o plinazolin desencadeou maior número de interação entre as operárias forrageadoras tratadas e não tratadas em relação a colônias não expostas a este composto. Assim, concluiu-se que a isca de plinazolin desencadeia supressão rápida das colônias ao afetar drasticamente todas as castas comprometendo todas as atividades do ninho, apesar de não comprometer o carregamento. Além disso, plinazolin também mostra efeito retardado em operárias forrageadoras não comprometendo o carregamento das iscas, mas

subsequentemente interferindo em suas interações comportamentais e causando mortalidade destas. Tais efeitos comprometem a sobrevivência da rainha e da colônia.

Palavras-chave: Atrativos. Controle químico. Toxicologia.

ABSTRACT

CRUZ, Luana de Souza, M.Sc., Universidade Federal de Viçosa, July, 2022. **Action of isocycloseram-based bait on colonies of *Atta sexdens* (L.)** Adviser: Raul Narciso Carvalho Guedes. Co-advisers: Karin Dias Amaral and Terezinha Maria Castro Della Lucia.

Leaf-cutting ants are difficult to control because they are social insects with defense tactics and a system for selecting the plants they cut. The use of insecticides is currently the best alternative for ant control, despite the damage they potentially cause to the environment. The advance of new formicides has been sought with the objective of controlling these insects, thus reducing the losses caused by their foraging activity, as well as minimizing their potentially adverse effects on the environment. Plinazolin has shown itself to be a potential alternative in the control of leaf-cutting ants, demonstrating high efficiency in field studies. However, little is known about how this compound acts in leaf-cutting ant colonies. Thus, the main objective of this work is to elucidate how the plinazolin-based bait acts in colonies of leafcutter ants *Atta sexdens* and its possible relevant effects on different castes, from lethal to sublethal effects. In addition, the survival of workers on a semi-solid diet containing the active ingredient was evaluated. In addition, leaf consumption, litter mass produced, fungus garden volume, colony survival and interactions between castes were evaluated. The effects of this bait were compared to the effects of commercial bait containing sulfluramid and a homemade bait used as a control. Plinazolin caused colony suppression with rapid mortality of workers, compromising the life of the colony. In addition to the lethal effects to ants and colonies, plinazolin was dispersed equally among the castes causing a reduction in leaf consumption and litter mass produced by the colonies as a result of rapid mortality of the workers. Similarly, the semi-solid diet with plinazolin affected the mortality of all castes showing that the active ingredient was dispersed equally, in contrast presented the sulfluramide that showed mortality of planters in the first days after exposure to the baits. On the other hand, the results showed that plinazolin triggered a greater number of interactions between treated and untreated foraging workers compared to colonies not exposed to this compound. Thus, it was concluded that plinazolin bait triggers rapid suppression of colonies by drastically affecting all castes compromising all nest activities, although it does not compromise loading. In addition, plinazolin also shows delayed effect on foraging workers by not compromising bait loading, but subsequently interfering with their behavioral interactions and causing their mortality. Such effects compromise queen and colony survival.

Keywords: Attractants. Chemical control. Toxicology.

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO.....	11
2. OBJETIVOS.....	13
3. MATERIAIS E MÉTODOS.....	14
3.1. Formulação de iscas.....	14
3.2. Manutenção das colônias em laboratório	14
3.3. Ação das iscas nas colônias	14
3.3.1. Consumo foliar	14
3.3.2. Remoção da massa de lixo.....	15
3.3.3. Sobrevivência das colônias.....	15
3.3.4. Sobrevivência dos indivíduos	16
3.4. Ação das iscas nas castas	16
3.4.1. Sobrevivência	16
3.4.2. Interações.....	17
3.4.2.1. Análises dos vídeos.....	17
3.3. Análises estatísticas	18
4. RESULTADOS	20
4.1. Ação das iscas nas colônias	20
4.1.1. Consumo foliar	20
4.1.2. Remoção da massa de lixo.....	20
4.1.3. Sobrevivência das colônias.....	21
4.1.4. Sobrevivência dos indivíduos	22
4.2. Ação das iscas nas castas	24
4.2.1. Sobrevivência	24
4.1.1. Interações.....	25
5. DISCUSSÃO.....	27
6. CONCLUSÕES	30
REFERÊNCIAS	31

1. INTRODUÇÃO

As formigas-cortadeiras são insetos sociais que se dividem em castas reprodutoras e não reprodutoras; vivem em colônias permanentes, se desenvolvem por holometabolia e apresentam uma complexa organização social (WILSON, 1971; WILSON; HÖLLDOBLER, 2005; SOUZA et al., 2011). Uma colônia de formiga-cortadeira é constituída pela rainha e operárias polimórficas especializadas em diferentes funções na colônia. Machos e fêmeas alados são produzidos no período reprodutivo (WILSON, 1980a; DELLA LUCIA; GANDRA; GUEDES 2014) sendo que a organização dessas operárias está relacionada às diferenças morfológicas de cada indivíduo (SOUZA et al., 2011; DELLA LUCIA; GANDRA; GUEDES 2014).

A espécie *Atta sexdens* Forel, 1908 (Formicidae: Myrmicinae: Attini) é popularmente conhecida como “saúva-limão”, está distribuída pelos estados brasileiros incluindo Minas Gerais, Espírito Santo, São Paulo, Paraná, Rio de Janeiro, Mato Grosso e Goiás (ANJOS et al., 1998; BRANDÃO et al., 2011; DELLA LUCIA; GANDRA; GUEDES 2014).

Caracteriza-se como uma praga de importância econômica para reflorestamento de *Eucalyptus* sp. devido a severidade do desfolhamento que podem causar aos plantios. (MARICONI, 1970).

A sobrevivência dessa espécie, assim como a das demais cortadeiras, relaciona-se ao êxito no cultivo do fungo simbiote *Leucoagaricus gongylophorus* (PAGNOCCA et al., 2011; MENDONÇA et al., 2021), que lhe serve como principal fonte alimentar durante anos de coevolução, sendo necessário o corte de partes frescas de plantas para serem incorporadas como substrato no seu jardim de fungo (DELLA LUCIA; VILELA, 1993; GARCIA et al., 2003; DELLA LUCIA; GANDRA; GUEDES 2014). Devido ao hábito alimentar desses insetos, as formigas-cortadeiras são consideradas herbívoros dominantes, pragas agrícolas e florestais (FOLGARAIT et al., 2011; DELLA LUCIA; GANDRA; GUEDES 2014;

GANDRA et al., 2016), pois utilizam grandes quantidades de folhas e flores para manutenção do fungo simbiote (DELLA LUCIA; GANDRA; GUEDES 2014; MUELLER et al., 2018).

A exploração do material vegetal pelas formigas-cortadeiras envolve as atividades de corte e transporte desse material até o ninho, processo conhecido como forrageamento (RIBEIRO; MARINHO, 2011). As formigas utilizam grande variedade de plantas como substrato para o fungo simbiote, por isso são consideradas insetos polípagos (RIBEIRO; MARINHO, 2011).

Haja vista sua importância econômica e por ser considerada praga severa devido aos danos como desfolhamento causados em diversas culturas, faz-se necessário o controle constante das formigas-cortadeiras (ANJOS et al., 1998; BRANDÃO et al., 2011; DELLA LUCIA; GANDRA; GUEDES 2014). Têm-se buscado o avanço de novos formicidas com a condução de vários estudos com objetivo de controlar esses insetos, reduzindo assim as perdas causadas por sua atividade forrageira (NAGAMOTO et al., 2007).

Atualmente, as principais táticas de controle de formigas-cortadeiras envolvem o uso de iscas granuladas, a termonebulização e o uso de pós-secos (DELLA LUCIA; GANDRA; GUEDES 2014). O controle químico é o único que possui tecnologia de utilização na prática, onde a principal estratégia é a aplicação de iscas tóxicas (DELLA LUCIA; GANDRA; GUEDES 2014). As iscas precisam ter uma concentração de princípio ativo que não ocasiona uma rápida mortalidade das operárias, de modo que elas consigam retornar ao ninho e dispersar esse ativo na colônia (NYAMUKONDIWA; ADDISON, 2011; DELLA LUCIA; GANDRA; GUEDES 2014).

A sulfluramida é um dos principais ingredientes ativos utilizado nas iscas, apesar de eficiente, é uma fonte do ácido perfluoro-octanossulfônico (PDFOS), poluente orgânico persistente no ambiente (NAGAMOTO et al., 2004; BRITTO et al., 2016). A eminente eliminação desse ingrediente ativo do mercado tem impulsionado a busca por novos princípios ativos alternativos que possam ser desenvolvidos atuando no controle de formigas-cortadeiras (BRITTO et al., 2016).

Nesse contexto, a isca Atexzo, que possui como ingrediente ativo o plinazolin, foi estudada como uma alternativa potencial no controle de formigas-cortadeiras, pois tem mostrado alta eficiência em estudos de campo. Porém, o modo como esse ingrediente ativo suprime a colônia de formigas-cortadeiras, incluindo como é dispersado no ninho, bem como seus possíveis efeitos comportamentais, ainda não são conhecidos.

O ingrediente ativo na formulação de iscas deve apresentar características nos quesitos de eficácia, desde que seja letal em baixas concentrações, seja atrativo e de fácil dispersão nas colônias (FORTI et al., 1993). A maioria dos estudos sobre inseticida no controle de formigas-cortadeiras estão direcionados para o tempo que o inseticida leva para interromper os danos causados na colônia ou nos indivíduos. Portanto, entender como o ingrediente ativo vai ser disperso dentro do ninho, como nas diferentes castas e os possíveis efeitos que pode afetar a vida da colônia, continuam pouco conhecidos. Desta forma, entender esses mecanismos possibilitam otimizar o uso desta ferramenta de controle e nortear o desenvolvimento de alternativas futuras que busquem este objetivo.

Assim, hipotetizamos que a isca de plinazolin deve afetar o forrageamento de operárias forrageadoras, pois acredita-se que a mesma precisa ser atrativa para ser carregada para dentro da colônia e subsequentemente afetar jardineiras e/ou rainha de forma que a sobrevivência de toda colônia seja comprometida, à semelhança do que foi observado com outras iscas formicidas (ANTUNES et al., 2000, 2005; GANDRA et al., 2016). Desta forma, com a morte das diferentes castas, a colônia sofre impacto devido à falta de cuidados de higiene e alimentação, e conseqüentemente, ocasiona a redução do corte de folhas, bem como a massa de lixo produzida pelas operárias.

2. OBJETIVOS

Objetivo geral

Elucidar como a isca à base de plinazolin atua em colônias de saúva-limão *Atta sexdens* seus possíveis efeitos relevantes nas diferentes castas, desde efeitos letais a subletais. Além disso, avaliar a sobrevivência das operárias com dieta semi-sólida, contendo o ingrediente ativo.

Objetivos específicos

Avaliar os efeitos das iscas: nas colônias, nas castas e nos indivíduos.

Colônias: avaliar os efeitos da isca no consumo foliar, massa de lixo produzida, volume de jardim de fungo e sobrevivência das colônias em comparação com iscas à base de sulfloramida, antes e após o oferecimento da isca.

Castas: quantificar a sobrevivência com dieta semi-sólida e avaliar as interações discriminando-se entre as castas através da medição do tamanho da cápsula cefálica, após o oferecimento das iscas.

Indivíduos: avaliar os efeitos da isca nos indivíduos, através de bioensaios de contato e avaliar a sobrevivência das operárias após o oferecimento da isca.

3. MATERIAIS E MÉTODOS

3.1. Formulação de iscas

A isca contendo plinazolin (Atexzo; 3 g/Kg ou 0,3 %; Isca granulada: RB; Syngenta Proteção de Cultivos LTDA; Paulínia, SP, Brasil), foi cedida pelo fabricante. Essa isca foi comparada aos efeitos da isca comercial contendo sulfluramida (Mirex-S; 2 g/Kg ou 0,2 %; Isca granulada: GB; Atta Kill Indústria e Comércio de Defensivos Agrícolas LTDA; Araraquara, SP, Brasil), adquirida no mercado.

A isca artesanal utilizada como controle foi confeccionada nas dimensões das iscas comerciais mais utilizadas, contendo os seguintes ingredientes: pó de polpa cítrica de laranja, óleo vegetal, e água destilada, na proporção de 10:3:3 (AMARAL et al., 2018). A água e óleo vegetal foram utilizados para dar consistência ao grânulo da isca, permitindo o transporte pelas formigas, e o pó de polpa cítrica de laranja funcionou como atrativo. Após a mistura de todos os ingredientes, os grânulos foram secos em estufa a 45°C por 24h e cortados nas dimensões de 2 mm de diâmetro e 5 mm de comprimento (LIMA et al., 2003).

3.2. Manutenção das colônias em laboratório

Os experimentos foram realizados com colônias de saúva-limão *Atta sexdens* Forel, 1908, com aproximadamente um litro de jardim de fungo coletadas no município de Viçosa-MG, em torno de um ano de fundação, tendo consumos foliares semelhantes. As colônias foram mantidas no Laboratório de Formigas-cortadeiras (Insetário/DDE) situado na Universidade Federal de Viçosa - UFV, onde foram mantidas em condições controladas de temperatura a 25±5 °C, 75±5% UR e 12 horas de fotoperíodo, e alimentadas com folhas de *Acalypha wilkesiana* Müll. Arg., trocadas diariamente, além de um suprimento de água (DELLA LUCIA et al., 1993).

3.3. Ação das iscas nas colônias

3.3.1. Consumo foliar

Para obtenção do consumo foliar, as colônias foram separadas em três tratamentos: controle (sem ingrediente ativo), plinazolin, e sulfluramida. As colônias foram acondicionadas em potes plásticos de 1L e colocadas em bandejas de área de 30cm x 30cm. A quantidade de isca oferecida durante o experimento foi definida baseando-se na recomendação de uso de 0,5g

de isca (com ou sem inseticida) para colônia de aproximadamente 1L de volume de jardim de fungo, seguindo o protocolo da Instrução Normativa nº 42 do MAPA (Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento) para formigas-cortadeiras.

Antes do oferecimento das iscas, foram fornecidos a cada colônia dez gramas de folhas de *A. wilkesiana* que serviram de substrato para o desenvolvimento do fungo simbiote. A massa consumida foi avaliada durante sete dias. A cada 72h foram quantificadas sobras das folhas, eliminando-se os valores naturais de perda d'água. Ao final dessa primeira avaliação, as colônias foram mantidas em jejum por 24h. Posteriormente, foram ofertados 0,5g de iscas para cada colônia, sendo utilizadas cinco colônias por tratamento. O grupo controle recebeu iscas sem o ingrediente ativo, enquanto os demais receberam 0,5g da isca à base de plinazolin, ou 0,5g da isca à base de sulfluramida.

Após 24 horas, todas as colônias, tratadas e não tratadas com iscas, foram mantidas com folhas de *A. wilkesiana* para o corte. Foram oferecidas dez gramas de folhas por dia para avaliar as possíveis diferenças na quantidade de folhas cortadas, nas colônias tratadas, bem como comparar esse parâmetro com o apresentado por isca comercial à base de sulfluramida.

Continuou-se com a mesma avaliação de consumo foliar a cada 72h, durante 20 dias após o oferecimento da isca; o cálculo do consumo foliar final foi feito através da fórmula adaptada de Antunes e Della Lucia (1999).

3.3.2. Remoção da massa de lixo

Durante o ensaio de avaliação do consumo foliar (Item 3.3.1), avaliou-se também a ação da isca contendo plinazolin na remoção da massa de lixo pelas operárias em comparação com a isca contendo sulfluramida. Ao longo dos dias, foram quantificadas a massa de lixo produzida pelas colônias do interior do jardim de fungo antes e após o oferecimento das iscas nas colônias. O lixo produzido pelas colônias foi pesado a partir de 24h após o oferecimento das iscas e, posteriormente, a cada 72h até o término das avaliações.

3.3.3. Sobrevivência das colônias

Subsequentemente aos ensaios de consumo foliar e remoção da massa de lixo, as colônias foram avaliadas diariamente acerca dos efeitos do tratamento em relação a massa e volume do jardim de fungo e sobrevivência das colônias. Vale salientar que algumas colônias permanecem com algumas operárias viáveis mesmo depois da morte da rainha. Contudo,

como a rainha é o único indivíduo capaz de se reproduzir na colônia, após sua morte, considera-se a morte da colônia (DELLA LUCIA et al., 2003).

3.3.4. Sobrevivência dos indivíduos

Com o objetivo de acompanhar a sobrevivência dos indivíduos mediante a presença das iscas formicidas, após pesagem e quantificação da massa de lixo produzida pelas colônias, o número de formigas mortas presentes no lixo foi recolhido e quantificado a cada 72h, durante os dez dias anteriores ao oferecimento das iscas e nos 20 dias posteriores ao oferecimento das iscas.

3.4. Ação das iscas nas castas

3.4.1. Sobrevivência

Para avaliar a sobrevivência das castas quando supridas com diferentes tipos de dietas, foram coletadas 240 forrageadoras com cápsulas cefálicas ≥ 2 mm na área de forrageamento e 240 jardineiras com cápsulas cefálicas ≤ 2 mm dentro da colônia, ambas coletadas de quatro colônias adultas. Foi ofertada dieta semi-sólida composta pela isca granulada macerada em água destilada + sacarose, seguindo o protocolo da Instrução Normativa nº 42 do MAPA (Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento) para formigas-cortadeiras.

Logo após, foram separadas 12 placas de Petri; no interior de cada placa foi introduzida uma tampa plástica no qual foram colocados duas gramas de dieta para cada tratamento. Foram preparados três tratamentos com quatro repetições: controle (sem ingrediente ativo), plinazolin, e sulfluramida. Em cada tratamento foram colocadas 80 operárias, sendo 20 em cada placa para cada repetição, totalizando 240 formigas.

Após 24 horas do oferecimento da dieta, foram retiradas as sobras e quantificadas as formigas mortas e oferecida dieta líquida contendo os seguintes ingredientes: água + sacarose (1:1). A mortalidade das castas foi avaliada diariamente para a troca de alimento e contagem dos indivíduos mortos; a sobrevivência foi quantificada até a morte das operárias tratadas, totalizando aproximadamente quatro dias de sobrevivência, para ambas as castas; os tempos letais medianos foram calculados pela análise de sobrevivência. Em seguida, utilizou-se o mesmo protocolo experimental com a finalidade de avaliar o efeito das dietas na casta jardineira.

3.4.2. Interações

Com a finalidade de avaliar as interações entre as castas e as vias de dispersão do princípio ativo no ninho, o comportamento das formigas foi avaliado após seis horas de exposição as iscas, sendo ofertada 0,2 gramas de isca na exposição. As formigas foram filmadas nas arenas (placa de Petri, 30 cm de diâmetro, 1 cm de altura) por cinco min com auxílio de uma câmera de vídeo digital (Sony HDR-CX405) a 30 frames por segundo (fps) e alta definição (1920 × 1080 pixels). As gravações foram realizadas em uma sala a 25 ± 3 °C e $70 \pm 5\%$ de umidade relativa com duas lâmpadas de led (15 watts) colocadas 30 cm acima das arenas. Um grupo de nove indivíduos (três forrageadoras tratadas, três forrageadoras não tratadas e três jardineiras) da mesma colônia foi filmado em cada arena. Foi registrado o comportamento de formigas provenientes de cinco colônias e para cada colônia foi registrado o comportamento de cinco grupos de nove formigas.

Segundo Wilson (1980a), o critério para distinguir morfologicamente as castas, foi de acordo com a maior largura da cabeça em face ventral e em ângulo reto com o eixo longitudinal da cabeça dos indivíduos. As operárias forrageadoras possuem cápsula cefálica no intervalo de 2,0 a 2,2mm; as jardineiras cerca de 1,4mm; as mínimas de 0,8 a 1,0mm;

3.4.2.1. Análises dos vídeos

Os procedimentos para análise dos vídeos foram baseados em processamento de imagem e inteligência artificial para rastrear os indivíduos mantendo suas identidades com alta acurácia. Inicialmente, métodos de processamento de imagem foram aplicados para pré-processar os vídeos. Como os vídeos foram registrados a 30 frames por segundo (fps) e o movimento dos indivíduos entre frames é muito pequeno, amostrou-se frames dos vídeos a cada 0.1 segundos. Após isso, suavização pelo filtro da mediana foi aplicada nos frames para eliminar ruídos e os vídeos foram salvos a 60 frames por segundo (fps). Esses procedimentos aumentaram a eficiência das análises posteriores, pois os vídeos ficaram menores e com menos ruídos. Esse pré-processamento foi realizado usando a biblioteca OpenCV em python 3.7. Para rastrear os indivíduos, foi utilizado o programa idtracker.ai (ROMERO- FERRERO et al., 2019) o qual utiliza modelos de inteligência artificial (redes neurais convolucionais) para estabelecer a identidade dos indivíduos durante o rastreamento. Dessa forma, foi possível obter a trajetória dos indivíduos com suas identidades e a acurácia da rotulagem das identidades (i.e., porcentagem de frames em que as identidades foram rotuladas corretamente). Dentre os cinco

vídeos registados para cada colônia, foi selecionado um vídeo com maior acurácia para as etapas posteriores. Assim, foram analisados vídeos com acurácia > 91%, para garantir a eficiência do processo.

Com os dados das trajetórias individuais, foi utilizado o algoritmo do programa Ethoflow (BERNARDES et al., 2021) para computar variáveis comportamentais associadas com a interação e proximidade entre os indivíduos. A interação entre os indivíduos foi considerada como o número de vezes que cada par de indivíduo se aproximou a uma distância menor que a mediana das diagonais do corpo dos indivíduos em cada vídeo, acrescida de mais 50% (considerando a variação de tamanho entre os indivíduos). Além disso, estimamos variáveis relacionadas a proximidade dos indivíduos. Foi estimado a média, mediana, o mínimo e os percentis 10, 2, 1 e 0.5% das distâncias entre cada par de indivíduos na arena ao longo do tempo. Todos os procedimentos de análise dos vídeos foram realizados em um computador com GNU/Linux Ubuntu 18.04 LTS de 64 bits (Intel i7-9750H CPU 2.60 GHz × 12; 20 GB RAM; GPU NVIDIA® GeForce® GTX 1660 Ti Max-Q).

3.3. Análises estatísticas

O consumo foliar e a massa de lixo produzida pelas colônias, antes e após o oferecimento das iscas, foi analisado por meio de modelos lineares generalizados (GLM), considerando as iscas inseticidas e os dias após a exposição como variáveis explicativas. Em seguida, a normalidade e homoscedasticidade dos resíduos dos modelos foram verificadas usando o pacote “*performance*”. Quando necessária a sobredispersão dos modelos foi ajustada e a significância dos tratamentos comparadas por contraste ($P < 0.05$), usando os pacotes “*stats*” e “*emmeans*” no software R [versão 4.2.2] com a interface do RStudio [versão 2021.07.0] (R Core Team 2021; RStudio Team, 2021).

As curvas de sobrevivência de *Atta sexdens* expostas as iscas ao longo do tempo foram submetidas a análise de sobrevivência usando estimadores de Kaplan–Meier e as curvas de sobrevivência foram comparadas usando o método de Log-Rank ($P < 0,05$) através do software Sigma Plot [versão 12.5] (Sigma Plot 12.5, Systat Software Inc, 2021).

Os dados comportamentais foram submetidos à análise de coordenadas principais (PCoA) com base na matriz de dissimilaridade de Mahalanobis (adequada para variáveis mensuradas em diferentes escalas), e uma análise de variância multivariada permutacional (PERMANOVA) com 10.000 permutações foi realizada para testar diferença significativa entre as castas e os tratamentos com agroquímicos; também foi avaliada interação estatística

entre essas variáveis explicativas (casta e tratamento). Contrastes pareados entre níveis de castas e tratamentos foram realizados com ajuste de Holm. Um teste de homogeneidade da dispersão multivariada (PERMDISP) foi utilizado para verificar a suposição da homogeneidade da PERMANOVA (ANDERSON, 2014). Essas análises foram realizadas no software R (R Core Team, 2021).

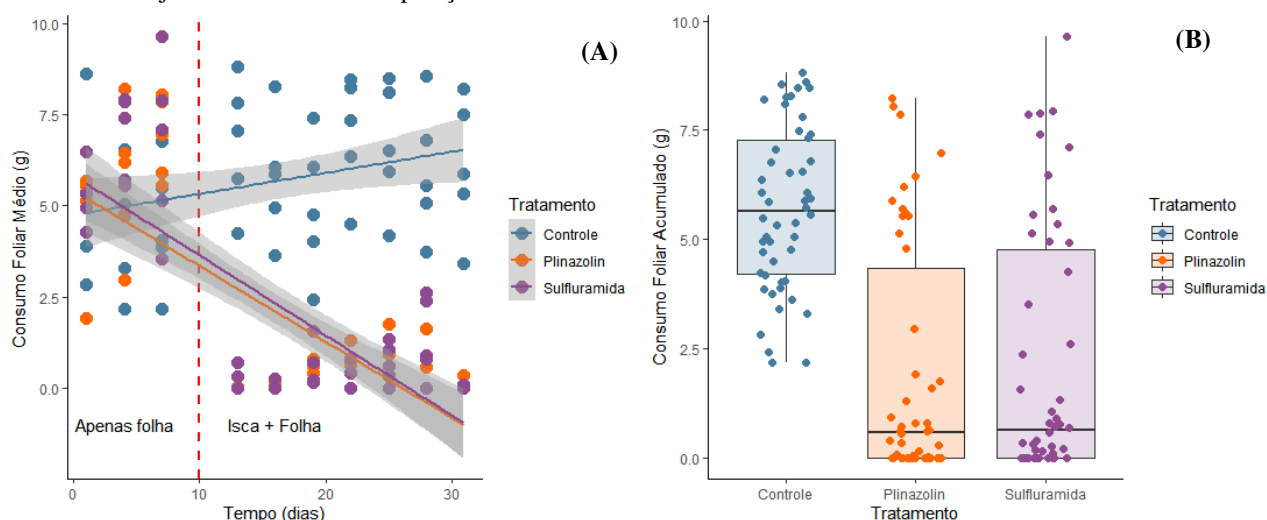
4. RESULTADOS

4.1. Ação das iscas nas colônias

4.1.1. Consumo foliar

O consumo foliar foi semelhante entre as colônias nos três dias que antecederam a exposição às iscas ($F_{1,43} = 2,1512$; $P=0.149$). No entanto, após a oferta das iscas (i.e., dia 10) houve uma variação significativa no consumo foliar ao longo dos dias ($F_{1,148} = 43,421$; $P<0,001$) (Figura 1A). Além disso, observou-se que essa variação foi dependente do tipo de isca a qual as colônias foram expostas ($F_{2,146} = 44,156$; $P<0,001$) (Figura 1A), sendo o consumo foliar menor nas colônias expostas às iscas inseticidas (i.e., plinazolin e sulfluramida), quando comparada àquelas colônias submetidas a isca sem inseticida (i.e., controle) (Figura 1B).

Figura 1. Consumo foliar médio em função do tempo de exposição as iscas (A) e comparativos do consumo foliar das colônias tratadas e não tratadas (B), ambos para as colônias de formigas saúva-limão *Atta sexdens*. A linha vermelha tracejada indica o dia de exposição das iscas às colônias. *** $P < 0.001$.

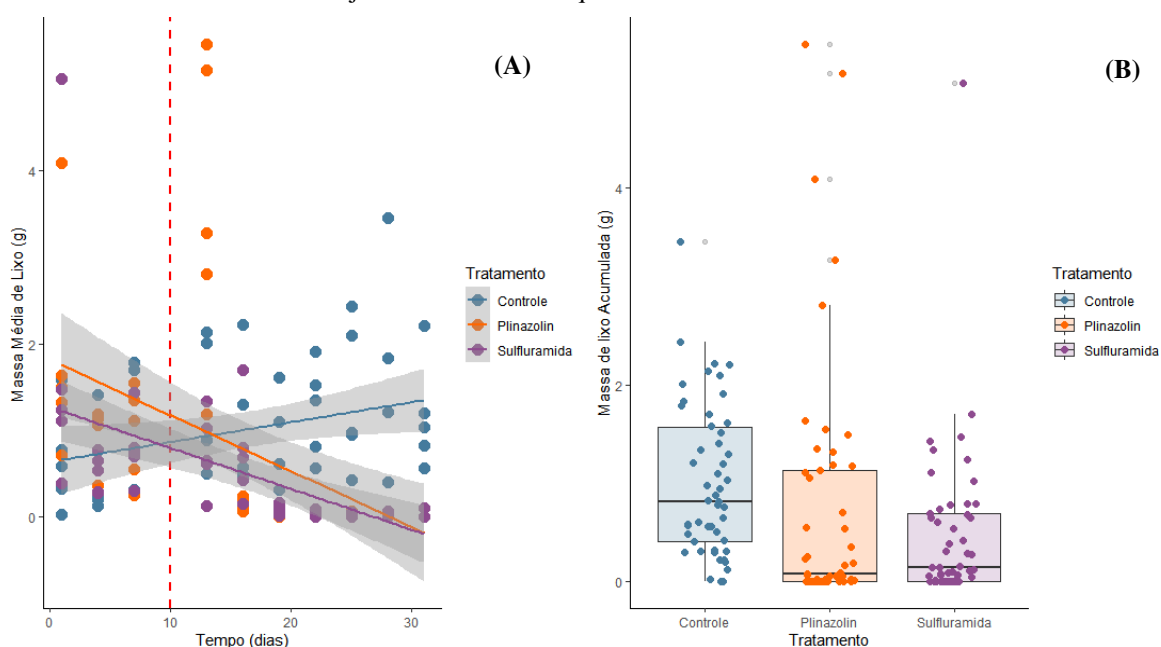


4.1.2. Remoção da massa de lixo

A remoção massa de lixo produzida pelas operárias foi semelhante entre as colônias nos três dias que antecederam a exposição às iscas ($F_{1,43} = 2,9664$; $P = 0.0922$). No entanto, após a oferta das iscas (i.e., dia 10) houve uma variação significativa na massa de lixo gerada ao longo dos dias ($F_{1,148} = 13,9027$; $P < 0,001$) (Figura 2A). Além disso, observou-se que essa variação foi dependente do tipo de isca a qual as colônias foram expostas ($F_{2,146} = 3,9092$; $P = 0,022$) (Figura 2A), sendo a massa de lixo gerada pelas operárias menor nas colônias expostas às iscas

inseticidas (i.e., plinazolin e sulfluramida), quando comparada ao controle (Figura 2B). Foi também observado que a massa de lixo continha operárias de todas as castas, e as jardineiras compunham a maior parcela da massa. No entanto, foi inviável a separação dessa casta das demais.

Figura 2. Massa média de lixo produzida em função do tempo de exposição as iscas (A) e comparativos da massa de lixo produzida pelas colônias tratadas e não tratadas (B), ambos para as colônias de formigas saúva-limão *Atta sexdens*. A linha vermelha tracejada indica o dia em que foram ofertadas iscas às colônias. *** P < 0.001.



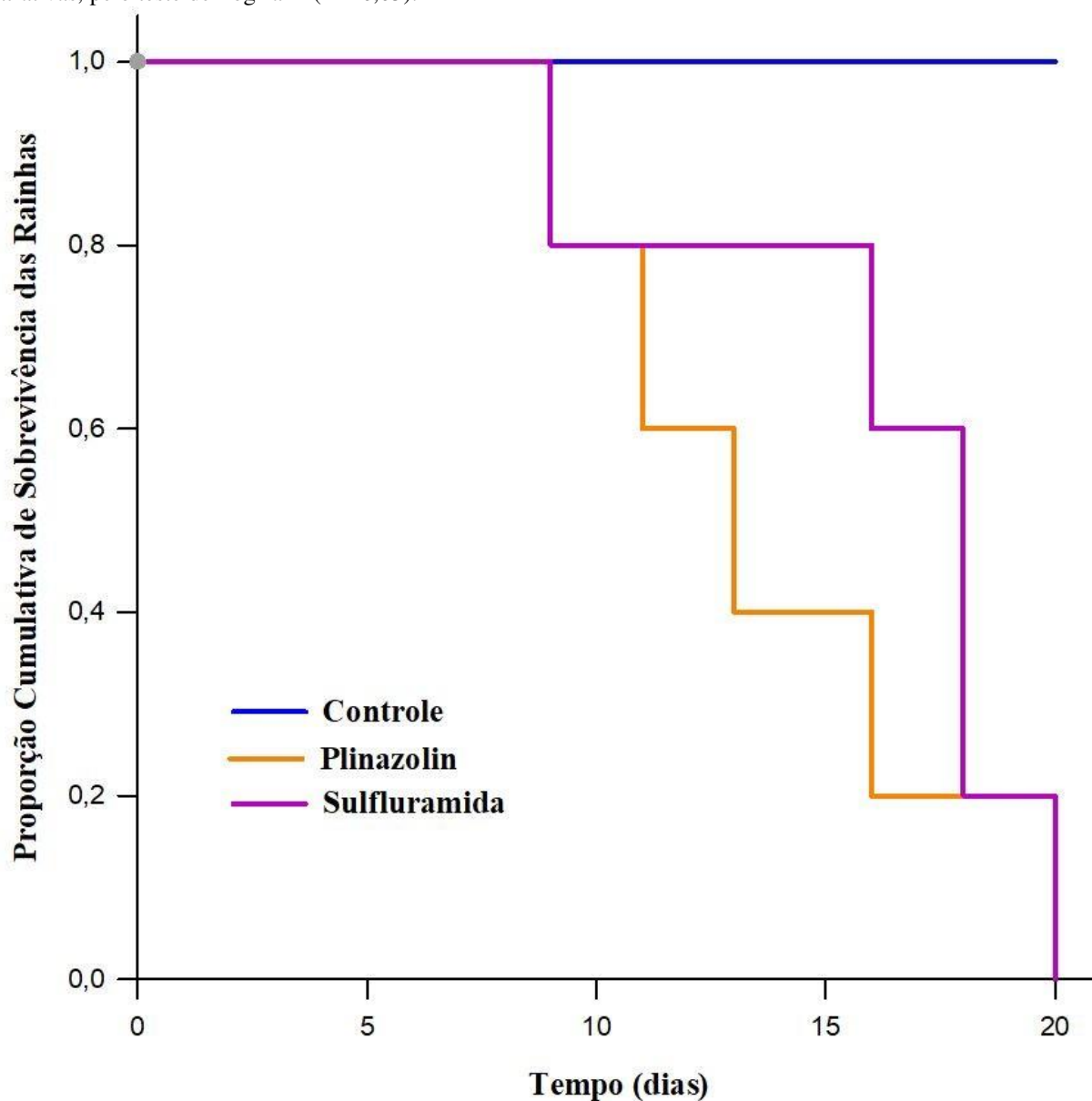
4.1.3. Sobrevivência das colônias

A sobrevivência das colônias reduziu significativamente em função do tipo de isca utilizado (Log-Rank: $\chi^2 = 12,19$; gl= 2; $P = 0,002$). Não houve diferença na sobrevivência das colônias expostas ao plinazolin ($TL_{50} = 13,00 \pm 2,19$ dias) e sulfluramida ($TL_{50} = 18,0 \pm 0,89$ dias) (Figura 3). No entanto, a sobrevivência destas colônias diferiu daquelas expostas as iscas não tratadas (i.e., controle) que sobreviveram até o fim do experimento (i.e., 20 dias após a exposição).

A redução do jardim de fungo iniciou-se a partir de 12 horas após o oferecimento das iscas tóxicas, porém ficou inviável quantificar a massa e volume, uma vez que o jardim estava tomado pelo fungo antagonista *Escovopsis* sp. Depois de quatro dias foi possível observar nas colônias (i.e., plinazolin e sulfluramida), contaminação pelo fungo *Escovopsis* sp.; e com aproximadamente 15 dias a presença de forídeos, e formação de cogumelos deixando a colônia

escurecida. Em algumas colônias, houve completa mortalidade dos indivíduos adultos do jardim de fungo, tendo a rainha sido o último indivíduo a morrer.

Figura 3. Curvas de sobrevivência das rainhas de formigas saúva-limão *Atta sexdens* expostas as diferentes iscas atrativas, pelo teste de Log-rank ($P > 0,05$).



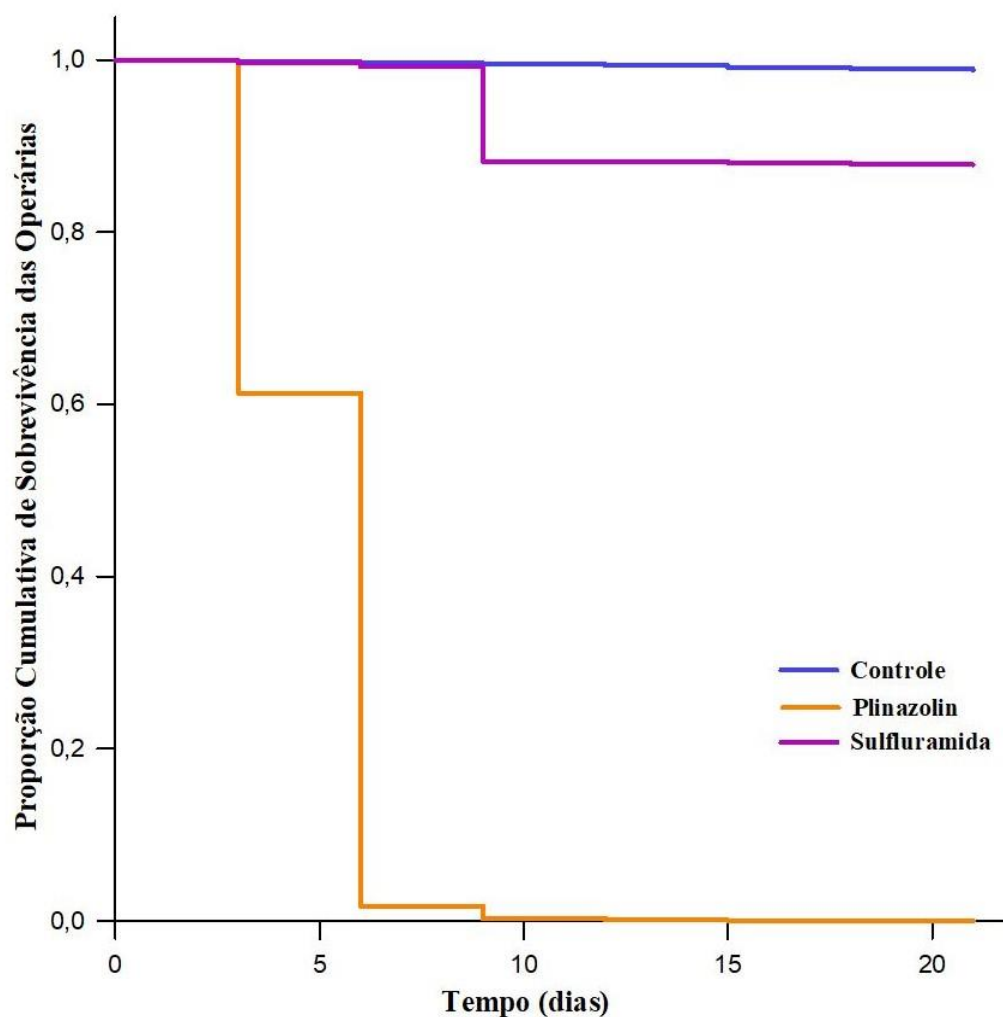
4.1.4. Sobrevivência dos indivíduos

A sobrevivência das operárias reduziu significativamente em função do tipo de isca utilizado (Log-Rank: $\chi^2 = 32257,2$; gl = 2; $P < 0,001$) e todos os tratamentos diferiram entre si. Em geral, operárias expostas as iscas não tratadas (i.e., controle) sobreviveram até o fim do experimento (i.e., 20 dias após a exposição). Já as operárias expostas ao plinazolin ($TL_{50} = 4,90$

$\pm 0,016$ dias) e sulfluramida ($TL_{50} = 19,55 \pm 0,04$ dias) tiveram a sobrevivência reduzida (Figura 4).

A mortalidade das operárias expostas a sulfluramida ocorreu mais lentamente. Em todas as colônias houve carregamento e incorporação das iscas ao jardim de fungo, porém as iscas contendo plinazolin mostraram uma velocidade de transporte maior comparada à sulfluramida. Foi possível observar devolução das iscas contendo sulfluramida, ao contrário do plinazolin que não ocorreu essa devolução.

Figura 4. Curvas de sobrevivência das operárias de saúva-limão *Atta sexdens* expostas as diferentes iscas atrativas, pelo teste de Log-rank ($P > 0,05$).

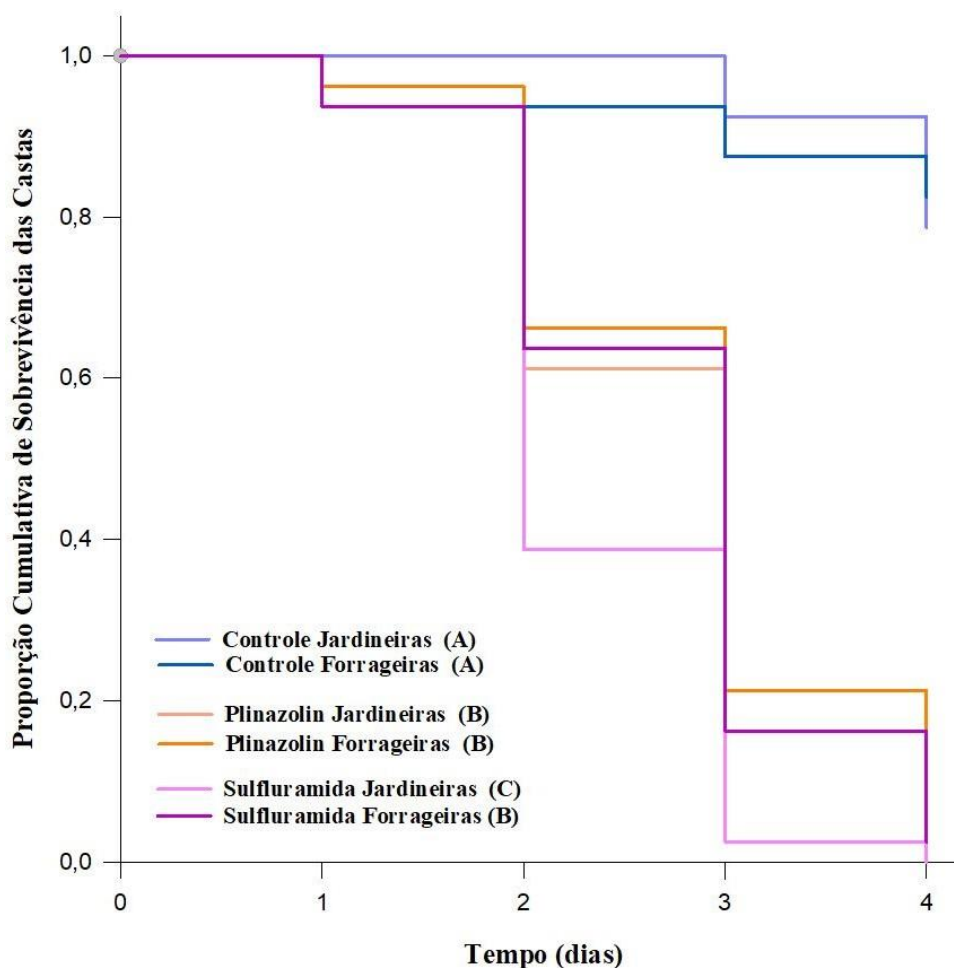


4.2. Ação das iscas nas castas

4.2.1. Sobrevivência

A sobrevivência das castas reduziu significativamente em função do tempo de exposição as iscas ($\chi^2 = 320,08$; $gl = 5$; $p < 0,001$). As forrageadoras ($TL_{50} = 3,77 \pm 0,07$ dias) e jardineiras ($TL_{50} = 3,925 \pm 0,03$ dias) expostas as iscas não tratadas (controle), não diferiram entre si ($P = 0,899$) e exibiram maior tempo de sobrevivência em comparação aos demais tratamentos. De forma similar, as forrageadoras ($TL_{50} = 2,84 \pm 0,09$ dias) e jardineiras ($TL_{50} = 2,78 \pm 0,09$ dias) expostas a plinazolin não diferiram entre si ($P = 0,649$), no entanto apresentaram um menor tempo de sobrevivência em comparação ao controle. Por outro lado, as forrageadoras ($TL_{50} = 2,73 \pm 0,09$ dias) e jardineiras ($TL_{50} = 2,35 \pm 0,07$ dias) expostas a sulfluramida diferiram entre si ($P = 0,0014$), e exibiram o menor tempo de sobrevivência em relação aos demais tratamentos (Figura 5).

Figura 5. Curvas de sobrevivência das castas de saúva-limão *Atta sexdens* expostas as diferentes iscas atrativas. Tratamentos e castas seguidos da mesma letra maiúscula não diferem entre si pelo teste de Log-rank ($P > 0,05$).



4.1.1. Interações

A análise dos vídeos apresentou alta acurácia (mediana = 96.3) na rotulagem da identidade dos indivíduos, indicando a adequabilidade da análise. Houve diferença significativa entre as castas (PERMANOVA: $F_{2,37}= 1.8$, $P= 0.014$) (Tabela 1, Figura 6A e B) e entre os tratamentos (PERMANOVA: $F_{2,37}= 1.6$, $P= 0.041$) (Tabela 1, Figura 6A e B). Não houve interação estatística entre as variáveis explicativas casta e tratamento (PERMANOVA: $F_{4,33}=0.70$, $P= 0.92$), porém o plinazolin em relação ao controle apresentou significância a 5% de probabilidade. Os grupos formados se diferenciaram principalmente em relação a ordenação do eixo 2 (PCoA2) da PCoA, o qual apresentou correlação negativa com a maioria das variáveis associadas a distância entre os indivíduos e positiva com número de interações (Figura 6C). Dessa forma, os indivíduos dos grupos forrageadoras não tratadas e forrageadoras tratadas do tratamento com plinazolin foram os que permaneceram mais próximos e mais interagiram.

Tabela 1: Contrastes entre os tipos de interações entre castas e os tratamentos na análise de variância multivariada permutacional (PERMANOVA) a partir dos dados comportamentais de saúva-limão *Atta sexdens* das castas forrageira tratada (FT), forrageira não tratada (FNT) e Jardineira não tratada (J) submetidas aos tratamentos controle, plinazolin e sulfluramida.

Contraste	F.Mod el	p.value
FNT - FT vs FNT - J	2.01	0.022
FNT - FT vs FT - J	1.87	0.035
FNT - J vs FT - J	0.45	0.930
Controle vs Plinazolin	1.74	0.049
Controle vs Sulfluramida	1.36	0.199

Figura 6. Comportamento das formigas saúva-limão (*Atta sexdens*) das castas forrageira tratada (FT), forrageira não tratada (FNT) e Jardineira não tratada (J) submetidas aos tratamentos controle, plinazolin e sulfluramida. (A) Representação das redes de interação entre as castas submetidas aos tratamentos controle, Plinazolin e Sulfluramida. Os símbolos (quadrado, círculo e triângulo) são os nós da rede e representam os indivíduos das diferentes castas. As conexões entre os nós são as arestas nas quais a espessura representa a proporção de interações entre os indivíduos. (B) ordenação da análise de coordenadas principais (PCoA) da matriz de dissimilaridade de Mahalanobis entre as castas (painel da esquerda) e os tratamentos (painel da direita). As diferenças entre castas e tratamentos foram comparadas por análise de variância multivariada permutacional (PERMANOVA). Cada ponto representa uma amostra ($n = 42$), e os segmentos unem pontos ao centroide de cada grupo. (C) Diagrama de correlações entre as variáveis comportamentais mensuradas e as duas dimensões (PCoA1 e PCoA2) da PCoA.

5. DISCUSSÃO

Neste estudo, a isca contendo plinazolin causou efeitos letais às colônias de saúva-limão *Atta sexdens*. Esses resultados demonstraram o potencial deste princípio ativo como promissor para o controle de saúva-limão na formulação de iscas granuladas, pois as iscas tóxicas visam matar colônias de formigas-cortadeiras, causando a paralisação do corte e posteriormente a morte da rainha e, por consequência a morte da colônia, uma vez que a rainha é o único indivíduo capaz de se reproduzir (DELLA LUCIA et al., 2003). Além dos efeitos letais, o plinazolin foi disperso de forma igualitária entre as castas causando redução no consumo foliar e na massa de lixo produzida pelas operárias. A paralisação do corte e a redução da massa de lixo ocorreram devido à alta mortalidade de operárias forrageadoras logo nos primeiros dias após exposição à isca, que são as responsáveis por essas atividades na colônia. Assim, houve mortalidade rápida das operárias forrageadoras, mas sem comprometer o carregamento da isca para dentro da colônia. Isso mostra ser um bom indício de controle desses insetos porque a paralisação rápida do corte também é uma característica importante, pois pode diminuir os danos causados as plantas.

A alta mortalidade das operárias após 24 horas do oferecimento da isca é um resultado distinto aos apresentados pela isca comercializada. Apesar do plinazolin apresentar rápida mortalidade das operárias, a isca foi carregada rapidamente mostrando sua atratividade e não houve devolução. Já a isca comercializada ocasionou mortalidade mais lenta, apresentou carregamento mais lento e ainda foi devolvida. Uma vez que a isca é atrativa e a toxicidade do composto não é identificada, ela é carregada rapidamente pelas forrageadoras e transportadas para dentro do ninho (FORTI et al., 2007). A atratividade é uma característica importante para as iscas, pois as operárias precisam carregar grande quantidade de iscas para dentro da colônia, distribuir para as companheiras de ninho, confirmando a eficiência da mesma (FORTI et al., 2003).

O ingrediente ativo foi dispersado de forma igualitária entre as castas, ao contrário do que foi apresentado na isca de sulfluramida, que quando as jardineiras foram expostas a mortalidade foi ainda mais rápida ao longo do tempo. A redução no número de operárias jardineiras de colônias tratadas compromete a vida da colônia e isso pode estar relacionado ao fato das operárias contaminadas se comunicarem por meio de comportamentos que dispersam o inseticida de forma rápida entre companheiros de ninho (GANDRA et al., 2016). A maior contaminação das jardineiras pode ocorrer durante o processamento, hidratação e manipulação da isca, que quando expostas são contaminadas pelo ingrediente ativo (FORTI et al., 2007).

A mortalidade de operárias reflete na redução da massa de lixo produzida pelas colônias, pelo fato de as colônias sofrerem ação do ingrediente ativo as operárias deixam de executar suas atividades (DELLA LUCIA et al., 2003). Quando as operárias percebem a ação do ingrediente ativo no início, elas automaticamente devolvem ou descartam as iscas no lixo (DELLA LUCIA; VILELA, 1993; RIBEIRO; MARINHO 2011). Como nesse estudo não houve aumento na remoção de lixo, é sinal de que não houve uma percepção inicial dessa ação, o que é uma boa característica do produto. Isso indica que a isca utilizada é considerada satisfatória para o controle, pois as operárias não identificaram a toxicidade do inseticida no carregamento (FORTI; ANDRADE; RAMOS, 2000; NAMAGOTO et al., 2004).

O lixo produzido pelas formigas-cortadeiras é composto de fungo exaurido, operárias mortas, larvas e pupas mortas e também por sobras do vegetal seco (LACERDA et al., 2011). As sobras de lixo da colônia são levadas pelas operárias para fora do fungo, construindo um montante de lixo onde as operárias que são conhecidas como “lixadeiras” trabalham nessa atividade (HÖLLDOBLER; WILSON, 2010; LACERDA et al., 2011).

Com relação ao experimento de interações entre as castas, os indivíduos que permanecem mais próximos e interagiram foram as forrageadoras tratadas e não tratadas. Embora não tenha apresentado diferença significativa entre os tratamentos inseticidas, o plinazolin em relação ao controle apresentou significância mostrando ter maior número de interação entre as operárias. Isso provavelmente explica o rápido carregamento das iscas, visto que ao entrarem em contato com um recurso alimentar atrativo, retornam ao ninho e recrutam as operárias estabelecendo uma trilha de feromônio para transmitir informações do vegetal (ROCES; HOLLDOBLER, 1994; RIBEIRO; MARINHO 2011).

Os tratamentos nos quais foram utilizadas as iscas tóxicas, ocasionaram redução no cuidado com a colônia ocasionando a morte das rainhas (i.e., das colônias). Uma das causas que pode ter resultado na mortalidade das rainhas pode ser a crescente mortalidade das operárias, resultando na falta de cuidado com a colônia (DELLA LUCIA et al., 2003), desestruturando a mesma e reduzindo o jardim de fungo. Isto favorece a contaminação por microrganismos e também é resultado da paralisação do corte das colônias em decorrência da ação do ingrediente ativo (FORTI; BOARETTO, 1997).

Uma vez que as formigas-cortadeiras cultivam o fungo *Leucoagaricus gongylophorus* para suprir a alimentação, fornecer nutrientes e proteção (MENDONÇA et al., 2021), esse fungo produz resíduos que devem ser eliminados de dentro da colônia, pois podem promover contaminação de patógenos e ocasionar a morte da colônia (CURRIE, 2001a; RIBEIRO; NAVAS, 2007; LACERDA et al., 2011). Provável justificativa para o aparecimento do fungo

Escovopsis sp. (BOT et al., 2001; MENDONÇA et al., 2021), um dos principais patógenos adaptado ao parasitismo de jardim de fungo que provocam redução no crescimento da colônia e no número de operárias, pupas e larvas (CURRIE et al., 1999; CURRIE, 2001a).

De forma geral, foi observado que o modo de ação do plinazolin apresentou potencial significativo para utilização no controle de saúva-limão *Atta sexdens*, uma vez que a isca apresenta atratividade o composto tóxico não é detectado, a isca é carregada rapidamente pelas operárias forrageadoras para dentro do ninho mostrando uma maior atratividade em relação as iscas comercializadas.

Além disso, o plinazolin causou rápida mortalidade das forrageadoras, mas sem comprometer o carregamento da isca e com início dessa mortalidade das operárias todas as atividades do ninho ficam comprometidas, ocasionando assim redução do consumo foliar e massa de lixo produzida. Desta forma, a rainha que depende dos trabalhos das operárias para sua alimentação e higienização, padece com a ausência desses cuidados (DELLA LUCIA et al., 2003). Os resultados demonstraram o potencial do plinazolin para o controle de saúva- limão *Atta sexdens* na formulação de isca granulada testada. Uma vez que a paralisação do corte é interrompida, os danos que esses insetos causam são reduzidos nas diversas culturas.

6. CONCLUSÕES

O efeito do plinazolin permitiu constatar que o inseticida suprime as colônias de saúvalimão *Atta sexdens* por ocasionar uma rápida e generalizada mortalidade das operárias comprometendo a colônia como um todo.

Apesar de ter ocorrido rápida mortalidade de operárias forrageadoras sob ação do plinazolin, não houve comprometimento do carregamento da isca, o que foi evidenciado pelo maior número de interações que desencadearam maior número de interações entre as operárias forrageadoras favorecendo a disseminação rápida do composto dentro do ninho.

Já a isca comercializada ocasionou mortalidade mais lenta, carregamento mais lento e ainda assim teve devolução. Do mesmo modo, a sulfluramida apresentou maior mortalidade das jardineiras logo nos primeiros dias, o que foi confirmado no teste da dieta.

Apesar de não ter ocorrido diferença na redução do consumo foliar, massa de lixo produzida pelas operárias e sobrevivência das colônias entre as duas iscas inseticidas (i.e., plinazolin e sulfluramida), a isca plinazolin se mostrou promissora para utilização no controle das formigas-cortadeiras, pois, seu modo de ação foi mais rápido nas operárias forrageadoras e ao mesmo tempo, demonstrou-se mais atrativa sendo carregada rapidamente pelas operárias, assim todos os seus efeitos culminam a morte das colônias.

REFERÊNCIAS

- ANDERSON, M. J. Permutational multivariate analysis of variance (PERMANOVA). **Wiley statsref: statistics reference online**, p. 1-15, 2014.
- ANJOS, N. DOS; DELLA LUCIA, T. M. C.; MAYHÉ-NUNES, A. J. Guia prático sobre formigas cortadeiras em reflorestamentos. **Ponte Nova: Graff Cor**, 1998.
- AMARAL, K. D. *et al.* Azadirachtin impairs egg production in *Atta sexdens* leaf-cutting ant queens. **Environmental Pollution**, v. 243, p. 809-814, dez. 2018.
- ANTUNES, E. C.; DELLA LUCIA, T. M. C. Consumo foliar em *Eucalyptus urophylla* por *Acromyrmex laticeps nigrosetosus* Forel (Hymenoptera: Formicidae). **Ciência e Agrotecnologia**, v. 23, n. 1, p. 208-211, 1999.
- ANTUNES, E. C. *et al.* Sub-lethal effects of abamectin suppressing colonies of the leaf-cutting ant *Acromyrmex subterraneus subterraneus*. **Pest Management Science: formerly Pesticide Science**, v. 56, n. 12, p. 1059-1064, 2000.
- ANTUNES, E. C.; DELLA LUCIA, T. M. C. Leaf-Cutting Ant *Acromyrmex subterraneus subterraneus* (Hymenoptera: Formicidae). **Sociobiology**, v. 45, n. 1, p. 163, 2005.
- BERNARDES, R. C. *et al.* Ethoflow: computer vision and artificial intelligence-based software for automatic behavior analysis. **Sensors**, v. 21, n. 9, p. 3237, 2021.
- BOT, A. N.M. *et al.* Waste management in leaf-cutting ants. **Ethology Ecology & Evolution**, v. 13, n. 3, p. 225-237, 2001.
- BRANDÃO, C. R. F.; MAYHÉ-NUNES, A. J.; SANHUDO, E. D. Taxonomia e filogenia das formigas-cortadeiras. In: DELLA LUCIA, T. M. C. (Ed.). **Formigas-Cortadeiras: da Bioecologia ao Manejo**. Viçosa: Editora UFV, p. 27-48, 2011.

BRASIL, FEDERATIVA; BRASÍLIA, D. F. Ministério da agricultura, pecuária e abastecimento. **Secretaria de Defesa Agropecuária. Disponível em: Acesso em**, v. 5, n. 10, p. 2016, 2016.

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**, 2016.

CURRIE, C. R. *et al.* Fungus-growing ants use antibiotic-producing bacteria to control garden parasites. **Nature**, v. 398, n. 6729, p. 701-704, 1999.

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

DELLA LUCIA, T. M. C.; VILELA, E. F. Métodos atuais de controle e perspectivas. **As formigas cortadeiras**, v. 190, 1993.

DELLA LUCIA, T. M. C. *et al.* Criação de formigas cortadeiras em laboratório. **As formigas cortadeiras. Viçosa: Folha de Viçosa**, p. 151-162, 1993.

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

DELLA LUCIA, T. M. C. *et al.* Colony behavior of *Atta sexdens rubropilosa* (Hymenoptera: Formicidae) in the absence of the queen under laboratory conditions. **Behavioural processes**, v. 64, n. 1, p. 49-55, 2003.

FOLGARAIT, P. J.; MARFETÁN, J. A.; CAFARO, M. J. Growth and conidiation response of *Escovopsis weberi* (Ascomycota: Hypocreales) against the fungal cultivar of *Acromyrmex*

lundii (Hymenoptera: Formicidae). **Environmental entomology**, v. 40, n. 2, p. 342-349, 2011.

FORTI, L. C.; BOARETTO, M. A. C. Formigas cortadeiras: biologia, ecologia, danos e controle. **Botucatu: Departamento de Defesa Fitossanitária, Universidade Estadual Paulista, 61p**, 1997.

FORTI, L. C.; ANDRADE, P.; RAMOS, V. M. Biologia e comportamento de *Atta sexdens rubropilosa* (Hymenoptera, Formicidae): implicações no seu controle. **Série Técnica IPEF**, v. 13, p. 103-114, 2000.

FORTI, L. C. *et al.* Metodologias para experimentos com iscas granuladas para formigas cortadeiras. **As formigas cortadeiras**, v. 13, p. 191-211, 1993.

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

GANDRA, L. C. *et al.* Mechanism of leaf-cutting ant colony suppression by fipronil used in attractive toxic baits. **Pest Management Science**, v. 72, n. 8, p. 1475-1481, 2016.

GARCIA, I. P. *et al.* Ecological interaction between *Atta sexdens* (Hymenoptera: Formicidae) and the vegetation of a mesophyll semideciduous forest fragment in Botucatu, SP, Brazil. **Sociobiology**, p. 265-283, 2003.

HÖLLDOBLER, B.; WILSON, E. O. **The leafcutter ants: civilization by instinct**. WW Norton & Company, 2010.

LACERDA, F. G.; DELLA LUCIA, T. M. C.; DE SOUZA, D. J. Biologia comportamental das operárias do lixo das colônias de formigas-cortadeiras. **Formigas-cortadeiras-da biologia ao manejo**, p. 226-235, 2011.

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

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

MENDONÇA, D. M. F. *et al.* Low virulence of the fungi *Escovopsis* and *Escovopsioides* to a leaf-cutting ant-fungus symbiosis. **Frontiers in Microbiology**, v. 12, 2021.

MUELLER, U. G. *et al.* Phylogenetic patterns of ant–fungus associations indicate that farming strategies, not only a superior fungal cultivar, explain the ecological success of leafcutter ants. **Molecular ecology**, v. 27, n. 10, p. 2414-2434, 2018.

NAGAMOTO, N. S. *et al.* Method for the evaluation of insecticidal activity over time in *Atta sexdens rubropilosa* workers (Hymenoptera: Formicidae). **Sociobiology**, v. 44, n. 2, p. 413-432, 2004.

NAGAMOTO, N. S.; FORTI, L. C.; RAETANO, C. G. Evaluation of the adequacy of diflubenzuron and dechlorane in toxic baits for leaf-cutting ants (Hymenoptera: Formicidae) based on formicidae activity. **Journal of Pest Science**, Heidelberg, v. 80, p. 9-13, 2007.

NYAMUKONDIWA, C.; ADDISON, P. Preference of foraging ants (Hymenoptera: Formicidae) for bait toxicants in South African vineyards. **Crop Protection**, v. 30, n. 8, p.1034-1038, 2011.

PAGNOCCA, F. C.; RODRIGUES, A.; BACCI JR, M. Microrganismos associados às formigas-cortadeiras. In: DELLA LUCIA, T. M. C. (Ed) **Formigas cortadeiras: da bioecologia ao manejo**. Editora UFV. 1ª ed. p. 262-283, 2011.

R Core Team. **A language and environment for statistical computing**. Vienna, Áustria R Foundation for Statistical Computing, , 2021. Disponível em: <https://www.r-project.org/>

RIEIRO, M. M. R.; MARINHO, C. G. S. Seleção e forrageamento em formigas-cortadeiras. In: DELLA LUCIA, T. M. C. (Ed.). **Formigas-Cortadeiras: da Bioecologia ao Manejo**. Viçosa: Editora UFV, p. 189-203, 2011.

RIBEIRO, P. L.; NAVAS, C. A. The leaf-cutting ant *Atta sexdens rubropilosa*, FOREL, 1908 prefers drier chambers for garbage disposal. **Journal of insect behavior**, v. 20, n. 1, p. 19-24, 2007.

ROCES, F.; HÖLLDOBLER, B. Leaf density and a trade-off between load-size selection and recruitment behavior in the ant *Atta cephalotes*. **Oecologia**, v. 97, n. 1, p. 1-8, 1994.

ROMERO-FERRERO, F. *et al.* Idtracker. ai: tracking all individuals in small or large collectives of unmarked animals. **Nature methods**, v. 16, n. 2, p. 179-182, 2019.

SIGMA PLOT, 12.5. **Sigma Plot 12.5** San Jose, Califórnia, USA Stat Software Inc, , 2021.

SOUZA, D. J. DE; SANTOS, J. F. L.; DELLA LUCIA, T. M. C. Organização social das formigas-cortadeiras. In: DELLA LUCIA, T. M. C. (Ed.). **Formigas-Cortadeiras: da Bioecologia ao Manejo**. Viçosa: Editora UFV, p. 126–140, 2011.

WILSON, E. O. Taxonomic Exploration: Catalog of Hymenoptera in America North of Mexico, 1979. In: KROMBEIN, et al. (Ed.). **Science**, v. 208, p. 721-722, 1980a.

WILSON, E. O. *et al.* **The insect societies**. Cambridge, Massachusetts, USA, Harvard University Press [Distributed by Oxford University Press], 1971.

WILSON, E. O.; HÖLLDOBLER, B. Erratum: Eusociality: Origin and consequences (Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America (September 20, 2005) 102, 38 (13367-13371)). **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, v. 102, n. 44, 2005.