

VALBER GEORGIO DE OLIVEIRA DUARTE

**SÍNTESE E CARACTERIZAÇÃO DE MICROESFERAS DE ALGINATO E
CAULINITA INCORPORADAS COM AGROQUÍMICOS PARA O CONTROLE
DE FORMIGAS CORTADEIRAS DO GÊNERO *Atta* spp.**

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Viçosa – *Campus* Rio Paranaíba, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação Multicêntrico em Química de Minas Gerais, para obtenção do título de *Magister Scientiae*.

RIO PARANAÍBA
MINAS GERAIS – BRASIL
2019

**Ficha catalográfica preparada pela Biblioteca da Universidade Federal
de Viçosa - Câmpus Rio Paranaíba**

T

D812s
2019

Duarte, Valber Georgio de Oliveira, 1993-

Síntese e caracterização de microesferas de alginato e caulinita incorporadas com agroquímicos para o controle de formigas cortadeiras do gênero *Atta* spp. : controle químico de *Atta* spp. / Valber Georgio de Oliveira Duarte. – Rio Paranaíba, MG, 2019.

xv, 82f. : il. (algumas color.) ; 29 cm.

Inclui apêndices.

Orientador: Jairo Tronto.

Dissertação (mestrado) - Universidade Federal de Viçosa.

Inclui bibliografia.

1. Alginato de sódio. 2. Agroquímicos. 3. Técnica de manejo. I. Universidade Federal de Viçosa. Instituto de Ciências Exatas e Tecnológicas. Mestrado em Multicêntrico em Química de Minas Gerais. II. Título.

632.3

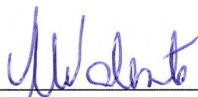

Crislene Silva de Souza
Bibliotecária/Documentalista
Crb6 2539 - Matr. 11590-8
UFV

VALBER GEORGIO DE OLIVEIRA DUARTE

**SÍNTESE E CARACTERIZAÇÃO DE MICROESFERAS DE ALGINATO E
CAULINITA INCORPORADAS COM AGROQUÍMICOS PARA O CONTROLE
DE FORMIGAS CORTADEIRAS DO GÊNERO *Atta* spp.**

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Viçosa – *Campus* Rio Paranaíba, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação Multicêntrico em Química de Minas Gerais, para obtenção do título de *Magister Scientiae*.

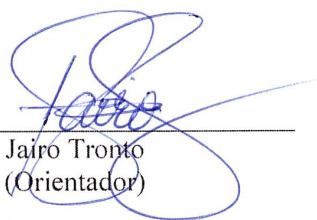
APROVADA: 18 de fevereiro de 2019.



Vânia Maria Moreira Valente



Flávio Lemes Fernandes
(Coorientador)



Jairo Tronto
(Orientador)

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



Agradeço a Deus por tudo.

Ao meu pai Alones e minha mãe Cicera, por todo o amor e apoio
incondicional
em todos os momentos de minha vida.

Ao meu irmão José Henrique, pela amizade, ajuda e
companheirismo.

Ao Prof. Dr. Jairo Tronto, meu orientador,
pela paciência e amizade durante o
desenvolvimento desta pesquisa.

AGRADECIMENTOS

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior, CAPES, pela bolsa concedida.

A Universidade Federal de Viçosa – *Campus* de Rio Paranaíba e a Rede Mineira de Química pela oportunidade concedida em realizar o mestrado.

A discente Áddila que me auxiliou em todas as etapas deste trabalho, sempre disposta a aprender.

A Dra. Danúbia por se demonstrar uma pessoa maravilhosa e me ajudar em um momento muito difícil durante a realização desta dissertação, meus sinceros agradecimentos.

Ao meu coorientador, prof. Dr. Flávio Fernandes pelos ensinamentos e auxílio durante todos os bioensaios entomológicos.

Aos técnicos de Laboratório da UFV-CRP, Jader, Vinícius e Vander, que sempre se demonstraram pró-ativos me auxiliando em diversas etapas para o desenvolvimento deste trabalho, obrigado pela amizade e companheirismo.

Aos meus amigos da Pastoral Universitária, Josiane, Flávia, Alisson, Bárbara, Alessandra que sempre me ajudaram com suas orações e incentivo para continuar acreditando no desenvolvimento desta pesquisa.

Aos amigos do Laboratório de Compostos Lamelares (LCL), Ana Luiza, Ana Rita, Camila, Gustavo, Joyce, Mariane, Milton, Roberta, Silas, Vander Luís e Victor pelo companheirismo, tornando o ambiente de trabalho mais dinâmico e alegre. Aos professores: Frederico Garcia (UFV), Alan Robledo (UFV) e Geraldo Silva (UFV) pelas contribuições valiosas.

A minha amiga Brenda Garcia pela amizade e companheirismo.

A todos contribuíram para a realização desse trabalho.

“É justo que muito custe, o que muito vale.”

(Santa Teresa D’Avila)

SUMÁRIO

LISTA DE FIGURAS	ix
LISTA DE TABELAS	xii
LISTA DE ABREVIATURAS	xiii
RESUMO	xiv
ABSTRACT	xv
1. INTRODUÇÃO	1
1.1 FORMIGAS CORTADEIRAS	3
1.2 TÉCNICAS DE MANEJO	6
1.2.1 Controle mecânico	6
1.2.2 Controle Cultural.....	6
1.2.3 Controle Biológico	7
1.2.4 Controle Químico.....	7
1.3 AGROQUÍMICOS	8
1.3.1 Sulfluramida.....	9
1.3.2 Clorpirifós	10
1.3.3 <i>Beauveria bassiana</i>	10
1.3.4 Borato de sódio	11
2. OBJETIVOS	12
3. PARTE EXPERIMENTAL	12
3.1 MATERIAIS	12
3.2 SÍNTESES DAS MICROESFERAS	13
3.2.1 Microesferas Bioensaio Eucalipto	13
3.2.2 Microesferas Bioensaio na Pastagem.....	16
3.3 MÉTODOS DE CARACTERIZAÇÃO	17
3.3.1 Difração de Raios X no Pó (DRXP)	17
3.3.2 Espectroscopia na Região do Infravermelho com Transformada de Fourier com acessório de refletância total atenuada (FTIR-ATR)	17
3.3.3 Análise termogravimétrica e térmica diferencial (TGA-DTA).....	18
3.3.4 Espectrofotometria na região do ultravioleta visível (UV-Vis)	18
3.3.5 Cromatografia líquida de alta performance (UHPLC).....	18
3.4 FORMAS DE ANÁLISE DOS RESULTADOS.....	19
3.5 ÁREAS EXPERIMENTAIS	20
3.6 BIOENSAIOS NO CAMPO	21

3.6.1 Bioensaio na plantação de eucalipto (<i>E. grandis</i>) e pastagem (<i>Gramineae</i>)	21
3.7 BIOENSAIOS EM LABORATÓRIO	24
3.8 TESTES DE LIXIVIAÇÃO	25
4. RESULTADOS E DISCUSSÃO	27
4.1 CARACTERIZAÇÕES DAS MICROESFERAS	27
4.1.1 Caracterização das microesferas utilizadas para o Bioensaio 1 - Plantação de Eucaliptos	27
4.1.2 Caracterização das microesferas utilizadas para o Bioensaio 2 - Pastagem	38
4.2 BIOENSAIOS EM LABORATÓRIO	47
4.2.1 Bioensaio 1 – Plantação de Eucaliptos (<i>E. grandis</i>)	47
4.2.2 Bioensaio 2 – Pastagem (<i>Gramineae</i>)	49
4.3 BIOENSAIOS EM CAMPO	50
4.3.1 Bioensaio 1 – Cultivos de Eucalipto (<i>E. grandis</i>)	50
4.3.2 Bioensaio 2 – Pastagem (<i>Gramineae</i>)	55
5. CONCLUSÕES	58
6. PERSPECTIVAS	60
7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	61
APÊNDICE A – MICROESFERAS SINTETIZADAS	76
APÊNDICE B – CURVAS PADRÃO	78
APÊNDICE C – PADRÕES DE DIFRATOGRAMAS	80
APÊNDICE D – SISTEMA DE LIXIVIAÇÃO	82

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Representação da estrutura do biopolímero alginato.....	3
Figura 2. Ilustração da morfologia das formigas: (a) Quenquém (<i>Acromyrmex</i>) e (b) Saúva (<i>Atta</i> spp.).	4
Figura 3. Imagens fotográficas da parte externa dos ninhos: a) Saúvas (<i>Atta</i> spp.) e b) Quenquéns (<i>Acromyrmex</i>).....	5
Figura 4. Representação da estrutura da sulfluramida.	9
Figura 5. Representação da estrutura do clorpirifós.....	10
Figura 6. Representação esquemática de síntese das microesferas controle.....	13
Figura 7. Representação esquemática de síntese das microesferas de Borato de sódio..	14
Figura 8. Representação esquemática de síntese das microesferas com solução de inseticida.	16
Figura 9. Mapa das Áreas experimentais eucaliptos da Universidade Federal Viçosa – Campus Rio Paranaíba e pasto Fazenda Donanas.	21
Figura 10. Imagem fotográfica da marcação e identificação do formigueiro.	22
Figura 11. Imagem fotográfica das microesferas controle aplicadas a uma distância aproximada de 20 cm a partir do olheiro.	24
Figura 12. Imagem fotográfica do formigueiro onde foram coletadas as formigas.....	25
Figura 13. Imagens fotográficas do bioensaio de laboratório – potes plásticos contendo as iscas formicidas.	25
Figura 14. Imagem fotográfica das Microesferas colocadas no centro do solo para estudos de lixiviação.	26
Figura 15. Imagem fotográfica do sistema de lixiviação	27
Figura 16. Difratoograma do biopolímero alginato de sódio.....	28
Figura 17. Difratoograma do argilomineral caulinita.	29
Figura 18. Difratoograma tetraborato de sódio decaidratado.....	30
Figura 19. Difratoogramas das microesferas: (a) controle (T1); (b) borato (T2); (c) <i>B. bassiana</i> (T3) e (d) sulfluramida (T4).....	31
Figura 20. Espectros FTIR-ATR dos reagentes utilizados (a) alginato de sódio; (b) caulinita; (c) borato de sódio; (d) <i>B. bassiana</i> e (e) sulfluramida.....	33
Figura 21. Espectros de FTIR-ATR das microesferas de (a) controle (T1); (b) borato de sódio (T2); (c) <i>B. bassiana</i> (T3) e (d) sulfluramida (T4).....	34

Figura 22. Curvas de análise termogravimétrica e térmica diferencial para o alginato de sódio.	35
Figura 23. Curvas de análise termogravimétrica e térmica diferencial para a caulinita.	36
Figura 24. Curvas de análise termogravimétrica e térmica diferencial para o tetraborato de sódio decaidratado.	37
Figura 25. Curvas de análise termogravimétrica e térmica diferencial para as microesferas: (a) controle (T1); (b) borato de Sódio (T2); (c) <i>B. bassiana</i> (T3) e (d) sulfluramida (T4).	38
Figura 26. Difrátogramas das microesferas: (a) controle com borato (T2); (b) 2,5 g borato e <i>B. bassiana</i> (T6); (c) 5 g borato e <i>B. bassiana</i> (T7) e (d) borato e clorpirifós (T8).	39
Figura 27. Espectros FTIR-ATR dos reagentes utilizados (a) alginato de sódio; (b) caulinita; (c) borato de sódio; (d) <i>B. bassiana</i> e (e) clorpirifós.	41
Figura 28. Espectros FTIR-ATR das microesferas: (a) controle com borato (T2); (b) 2,5 g borato e <i>B. bassiana</i> (T6); (c) 5 g borato e <i>B. bassiana</i> (T7) e (d) borato e clorpirifós (T8).	42
Figura 29. Curvas de análise termogravimétrica e térmica diferencial para as microesferas: (a) controle com borato (T2); (b) 2,5 g borato e <i>B. bassiana</i> (T6); (c) 5 g borato e <i>B. bassiana</i> (T7) e (d) borato e clorpirifós (T8).	43
Figura 30. Quantidade de Boro em solução em função do tempo em estudos de liberação “ <i>in vitro</i> ” para as microesferas: (a) controle com borato (T2); (b) 2,5 g borato e <i>B. bassiana</i> (T6); (c) 5 g borato e <i>B. bassiana</i> (T7) e (d) borato e clorpirifós (T8).	45
Figura 31. Quantidade de clorpirifós em solução (acetonitrila) em função do tempo em estudos de liberação “ <i>in vitro</i> ” para a microesfera T8.	46
Figura 32. Gráfico do estudo de lixiviação de boro em função do tempo de contato para as microesferas: (a) controle com borato (T2); (b) 2,5 g borato e <i>B. bassiana</i> (T6); (c) 5 g borato e <i>B. bassiana</i> (T7) e (d) borato e clorpirifós (T8).	47
Figura 33. Histograma do Percentual de formigas vivas ao decorrer dos dias de avaliação. Rio Paranaíba, 2018.	48
Figura 34. Percentual de formigas vivas ao decorrer dos dias de avaliação. Rio Paranaíba, 2018. Tratamentos – T0: Testemunha, T2: Micro. controle com borato, T6: Micro. 2,5 g borato e <i>B. bassiana</i> ; T7: Micro. 5 g borato e <i>B. bassiana</i> , T8: Micro. Borato e clorpirifós e T9: Mirex®.	49

Figura 35. Imagem fotográfica de formigas coletando microesferas para serem carregadas para o ninho durante o experimento com a isca sulfluramida (T4).	50
Figura 36. Histograma do Percentual de carregamento dos tratamentos utilizados no bioensaio.	54
Figura A1 Imagens fotográficas das microesferas utilizadas para o Bioensaio 1: (a) Controle (T1); (b) Borato de sódio (T2); (c) <i>B. bassiana</i> (T3) e (d) Sulfluramida (T4).....	76
Figura A2. Imagens fotográficas das microesferas utilizadas para o Bioensaio 2: (a) Controle com borato de sódio (T2); (b) 2,5 g de Borato de sódio e <i>B. bassiana</i> (T6); (c) 5 g de Borato de sódio e <i>B. bassiana</i> (T7) e (d) Borato de sódio e clorpirifós (T8).	77
Figura B1. Curva analítica padrão para determinação de boro.	78
Figura B2. Curva analítica padrão para determinação de clorpirifós em acetonitrila.	79
Figura C1. Padrão PCPDFWIN número 29-1488 para a caulinita.	80
Figura C2. Padrão PCPDFWIN número 12-0258 para o tetraborado de sódio decaidratado.	81
Figura D1. Imagem fotográfica do sistema de lixiviação completo.	82

LISTA DE TABELAS

Tabela 1: Tratamentos utilizados para o controle de <i>Atta</i> spp. Rio Paranaíba, Minas Gerais, Março a Abril de 2018.....	22
Tabela 2: Tratamentos utilizados para o controle de <i>Atta</i> spp. Rio Paranaíba, Minas Gerais, Junho a Julho de 2018.	23
Tabela 3: Distâncias interplanares das microesferas utilizadas para o ensaio biológico no campo.	31
Tabela 4: Distância interplanar das microesferas utilizadas para o ensaio biológico no pasto.	39
Tabela 5: Sobrevivência (%) de <i>Atta</i> spp. por tratamento.	48
Tabela 6: Sobrevivência (%) de <i>Atta</i> spp. (tratamento <i>versus</i> dias de avaliação).....	50
Tabela 7: Número de iscas carregadas por <i>Atta</i> spp. ao longo dos dias após a aplicação das iscas. Rio Paranaíba, Minas Gerais, Março a Abril de 2018.	51
Tabela 8: Indecisão pelas <i>Atta</i> spp. Rio Paranaíba, Minas Gerais, Março a Abril de 2018.....	52
Tabela 9: Número de iscas retiradas do ninho (recrutamento) por <i>Atta</i> spp. Rio Paranaíba, Minas Gerais, Março a Abril de 2018.	52
Tabela 10: Fluxo de <i>Atta</i> spp. por minuto. Rio Paranaíba, Minas Gerais, Março a Abril de 2018.	53
Tabela 11: Número de folhas carregadas pela <i>Atta</i> spp. por tratamento. Rio Paranaíba, Minas Gerais, Março a Abril de 2018.....	55
Tabela 12: Indecisão pelas <i>Atta</i> spp. Rio Paranaíba, Minas Gerais, Junho a Julho de 2018.....	56
Tabela 13. Número de folhas carregadas pelas <i>Atta</i> spp. Rio Paranaíba, Minas Gerais, Junho a Julho de 2018.....	57

LISTA DE ABREVIATURAS

DRXP – Difração de raios-X no pó

DTA – Análise Térmica Diferencial

FTIR-ATR – Espectroscopia na região do infravermelho com Transformada de Fourier com reflectância total acentuada

T0 – Testemunha

T1 – Microesfera Controle

T2 – Microesfera com Borato

T3 – Microesfera com *Beauveria bassiana*

T4 – Microesfera com Sulfluramida

T5 – Mirex[®] - Plantação Eucaliptos

T6 – Microesfera com 2,5 g Borato e *Beauveria bassiana*

T7 – Microesfera com 5,0 g Borato e *Beauveria bassiana*

T8 – Microesfera com Borato e Clorpirifós

T9 – Mirex[®] - Pastagem

TGA – Análise Termogravimétrica

UV-Vis Espectrofotometria na região do ultravioleta/visível

UHPLC – Cromatografia Líquida de Alta performance

RESUMO

DUARTE, Valber Georgio de Oliveira, M.Sc., Universidade Federal de Viçosa *Campus* Rio Paranaíba, fevereiro de 2019. **Síntese e caracterização de microesferas de alginato e caulinita incorporadas com agroquímicos para o controle de formigas cortadeiras do gênero *Atta* spp.** Orientador: Jairo Tronto. Coorientador: Flávio Lemes Fernandes.

As formigas cortadeiras, *Atta* spp. são pragas severas que causam prejuízos de bilhões de dólares em cultivos florestais. Atualmente, o uso de iscas granuladas e a termonebulização são os principais métodos de controle desta praga. Neste contexto, novas formulações podem ampliar as opções de controle. Assim, objetivou-se sintetizar e caracterizar iscas para o controle de *Atta* spp., a partir de materiais híbridos orgânico-inorgânicos formados pela interação entre microesferas de alginato e caulinita incorporadas com os agroquímicos: tetraborato de sódio, esporos de *Beauveria bassiana*, sulfluramida e clorpirifós. O trabalho foi conduzido no Laboratório de Compostos Lamelares (LCL), área experimental da Universidade Federal de Viçosa – *Campus* Rio Paranaíba e Fazenda Donanas. As técnicas de caracterização utilizadas: Difração de Raios X no Pó (DRXP), Espectroscopia de Infravermelho com Transformada de Fourier (FTIR-ATR) e Análise Termogravimétrica Acoplada a Análise Termica Diferencial (TGA-DTA), forneceram informações características dos materiais precursores da síntese, confirmando a presença dos mesmos após a fabricação das iscas. Os testes de liberação “*in vitro*” para as microesferas contendo boro e clorpirifós mostraram que a taxa de liberação acumulada para a solução ocorreu em um período de 1h, atingindo 100% de liberação para o boro e 86% do inseticida clorpirifós. Os testes de lixiviação de boro e clorpirifós mostraram o comportamento desses inseticidas no solo. As microesferas com tetraborato de sódio apresentaram percolação de até 100% em 15 dias. Os bioensaios em laboratório e no campo permitiram verificar a eficiência das iscas em atividade. As microesferas mais eficientes para o controle desses insetos após a atividade em campo foram as iscas que apresentavam em sua composição o princípio ativo de *Beauveria bassiana* (T3) para o bioensaio 1 (plantações de eucaliptos) e as esferas com o princípio ativo do inseticida clorpirifós (T8) para o bioensaio 2 (pastagem). Conclui-se que a síntese das microesferas contendo os agroquímicos originaram produtos inéditos na literatura que apresentam potencial formicida, sendo eficientes como técnica de manejo uma vez que apresentaram elevados percentuais de mortalidade dentro do período de dias avaliados.

ABSTRACT

DUARTE, Valber Georgio de Oliveira, M.Sc., Universidade Federal de Viçosa *Campus* Rio Paranaíba, February, 2019. **Synthesis and characterization of alginate microspheres and kaolinite incorporated with agrochemicals for control of leafcutter ants of the genus *Atta* spp.** Advisor: Jairo Tronto. Co-Advisor: Flávio Lemes Fernandes.

The leafcutter ants, *Atta* spp. are severe pests that cause loss of billions of dollars on the plantations. Currently, the use of granulated baits and the thermal fogs application are the options to control of these pests. In this sense, new technologies are welcome to expand the control options. Therefore, this work had as goals synthesize and characterize baits for control of *Atta* spp., from organic-inorganic hybrid materials, derived from interaction between alginate microspheres and kaolinite, incorporated with agrochemicals (e.g. sodium tetraborate, *Beauveria bassiana* spores, sulfluramide, and chlorpyrifos). The experiments were carried out at Laboratory of Layered Compounds (LCL), experimental area of the Federal University of Viçosa - *Campus* Rio Paranaíba, and Donanas Farm. The characterization techniques used were X-ray Powder Diffraction (XRPD), Attenuated Total Reflection Fourier Transform Infrared Spectroscopy (ATR-FTIR), and Simultaneous Thermogravimetric Analysis-Differential Thermal Analysis (TGA-DTA). These techniques provide characteristics about materials precursors of the synthesis, evidencing the presence of the same ones in the baits. The “*in vitro*” release tests, for the microspheres containing boron and chlorpyrifos, showed that the cumulative release rate occurred over a period of 1 hour, reaching 100% release for boron and 86% of the chlorpyrifos. The boron and chlorpyrifos leaching`s tests showed the behavior of these insecticides in the soil. The microspheres with sodium tetraborate showed percolation up to 100% after 15 days. The bioassays in the laboratory and in the field allowed verifying the efficiency of the active baits. The most efficient microspheres for the insect’s control, after the field activity, were the baits with *Beauveria bassiana* (T3) in the bioassay 1 (eucalyptus plantations), and microspheres with chlorpyrifos (T8) in the bioassay 2 (pasture). Conclude that the synthesis of the microspheres containing the agrochemicals, originated products unpublished in the literature that present formicide potential, being them efficient as management technique, since they presented high mortality percentages within the evaluated period of days.

1. INTRODUÇÃO

Ao longo dos anos, as maiores modificações ao meio ambiente, têm sido causadas por atividades humanas, como a produção de alimentos ou de bioenergia (Giesel, 2007). Após a Segunda Guerra Mundial, a humanidade concebeu a consciência da necessidade de transformação e otimização dos meios de produção, principalmente a alimentícia, que consequentemente influenciou a chamada ‘Revolução Verde’ na década de 1950, que foi o conjunto de novas práticas e inovações dos sistemas de plantio e controle de pragas nas lavouras (Epstein, 2014). Os impactos ambientais causados pós-revolução verde, favoreceram um desequilíbrio do agrossistema, aumentando a proliferação de insetos devido ao intenso cultivo, que em sua grande maioria não eram realizadas de maneira sustentável (Gliessman, 2000).

No Brasil, existem cerca de 2000 espécies diferentes de formigas, esses insetos desempenham um papel importante na cadeia alimentar (Campos, 2017). As formigas cortadeiras, dos gêneros *Atta* (saúvas) e *Acromyrmex* (quenquéns), são pragas severas que causam prejuízos de bilhões de dólares em cultivos florestais, especialmente após o processo germinativo no qual a parte aérea da planta (muda) já está desenvolvida, sendo um alvo fácil, desse modo, novos plantios devem ser realizados, elevando os gastos (Zanetti et al., 2003).

A grande maioria das técnicas de manejo desenvolvidas para o controle desses insetos é direcionada para o gênero *Atta* spp. e posteriormente adaptadas para o gênero *Acromyrmex* (Buratto, 2013). Os fungos simbiontes localizados na parte subterrânea dos formigueiros, dificultam o controle desses insetos, assim novas técnicas de combate a esses inimigos naturais devem ser desenvolvidas (Zmitrowicz, 2001). As poucas técnicas de manejo de formigas cortadeiras, envolvem os controles mecânico, cultural, biológico e químico. O controle químico é o mais eficiente, podendo ser realizado com diferentes produtos e formas distintas de aplicação, variando de técnicas de baixa toxicidade e de baixo custo, como o uso de iscas granuladas ou pó seco, a técnicas mais tóxicas e de alto custo como a termonebulização (Zanetti et al., 2002).

Nos últimos 70 anos, os inseticidas vêm sendo amplamente utilizados na agricultura para o controle de pragas, garantindo o suprimento de alimentos para uma população em constante crescimento. Muitos praguicidas tiveram seu uso proibido devido a sua alta toxicidade e, ou, persistência no ambiente (Santos et al., 2007). Os organoclorados, pioneiro grupo dos praguicidas sintéticos, tiveram seu uso agrícola

proibido no Brasil desde 1985, sendo somente autorizados em campanhas de saúde pública (Portaria nº. 329 de 02/09/85 do Ministério da Agricultura).

Devido à necessidade de encontrar meios mais sustentáveis, as pesquisas voltadas para o desenvolvimento de inseticidas não agressivos têm se intensificado cada vez mais, com o objetivo de preservar o meio ambiente e evitar a intoxicação de animais do ecossistema. As novas tecnologias são baseadas em novos materiais com propriedades que não são encontradas nos materiais convencionais. Como por exemplo, os materiais híbridos orgânico-inorgânicos, uma classe especial de materiais preparados pela combinação adequada de componentes orgânicos e inorgânicos (Fernandes et al., 2014). O efeito sinérgico entre as partes produz materiais com propriedades singulares, distintas de seus componentes isolados. Estes materiais representam uma alternativa criativa e permitem aplicações industriais inovadoras (Abellán et al., 2015; Sanchez et al., 2011a; Sanchez et al., 2011b).

Nesse sentido, os biopolímeros originários de fontes renováveis, têm sido combinados com diferentes substâncias inorgânicas, formando materiais híbridos orgânico-inorgânicos (Darder et al., 2008; Sanchez et al., 2011a). Esses materiais estão sendo aplicados em diferentes áreas do conhecimento, utilizados principalmente como matrizes para o transporte de fármacos (Takahashi and Yamaguchi, 1991), agroquímicos (Benício et al., 2015) e fertilizantes (Darder et al., 2005).

O alginato de sódio (Figura 1) é um biopolímero muito utilizado para a formação de materiais híbridos orgânico-inorgânicos (Chan et al., 2002; Jain e Datta, 2016). Propriedades como a sua biodegradabilidade, não imunogenicidade e capacidade de formar gel com uma variedade de agentes de reticulação em condições brandas e aquosas, tornam esse polímero um transportador potencial para entrega controlada de agentes biologicamente ativos (da Silva et al., 2017). O alginato de sódio é um carboidrato coloidal obtido de algas marinhas de fórmula química $\text{NaC}_6\text{H}_7\text{O}_6$, pertencente à família de copolímeros binários, é composto por ligações 1-4 de ácido β -D-manurônico (M) e ácido α -L-gulurônico (G), com larga variação na composição e na estrutura sequencial. A diferença na sequência e no conteúdo de blocos determina a flexibilidade da cadeia, influenciando na solubilidade e na estabilidade do gel formado (Mazutis et al., 2015; Oh et al., 2011).

O alginato de sódio forma um gel em contato com o cálcio. Dependendo do método de síntese utilizado, o gel de alginato pode ter a forma de microesferas. Um dos primeiros relatos da formação de microesferas de alginato utilizando cloreto de cálcio

por um processo de emulsificação com surfactantes foi relatado por Wan e colaboradores (1994).

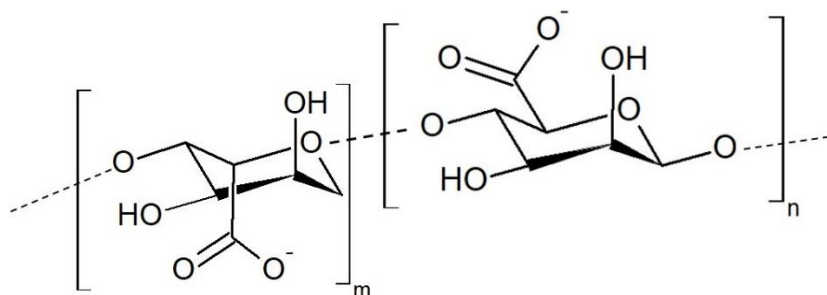


Figura 1. Representação da estrutura do biopolímero alginato.

Fonte: Duarte, V.G.O., 2019.

O presente trabalho teve como objetivos sintetizar e caracterizar materiais híbridos orgânico-inorgânicos formados de microesferas de alginato e caulinita para incorporação de agroquímicos utilizados no controle de formigas cortadeiras do gênero *Atta* spp., e realizar bioensaios de eficácia e comportamental em campo e laboratório.

1.1 Formigas cortadeiras

As formigas cortadeiras são insetos da ordem Hymenoptera, família Formicidae, subfamília Myrmicinae e tribo Attini (Astruc et al., 2004; Bolton, 1995; Schultz e Meier, 1995). As espécies de formigas existentes são os gêneros *Atta* (saúvas), *Acromyrmex* (quenquéns), *Trachymyrmex*, *Sericomyrmex* e *Apterostigma*. As saúvas distribuem-se desde o sul dos Estados Unidos até o norte da Argentina. As quenquéns podem ser encontradas da Califórnia até o centro da Argentina. As espécies de maior importância e mais comuns no Brasil são as do gênero *Atta* e *Acromyrmex*, ocorrendo nove subespécies de *Acromyrmex* e três subespécies de *Atta sexdens* Patagônia (Zanetti et al., 2002; Mariconi, 1979; IPAGRO, 1980).

A morfologia desses insetos permite diferenciar e identificar qual o seu gênero (Figura 2). As formigas cortadeiras do gênero *Acromyrmex* apresentam entre quatro a cinco pares de espinhos em seu dorso torácico, além de tubérculos no seu abdômem (gáster), diferentemente do encontrado em formigas do gênero *Atta* spp., as mesmas apresentam três pares de espinhos no dorso do tórax e gáster liso (Fowler et al., 1993).

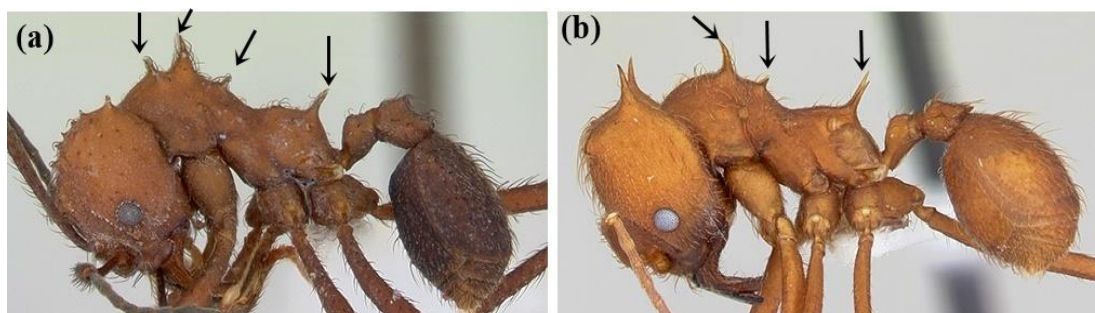


Figura 2. Ilustração da morfologia das formigas: (a) Quenquém (*Acromyrmex*) e (b) Saúva (*Atta* spp.).

Fonte: Adaptado de AntWeb.

Observando a aparência externa dos ninhos é possível identificar o gênero das formigas. Os saúveiros são grandes e apresentam grandes quantidades de terra solta próximas ao olheiro, em contrapartida os ninhos de quenquéns são menores e não apresentam grande quantidade de terra solta (Figura 3).

O alto grau de polimorfismo, apresentado pelas cortadeiras do gênero *Atta* spp., permitem que as formigas exerçam funções específicas para o bem comum da colônia. A organização desses insetos na forma de castas compõe uma estrutura socialmente perfeita, e ao mesmo tempo complexa (Della Lucia et al., 1993). Em uma colônia a rainha é a formiga principal, responsável pela reprodução das operárias (estéreis), que podem subdividir em cortadeiras, jardineiras e soldados, cada uma exercendo a sua função. As cortadeiras são as principais responsáveis pelo corte e transporte de folhas para o interior do ninho, as jardineiras nutrem fungos simbiotes e, por fim as formigas soldado auxiliam na defesa contra competidores e intrusos que se aproximem do formigueiro (Wilson, 1980; Reis Filho et al., 2011). Devido à alta complexidade organizacional desses insetos, uma comunicação eficiente se faz necessária, visto que as formigas realizam cortes de folhas em plantas às vezes distantes do olheiro e, ou, pelas colônias apresentarem milhões de operárias (formigueiro adulto). Essa comunicação ocorre principalmente por meio de sinais químicos (feromônios depositados ao longo das trilhas), táteis e sonoros (Holldobler, 1978).



Figura 3. Imagens fotográficas da parte externa dos ninhos: a) Saúvas (*Atta* spp.) e b) Quenquéns (*Acromyrmex*).
Fonte: Reis Filho et al., 2013.

O forrageamento é uma atividade usual desses insetos para seleção, corte e transporte de vegetais, ocorre de maneira extremamente seletiva, pois fatores como a cor, forma, palatabilidade e odor influenciam na escolha do alimento. As formigas mais velhas, responsáveis pelo forrageamento marcam com ferômonio a trilha até a fonte de alimento, direcionando as demais operárias. Estas por sua vez, retornam ao ninho com o alimento intensificando a substância química na trilha (Vilela e Della Lucia, 1987). Ao decorrer da forragem, a nutrição desses insetos é feita por meio da seiva resultante da manipulação de folhas frescas durante o processo de corte (Fowler et al., 1991; Bass e Cherrett, 1995). As formigas mais jovens nutrem e cultivam fungos simbiotes *Leucoagaricus gongylophorus* Singer (Möller) (Leucocoprineae: Agaricaceae) do qual se alimentam (Autuori, 1950; Fisher et al., 1994).

As formigas cortadeiras desempenham um papel importante no meio ambiente, auxiliam na dispersão de sementes promovendo novas germinações, aumentam a fertilidade do solo acelerando processos de decomposição, ao cavarem seus túneis arejam o solo, permitindo que a água e o oxigênio atinjam as raízes das plantas (Almeida et al., 2013; Queiroz et al., 2006; Holldobler e Wilson, 1990). Em

contrapartida, elas são as principais responsáveis pelo consumo de massa vegetal proveniente de diversas culturas, causando prejuízos milionários. Desse modo, o controle adequado desses insetos é de grande importância econômica e se faz necessário para minimizar danos aos cultivos.

1.2 Técnicas de manejo

As técnicas de manejo objetiva reduzir os impactos causados por esses insetos aos cultivos. As técnicas mais comumente usuais no combate a formigas são: controle mecânico, biológico, cultural e químico (Araújo et al., 2003).

1.2.1 Controle mecânico

O controle mecânico de formigas consiste em uma técnica de ação direta aos insetos, seja localizando a rainha para matá-la ou dificultando seu acesso à planta.

O controle ao qual se objetiva matar a rainha é realizado por meio de uma escavação no formigueiro, de preferência jovem (4 meses de idade), isso porque a rainha encontra-se à cerca de 20 cm de profundidade, permitindo assim a sua captura e consequentemente à sua morte, impedindo a natalidade de novos insetos (Della Lucia et al., 1993; Zanetti et al., 2002).

O método mais antigo (não letal) utilizado para evitar o ataque de formigas é o de barreiras físicas. Esse método consiste na aplicação de cones ou tiras plásticas cobertas com um líquido viscoso (graxa ou vaselina) colocadas nos troncos de árvores, impedindo o acesso desses insetos as folhas das plantas. Essa técnica de manejo é muito usual em pomares (Justi Junior et al., 1996).

Moressi e colaboradores (2007) descrevem com sucesso o controle mecânico de formigas cortadeiras (*Atta laevigata*) no reflorestamento com espécies nativas, a fim de minimizar o desfolhamento causado por esses insetos às plantas. Por meio do uso das barreiras com cones plásticos e cilindros de garrafas, foi possível reduzir o uso de produtos químicos sem eliminar as saúvas, que segundo ele desempenham um papel importante no ecossistema.

1.2.2 Controle Cultural

O controle cultural consiste no emprego de técnicas de aragem e gradagem do solo, além do uso de culturas armadilhas nas proximidades da cultura principal (Della Lucia et al., 1993; Boaretto e Forti, 1997; Zanetti et al., 2002).

As técnicas de aração e granagem são mais comumente utilizadas para formigueiros jovens, visto que a proximidade da rainha à superfície é pequena, desse

modo às lâminas da máquina utilizada para arar pode atingir a rainha matando-a (Reis Filho et al., 2011; Zanetti et al., 2002).

A cultura armadilha utiliza de plantas como gergelim, capim braquiário, mamona ou batata doce nas proximidades da cultura principal, essas cultivares se tornam uma opção para forragearem, de modo que ao realizarem o corte, esses vegetais irão atuar de forma tóxica e, ou, com efeito repelente nas formigas (Della Lucia et al., 1993; Zanetti et al., 2002; Oliveira et al., 2011).

1.2.3 Controle Biológico

O controle biológico é uma técnica racional que diminui resíduos e poucoprejudicial ao meio ambiente e à população. O uso de inimigos naturais das formigas é uma maneira de minimizar os danos causados por esses insetos. Tatus (*Priodontes maximus*), tamanduás (*Myrmecophaga tridactyla*), aves, fungos, aranhas, ácaros e até mesmo outras espécies de formigas podem preda esses animais (Zanetti et al., 2002; Reis Filho et al., 2011). Os principais grupos de inimigos naturais de formigas são os entomopatógenos (fungos) do gênero *Entomophthora*, *Hisurtella*, *Aschersonia*, *Nomuraea*, *Beauveria* e *Metharhizium*, infectando-os pela via oral, tegumento ou espiráculos (Reis Filho et al., 2011)

O gênero *Canthon* são um dos principais besouros empregados no controle de formigas, são predadores específicos de rainhas de saúvas (Reis Filho et al., 2011; Araújo et al., 2015).

1.2.4 Controle Químico

O controle químico faz uso de substâncias químicas tóxicas e este por sua vez é o método causador de mortes em formigas mais eficiente. O controle desses insetos pode ser realizado com diversos produtos e aplicações distintas, variando de técnicas mais caras e tóxicas, como a termonebulização, a técnicas menos evasivas e de baixo custo, como o uso de iscas granuladas ou pó seco (Couto et al., 1977; Cruz et al., 1996; Zanetti et al., 2002; Zanetti et al., 2006).

A termonebulização é uma técnica de manejo muito eficiente para formigueiros grandes, podendo ser utilizada em qualquer condição climática (Anjos et al., 1998). Esse método consiste na imersão da ponta da lança de um termonebulizador preparado com ingrediente ativo (formicida + querosene ou óleo diesel), por meio do olheiro do formigueiro um nevoeiro formado pela parte mecânica do dispositivo percorre o interior do ninho intoxicando-as levando à morte desses insetos. Os olheiros devem ser

tampados para uma maior mortalidade das formigas, uma vez que a fumaça pode se dispersar. Uma termonebulização eficiente ocasiona a morte das formigas até 4 h pós-aplicação (Couto et al., 1977; Zanetti et al., 2006; Santos et al., 2007; Reis Filho et al., 2011).

Análogo a termonebulização, o método de controle via pó seco também utiliza um equipamento que auxilia no manejo, no caso a polvilhadeira. Esse método é barato e de fácil aplicação, em contrapartida, assim como a termonebulização ela também exige mão de obra. A aplicação consiste na adição de um inseticida na forma de pó (clorpirifós, malation ou fention) na polvilhadeira e este por sua vez é bombeado no interior do formigueiro, a morte é causada pelo contato direto com o inseticida. A técnica é mais eficiente para formigueiros jovens de até 5 m² exclusivamente em dias secos, pois a umidade dificulta a penetração do pó até o interior do ninho (Abreu e Delabie, 1986; Zanetti et al., 2002; Oliveira et al., 2011).

A isca granulada na forma de *pellets* é constituída por uma mistura de ingredientes ativos (sulfluramida, fipronil ou clorpirifós), polpa de laranja desidratada, ambos dissolvidos em óleo vegetal (soja) (Peregrine & Cherrett, 1976; Forti et al., 1998; Zanetti et al., 2002; Forti, 2007). No campo, essas íscas são colocadas em trilhas nas proximidades dos olheiros, a atratividade advinda da polpa de laranja faz com que esses insetos recolham esse produto levando-o até as panelas. Seu uso é muito eficaz na morte de formigas, no entanto as íscas não podem ser utilizadas em períodos chuvosos, uma vez que a umidade do ambiente causa à destruição do produto antes mesmo do contato com o inseto e, como consequência, a sua ineficiência (Junior et al., 1996; Zanuncio et al. 1992; Pretto, 1996; Della Lucia et al., 1993). A dispersão inadequada das íscas no ambiente pode ocasionar intoxicação de outros animais, desse modo foi criado o porta-iscas, técnica desenvolvida de maneira a proteger esses produtos, oferecendo uma maior praticidade de aplicação e segurança para o operador (Loeck e Nakano, 1984; Laranjeiro, 1994).

1.3 Agroquímicos

A legislação brasileira (Lei nº 7.802, de 11 de Julho de 1989) regulamenta as normas de transporte, armazenamento, comercialização, distribuição, registro, classificação, controle e fiscalização do uso de agrotóxicos e afins. Estas substâncias químicas são utilizadas nas mais diversas áreas com o objetivo de repelir, matar ou minimizar efeitos deletérios causados por fungos, plantas, bactérias, vírus ou insetos

(Yadav e Devi, 2017). De acordo com Martins (2000), agroquímico quer dizer o mesmo que agrotóxico, pesticida, praguicida e defensivo agrícola, diversificando apenas nas classes em que são pronunciadas, seja entre agricultores, pesquisadores ou setores industriais. Os agrotóxicos englobam uma área diversificada, incluindo principalmente inseticidas, herbicidas, fungicidas e rodenticidas (Agrofit, 2019; Yadav e Devi, 2017).

1.3.1 Sulfluramida

O inseticida sulfluramida (Figura 4), cujo nome IUPAC é N-ethylperfluorooctane-1-sulfonamide, é um dos mais utilizados no Brasil no controle de formigas cortadeiras, apresenta solubilidade de $5,0 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ em água a 20°C (PPDB, 2018a). A sulfluramida foi lançada no mercado de iscas em substituição ao dodecacloro, devido à baixa toxicidade ao homem e o baixo impacto ambiental, apresentando uma meia-vida muito menor que a da molécula de dodecacloro (Pinheiro et al., 1996; Britto et al., 2016).

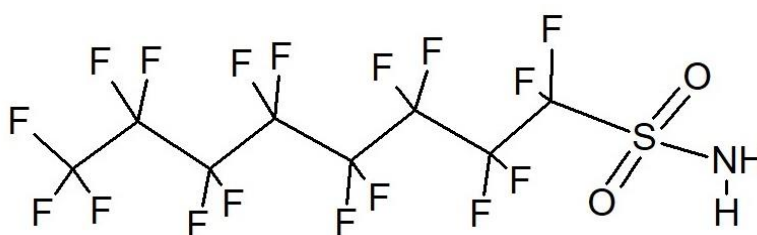


Figura 4. Representação da estrutura da sulfluramida.
Fonte: Duarte, V.G.O., 2019.

No Brasil, a isca utilizada no controle de formigas que contém o princípio ativo da sulfluramida é o produto comercial Mirex-s[®] (sulfluramida, 0,2%). As formigas cortadeiras carregam as iscas contendo o princípio ativo para o interior dos ninhos, e por meio de trofalaxia as mesmas se contaminam, com isso não conseguem realizar cortes de folhas e nem cultivar os fungos que se tornam inapropriados para alimentação, gerando um distúrbio e uma desordem na colônia, levando-as à morte (Britto et al., 2016).

O princípio ativo da sulfluramida inibe o processo metabólico de fosforilação oxidativa que atua na cadeia respiratória. Nas mitocôndrias ocorre o bloqueio do fluxo de elétrons, como consequência interrompe a produção de adenosina trifosfato (ATP), o que afeta o processo de armazenamento energético para as atividades vitais, causando asfixia e morte do inseto (Schnellmann and Manning, 1990; Xuan et al., 2018).

1.3.2 Clorpirifós

Pertencente ao grupo químico dos organosfosforados, o inseticida clorpirifós (Figura 5), cujo nome IUPAC é O,O-dietil O-3,5,6-tricloropiridin-2-il fosforotioato, é comumente utilizado no Brasil no controle de moscas, ácaros, pulgões, cupins, formigas, etc. Apresenta baixa solubilidade em água ($1,05 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$) a 20°C e alta sorção em solos (Anwar et al., 2009; Baskaran et al., 2003; PPDB, 2018b).

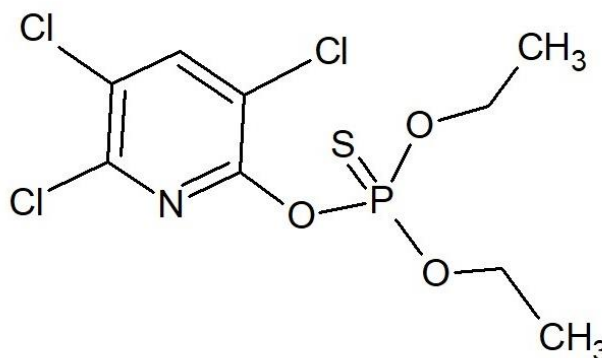


Figura 5. Representação da estrutura do clorpirifós.
Fonte: Duarte, V.G.O., 2019.

O clorpirifós age em insetos interferindo na transmissão dos impulsos nervosos, levando-os à paralisia e morte. Esse processo ocorre por ingestão ou contato com inseticida, fazendo com que esse organofosforado se ligue ao centro esterásico da acetilcolinesterase (AChE), causando uma síndrome colinérgica, impossibilitando a hidrólise do neurotransmissor (ACh) (Silva et al., 2005).

No Brasil existem diversos produtos com o princípio ativo do inseticida clorpirifós utilizado no controle de insetos, como é o caso do produto comercial Clorpirifós Fersol 480 EC[®] (48% p/v).

1.3.3 *Beauveria bassiana*

Dentre os agentes microbiológicos que desempenham um papel importante no controle de insetos, em especial as formigas, estão os fungos entomopatogênicos, como o *B. bassiana*, pertencentes à classe *Deuteromycetes* (Kirubhadrarsini, et al., 2017; Carneiro, et al., 2002).

De acordo com Charnley (2003), o fungicida *B. bassiana* é um hexadepsipeptídeo, com sequência repetitiva cíclica de três moléculas de fenilalanina alternando com três moléculas de ácido hidroxi-isovalérico.

Em insetos o mecanismo de infecção pode ser dividido em três estágios: adesão superficial, penetração da cutícula e replicação in vivo. Em até 12 h os esporos do fungo aderem à cutícula e penetram o hospedeiro devido a uma pressão e degradação enzimática. Após 72 h da inoculação, o patógeno atinge os tecidos internos, as hifas germinam sobre o hospedeiro debilitando as suas atividades levando à morte em até 7 dias, óbito causado pela digestão dos tecidos internos e à produção de micotoxina lançada na hemolinfa (Ferron 1978, Fuxa e Tanada, 1987, Hajek e St. Leger, 1994, Hou et al., 2014).

1.3.4 Borato de sódio

O bórax, ou borato de Sódio ($\text{Na}_2\text{B}_4\text{O}_7 \cdot 10\text{H}_2\text{O}$), é um mineral de grande uso pela indústria farmacêutica, principalmente por causa de suas propriedades antissépticas no tratamento de infecções por bactérias e fungos (Irschik et al., 1995). Além de seu uso farmacêutico, o borato de sódio é utilizado também como produto sanitário, auxiliando na remoção de manchas e promovendo a limpeza de superfícies e materiais. Na agricultura, o borato de sódio vem sendo utilizado como um inseticida. No entanto, de acordo com a Ficha de Informações de Segurança de Produtos Químicos (FISPQ), esse sal inorgânico provoca em seres humanos irritação nas vias respiratórias, mas para o meio ambiente não prevê bioacumulação.

Estudos recentes reportaram toxicidade e repelência em formigas submetidas a compostos que contém boro, como o boráx e ácido bórico. A combinação entre a distribuição do ingrediente ativo e a dosagem utilizada, pode levar esses insetos à morte (Hanna et al., 2015; Klotz et al., 2000). O ácido bórico (H_3BO_3) é um sal inorgânico e inseticida, mas há poucas informações sobre o papel do mesmo na fisiologia dos insetos, apenas que age sobre o metabolismo e no exoesqueleto quando usado como pó abrasivo. O efeito tóxico sobre o metabolismo do inseto pode estar relacionado à sua capacidade de criar complexos com grupos orgânicos funcionais. Várias hipóteses foram levantadas para explicar o mecanismo de ação do ácido bórico, incluindo o efeito abrasivo na cutícula, que acaba por desidratar ou retardar a degeneração do epitélio do estômago, como observado na ninfa de baratas (*Periplaneta americana*). Evidências bioquímicas de ação neurotóxica do ácido bórico em baratas, além da degeneração do epitélio intestinal, levando à morte de insetos, possivelmente devido à fome (Habes et al., 2006; Ferreira et al., 2013).

2. OBJETIVOS

O presente trabalho teve como principais objetivos: (i) o desenvolvimento de materiais híbridos orgânico-inorgânicos formados a partir de microesferas de alginato de sódio e caulinita com a incorporação de inseticidas nos materiais formados. (ii) Utilizar os materiais formados como iscas para o controle de formigas cortadeiras, *Atta* spp.

E mais especificamente, os objetivos foram:

1. Sintetizar microesferas de alginato contendo caulinita, pelo método da co-acervação complexa adaptado de Zhang et al. (2014). Como composto lamelar foi testado a argila caulinita;
2. Incorporar os diferentes agroquímicos as microesferas: sulfluramida, *B. bassiana*, borato de sódio e clorpirifós;
3. Realizar a caracterização completa das microesferas sintetizadas pelas técnicas difração de raios X no pó (DRXP), espectroscopia na região do infravermelho com transformada de Fourier com acessório de refletância total atenuada (FTIR-ATR), análise termogravimétrica acoplada a análise térmica diferencial (TGA-DTA), espectrofotometria na região do ultravioleta visível (UV-Vis) e cromatografia líquida de alta performance (UHPLC);
5. Realizar estudos de liberação “*in vitro*” de boro e do inseticida clorpirifós;
6. Realizar estudos de lixiviação do micronutriente boro presentes nas microesferas;
7. Realizar bioensaios em laboratório, pastagem e em cultivo de eucaliptos com formigas cortadeiras do gênero *Atta* spp.

3. PARTE EXPERIMENTAL

3.1 Materiais

Em todos os procedimentos de síntese das microesferas foram utilizados reagentes com grau de pureza analítica. A água utilizada foi previamente destilada e deionizada através do sistema Millipore MilliQ®.

Na síntese das microesferas foram utilizados os seguintes reagentes: Cloreto de Cálcio (Dinâmica, 99 %), Alginato de sódio (Êxodo, 90,8-106%), Borato de sódio (Reagen, 99-100%), Sulfluramida (Sigma-Aldrich, 99%), *Beauveria bassiana* (Agente biológico), Clorpirifós (Sigma-Aldrich, 99%) e argila caulinita sanitizada em laboratório.

3.2 Sínteses das Microesferas

3.2.1 Microesferas Bioensaio Eucalipto

3.2.1.1 Síntese de Microesfera Controle

A síntese das microesferas controle intituladas de tratamento (T1) foi realizada pelo método da co-acervação complexa, adaptado de Zhang et al. (2014). Neste método, um gel com um volume de 50 mL de água, contendo 0,5 g do biopolímero alginato de sódio foi formado após 1 h sobre vigorosa agitação, visando à solubilização completa do alginato e sua homogeneização. Em seguida foi formada uma suspensão pela adição de 2,5 g do argilomineral caulinita, que foi mantida sobre agitação por mais 1 h à temperatura ambiente (25 °C). Esta foi transferida para uma bureta de capacidade igual a 50 mL e vertida “gota a gota” com uma vazão de aproximadamente 1 gota s⁻¹, em uma solução contendo 5% de CaCl₂ (m/v). O material resultante (microesferas) foi seco em estufa com circulação de ar durante 5 h a uma temperatura de 25 °C e, acondicionado em frasco limpo e seco. A Figura 6 mostra um esquema ilustrativo dessa síntese. A Figura A1(a) apresentada no Apêndice A, mostra uma imagem fotográfica das microesferas formadas após a síntese.

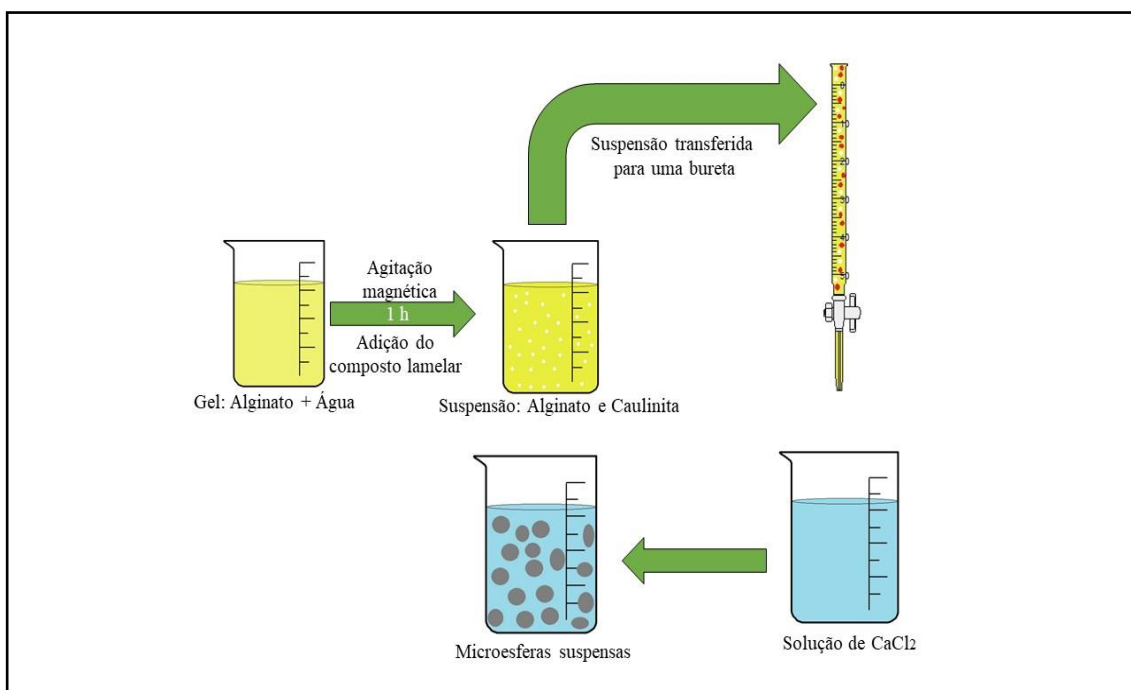


Figura 6. Representação esquemática de síntese das microesferas controle.
Fonte: Duarte, V.G.O., 2019.

3.2.1.2 Síntese de Microesfera com Borato

As microesferas de borato de sódio também foram obtidas pelo método de co-acervação complexa, adaptado de Zhang et al. (2014). Para isto, um gel foi formado pela mistura de 50 mL de água com 0,5 g de alginato de sódio, o qual foi submetido à agitação vigorosa por 1 h, para obtenção de uma mistura homogênea, em seguida foram adicionados 2,5 g de caulinita à mistura. A suspensão formada foi mantida sobre agitação por 30 min, quando recebeu 2,5 g de tetraborato de sódio, mantendo a agitação por mais 30 min, seguida de transferência para bureta de 50 mL. A formação das microesferas obtida pelo gotejamento (vazão de aproximadamente uma gota s^{-1}), em uma solução contendo 5% de $CaCl_2$ (m/v). As microesferas foram secas em uma estufa de circulação de ar por 5 h a 25 °C, posteriormente o material foi acondicionado em frascos de vidro. A Figura 7 mostra o processo de síntese dessas microesferas. Essa microesfera foi nomeada de tratamento (T2). As imagens fotográficas das esferas sintetizadas são apresentadas no Apêndice A, Figura A1(b) e Figura A2(a).

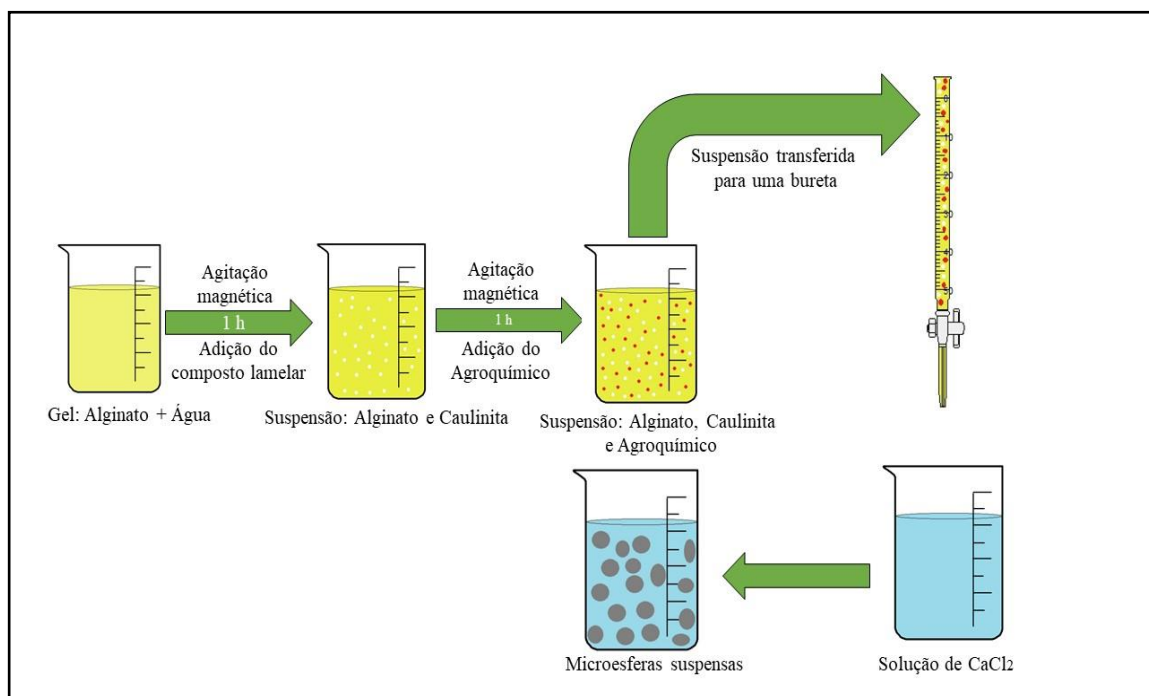


Figura 7. Representação esquemática de síntese das microesferas de Borato de sódio.
Fonte: Duarte, V.G.O., 2019.

3.2.1.3 Síntese de Microesfera com *Beauveria bassiana*

Após pesagem de 0,5 g de alginato de sódio, foram adicionadas 50 mL de H_2O e a solução submetida a agitação, para completa solubilização e formação de solução homogênea por um período de 1 h. A essa solução foram adicionados 2,5 g de caulinita.

Em seguida, foi adicionada com auxílio de uma micropipeta, um volume de 0,1 mL do agente biológico *B. bassiana*, permanecendo em agitação por mais 1 h. A suspensão formada foi transferida para uma bureta e foi feito seu gotejamento sobre uma solução 5% de CaCl_2 (m/v). As microesferas formadas foram peneiradas para remover o excesso de CaCl_2 , em seguida foram secas em estufa a 25 °C por 5 h. Após a secagem, foram armazenadas em frascos adequados para posteriores análises de caracterização e bioensaios. A Figura A1(c) apresenta a imagem fotográfica dos materiais obtidos. Essas microesferas foram nomeadas como tratamento T3.

3.2.1.4 Síntese de Microesfera com Sulfluramida

A síntese das microesferas foi obtido pelo método adaptado de Zhang et al. (2014). Foi preparada uma solução de $1000 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$, contendo o inseticida sulfluramida. Realizou a diluição dessa solução para se obter uma concentração igual a $600 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ em volume igual a 50 mL. Uma massa de 0,5 g de alginato de sódio, foi solubilizada pela adição da solução com sulfluramida, durante 1 h sob vigorosa agitação. Depois de solubilizada, uma massa de 2,5 g de caulinita foi adicionada à mistura. Após 1 h de agitação, a suspensão foi vertida em uma bureta, e gotejada com vazão de aproximadamente 1 gota s^{-1} em uma solução de 5% de CaCl_2 . O excesso do CaCl_2 foi removido após filtragem com auxílio de uma peneira. As microesferas foram secas a 25 °C em uma estufa. Após a secagem, os materiais foram acondicionados em frascos adequados. A ilustração apresentada na Figura 8 mostra o modelo de síntese descrito. A imagem fotográfica das microesferas obtidas é apresentada no Apêndice A (Figura A1(d)). Para facilitar o entendimento nos bioensaios, essas microesferas foram nomeadas como tratamento T4.

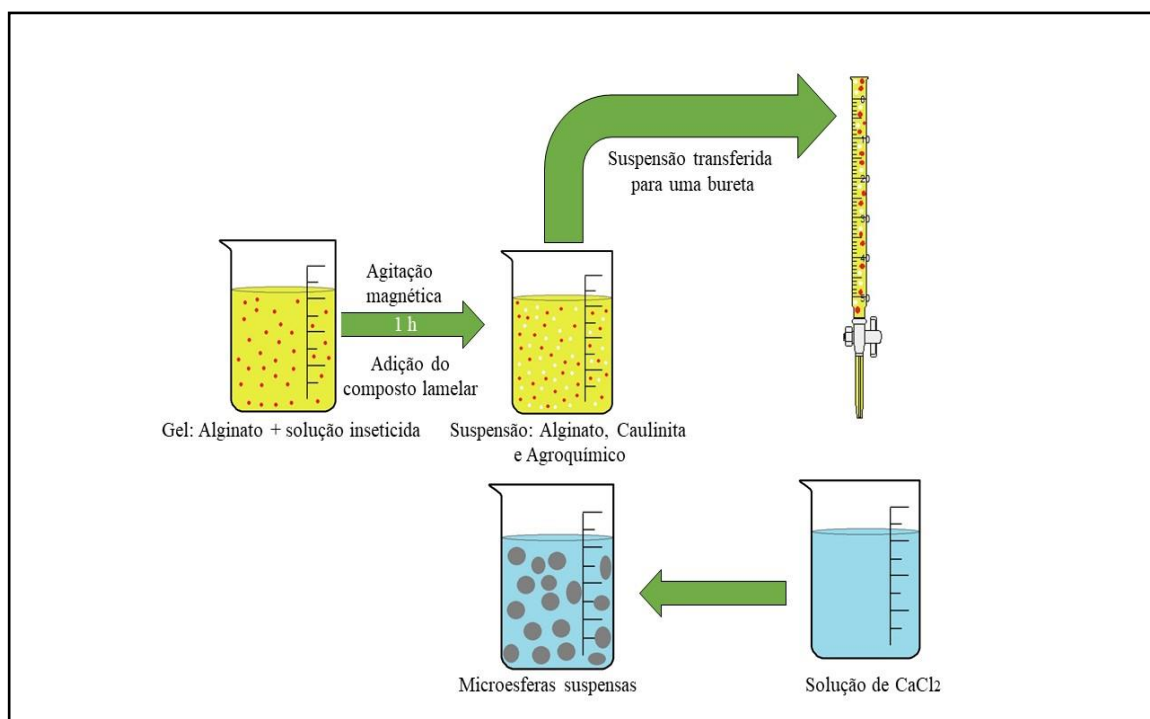


Figura 8. Representação esquemática de síntese das microesferas com solução de inseticida.

Fonte: Duarte, V.G.O., 2019.

3.2.2 Microesferas Bioensaio na Pastagem

3.2.2.1 Síntese microesfera com Borato e *Beauveria bassiana*

Análogo ao modelo proposto e descrito anteriormente, as microesferas contendo o tetraborato de sódio e esporos do *B. bassiana* foram sintetizadas por meio de uma suspensão formada por um gel, preparado pela adição de 0,5 g de alginato e 50 mL de H₂O. Essa mistura foi agitada vigorosamente por 1 h, obtendo um gel homogêneo. Uma massa de 2,5 g de caulinita foi adicionada a mistura, formando assim uma suspensão no gel. Em seguida, com auxílio de uma espátula e uma pipeta automática, foram adicionados 2,5 g do sal borato de sódio e 1 mL do *B. bassiana*, respectivamente. Após a adição dos agroquímicos, a mistura permaneceu em agitação por mais 1 h. Em uma bureta de 50 mL foi vertida lentamente a suspensão, foi gotejada (1 gota s⁻¹) em um béquer contendo uma solução 5% (m/V) de CaCl₂. As esferas obtidas foram filtradas com auxílio de uma peneira e as secas em estufa a 25 °C. As microesferas obtidas foram acondicionadas em frascos adequados. A Figura 7 apresenta o modelo de síntese descrito. A imagem fotográfica das microesferas sintetizadas é apresentada no Apêndice A, Figura A2(b). Essas microesferas foram nomeadas de T6.

A imagem fotográfica das microesferas do tratamento T7 é apresentada no Apêndice A2(c), foi sintetizada como se apresenta nesta seção, no entanto a massa de sal borato de sódio utilizada para a síntese foi de 5,0 g.

3.2.2.2 Síntese Microesfera com Borato e Clorpirifós

A Figura 8 também ilustra o modelo de síntese utilizado no preparo das microesferas que apresentam o princípio ativo do inseticida clorpirifós em sua composição. Nesta síntese, foram utilizados 50 mL de uma solução de 600 mg·L⁻¹ de clorpirifós, para formação do gel com adição de 0,5 g de alginato de sódio. A mistura foi submetida a uma vigorosa agitação magnética. Em seguida, 2,5 g de argila foram suspensas, formando uma nova mistura após o período de 1 h. Por sua vez, essa mistura foi transferida para uma bureta de 50 mL, e vertida lentamente (1 gota s⁻¹) em uma solução contendo 5% (m/v) de CaCl₂. As esferas foram formadas ao entrar em contato com a solução de cloreto de sódio. Por fim, as microesferas foram filtradas com uma peneira, secas a 25 °C em estufa de circulação de ar por 5 h e acondicionadas em frascos adequados. Essas microesferas foram nomeadas de tratamento (T8). A imagem fotográfica das microesferas sintetizadas é apresentada no Apêndice A, Figura A2(d).

3.3 Métodos de Caracterização

3.3.1 Difração de Raios X no Pó (DRXP)

Para as análises de DRXP, as amostras foram maceradas em um almofariz de ágata e peneiradas para obtenção de partículas de tamanho uniforme. Para que os resultados pudessem ser comparados, em todas as análises de DRXP, uma amostra de 0,5 g foi acondicionada na forma de pó em um porta amostras de alumínio e registradas em um equipamento Shimadzu XRD-6000, que utiliza como monocromador um cristal de grafite para selecionar a região de emissão do Cu- α_1 , com comprimento de onda de 1,5406 Å. O potencial da fonte foi de 30 kV e corrente de 30 mA. A velocidade de varredura foi feita com um passo de 0,02° a cada 1,2 s. A faixa de varredura (2 θ) foi de 4 a 70°.

3.3.2 Espectroscopia na Região do Infravermelho com Transformada de Fourier com acessório de refletância total atenuada (FTIR-ATR)

As análises de FTIR-ATR foram conduzidas em um aparelho Jasco 4100 com acessório de ATR (Refletância total atenuada). Os espectros foram obtidos com 256

varreduras, com resolução de 4 cm^{-1} em uma faixa de comprimento de onda de 4000 a 400 cm^{-1} .

3.3.3 Análise termogravimétrica e térmica diferencial (TGA-DTA)

As análises TGA-DTA foram realizadas em um equipamento Shimadzy modelo DTG 60H. A taxa de aquecimento utilizada foi de $10\text{ }^{\circ}\text{C}\cdot\text{min}^{-1}$ com fluxo de N_2 $50\text{ cm}^3\cdot\text{min}^{-1}$, a faixa de aquecimento foi da temperatura ambiente até $800\text{ }^{\circ}\text{C}$. A quantidade de amostra utilizada variou de 2 a 4 mg de acordo com a massa da microesfera utilizada.

3.3.4 Espectrofotometria na região do ultravioleta visível (UV-Vis)

A quantificação de boro presente nas microesferas foi determinada por meio de medidas de espectrofotometria de absorção molecular na região do UV-Visível (UV-Vis), utilizando espectrofotômetro PerkinElmer Lambda 25. As microesferas foram dissolvidas em HNO_3 e diluídas em água. Em seguida, 1,0 mL de alíquota foram retiradas para complexação pela adição de 3,0 mL de H_2O , 1,0 mL de solução $9,0\text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ de azometina-H contendo $20,0\text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ de ácido ascórbico e 1,0 mL de tampão acetato, sendo a absorbância medida em um comprimento de onda de 420 nm. As amostras foram deixadas em repouso por 30 min em ambiente fechado e ao abrigo de luz (Reis et al., 2006). Os valores de absorbância obtidos foram convertidos em concentração com o auxílio de curva analítica e por meio da lei de Lambert Beer, construída a partir de diluições sucessivas de um padrão de boro ($3\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$).

A espectrofotometria UV-Vis também foi utilizada para determinar a quantidade de boro nas microesferas preparadas em estudos de liberação “*in vitro*”. Os experimentos de liberação “*in vitro*” foram realizados em triplicata. Uma esfera de massa conhecida foi suspensa em 100 mL de H_2O em um erlenmeyer, essa suspensão foi colocada em uma incubadora SHAKER refrigerada SL-223 da marca SOLAB em 110 rpm a $25\text{ }^{\circ}\text{C}$ por 48 h. Em intervalos pré-estabelecidos eram removidas alíquotas de 5,0 mL e filtradas em microfiltros de seringa ($0,45\text{ }\mu\text{m}$), a partir desta, 1,0 mL foi complexada, como descrito anteriormente, e a concentração determinada com auxílio de curva analítica.

3.3.5 Cromatografia líquida de alta performance (UHPLC)

Foi utilizado um Cromatógrafo a Líquido de Alta performance Agilent Technologies, modelo 1260 Infinity II, com detector de ultravioleta, modelo G7117c:

225 nm. Foram estabelecidas as seguintes condições cromatográficas: Coluna C-18, modelo Eclipse Plus (4,6 mm x 25 cm x 5 µm), Acetonitrila-Água (C₂H₃N:H₂O) na proporção 80:20 como fase móvel, temperatura de 40 °C, Fluxo de 1,4 mL·min⁻¹ e volume de injeção de 20 µL. As curvas de calibração foram obtidas com diluições sucessivas de uma solução mãe de Clorpirifós (1000 mg·L⁻¹) com concentrações entre 1 e 10,00 mg·L⁻¹.

3.4 Formas de Análise dos Resultados

A DRXP é uma técnica analítica não destrutiva utilizada para caracterização qualitativa de materiais cristalinos a partir de um pó sólido. Essa técnica fornece informações sobre fases, estruturas, orientações do cristal e outros parâmetros estruturais, como deformação e defeitos. Dessa forma, de maneira a se tentar obter a impressão digital dos materiais utilizados na síntese e informação sobre as microesferas formadas, foi realizada a técnica de difração de raios X no pó.

A caracterização das microesferas obtidas foi realizada inicialmente pela análise dos padrões de raios X no pó. A existência do composto lamelar pode ser confirmada pela repetição dos picos basais. Obtidos os difratogramas, determinou-se a localização dos picos quanto ao ângulo (2θ), permitindo assim calcular as distâncias basais utilizando a equação de Bragg:

$$n \lambda = 2d_{hkl} \sin \theta$$

onde n é a reflexão do pico (número inteiro), λ é o comprimento de onda de raios X, d_{hkl} é o espaçamento interlamelar para o pico hkl que gera a difração e θ é o ângulo de difração (Bunaciu et al., 2015). Esses cálculos foram realizados com auxílio do programa computacional Origin Pro 2018 após construção dos difratogramas.

A FTIR-ATR é uma técnica de extrema importância na análise orgânica qualitativa, utilizada para caracterização e identificação estrutural de substâncias orgânicas. Os espectros de infravermelho dos materiais obtidos foram utilizados para confirmar a presença ou ausência de espécies orgânicas e inorgânicas nas amostras, através da identificação de bandas de absorção características (Barbosa, 2013).

Por meio das análises TGA feitas em atmosfera de ar sintético, é possível determinar a quantidade de água, bem como a estabilidade térmica dos materiais sintetizados e de seus precursores. Os termogramas são obtidos por meio das curvas de decréscimo de massa (%) e função da temperatura (°C).

A DTA é uma técnica de medição contínua de temperatura entre a substância e um material de referência termicamente inerte, enquanto ambos são submetidos a uma programação controlada à medida que são aquecidos ou resfriados. O registro é a curva térmica diferencial, no qual as diferenças de temperatura (ΔT) são ordenadas, com picos endotérmicos voltados para baixo e exotérmico para cima, com valores crescentes da esquerda para direita (Ionashiro, 2004).

Com intuito de quantificar e avaliar se as microesferas exibiam uma liberação sustentada (quantidade gradual liberada em função do tempo), foi realizado o experimento “*in vitro*” da liberação de boro e clorpirifós encapsulado.

A construção da curva padrão de boro foi feita em H_2O , preparada a partir de uma solução mãe de $3,0\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$. A partir desta solução, foram feitas diluições de maneira a se obter soluções de concentrações que variaram de 0 a $1\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$, os valores de absorvância correspondentes a cada concentração foram obtidos por meio de um espectrômetro de UV-vis, com comprimento de onda fixo em 420 nm, como descrito na seção 3.3.5. A Figura B1, do Apêndice B apresenta a curva padrão e regressão linear utilizada para determinar a quantidade de boro.

A quantidade de clorpirifós encapsulada na microesfera T8 foi determinada por meio de uma análise semi-quantitativa, foi realizada uma extração por solvente e posterior análise via UHPLC como foi descrito na seção 3.3.6. Uma massa conhecida foi triturada com auxílio de um pistilo e almofariz, seguida pela adição de 4,0 mL de acetonitrila, após foi realizada a filtração a fim de remover partículas indesejáveis. O líquido obtido foi acondicionado em vials para quantificação no cromatógrafo. Após a análise, com auxílio da curva padrão, determinou-se a quantidade de clorpirifós presente nas microesferas. O gráfico de regressão linear utilizado para determinação da quantidade de clorpirifós é apresentada na Figura B2 no Apêndice B.

3.5 Áreas experimentais

A pesquisa foi realizada em áreas diferentes utilizando microesferas com composição química variável. O primeiro bioensaio foi desenvolvido no período de março a abril de 2018, em cultivo comercial de eucaliptos (*Eucalyptus grandis*) (Myrtaceae), da Universidade Federal Viçosa – *Campus* Rio Paranaíba (IBGE, 2010).

O segundo bioensaio foi realizado no período de junho a julho de 2018 em uma pastagem na fazenda Donanas do Sr. José Natal, nas proximidades da Universidade. A Figura 9 apresenta um mapa da área experimental.

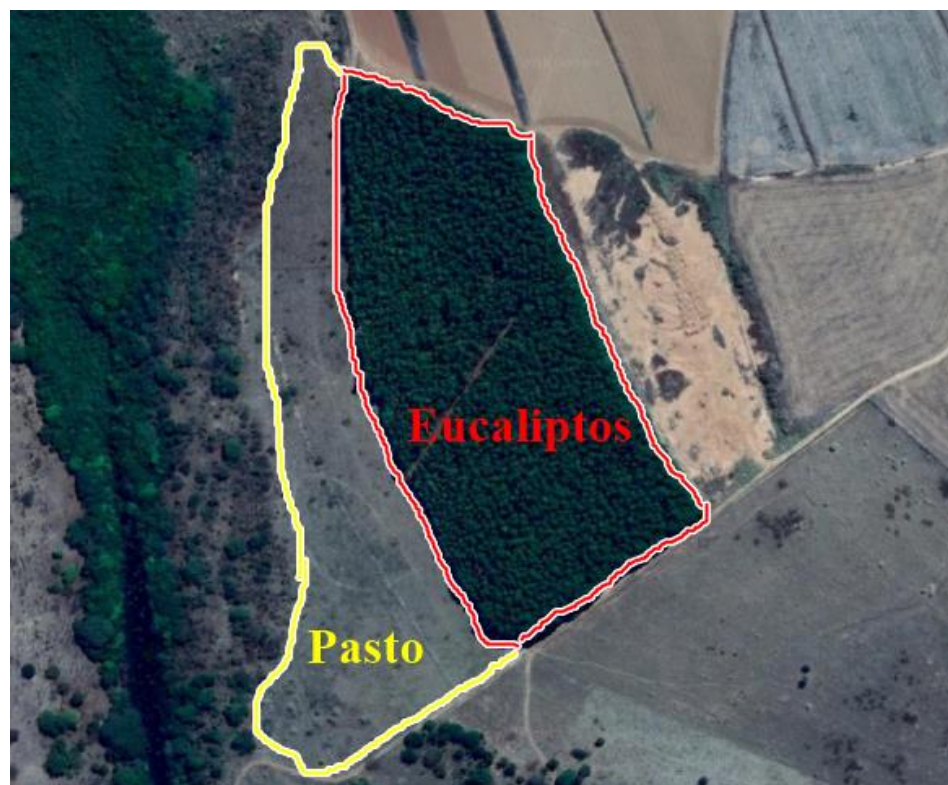


Figura 9. Mapa das Áreas experimentais eucaliptos da Universidade Federal Viçosa – *Campus* Rio Paranaíba e pasto Fazenda Donanas.

Fonte: Google Earth – Latitude: 19°13'15"S, Longitude: 46°13'49"O, 15 de Janeiro de 2019.

3.6 Bioensaios no campo

3.6.1 Bioensaio na plantação de eucalipto (*E. grandis*) e pastagem (*Gramineae*)

Para os bioensaios, foram marcados (Figuras 10 e 11) usando passos aferidos, 3 ninhos de formigueiros jovens que variaram entre 1 a 4 m² para cada tratamento. A aplicação das microesferas contendo os agroquímicos foi de acordo com a área total (Tabelas 1 e 2), consistiu na dosagem de 8,0 g·m⁻² aparente de formigueiro (Mariconi, 1970). As iscas foram aplicadas a uma distância aproximada de 20 cm do olheiro. Em cada formigueiro foram feitas avaliações do número de iscas carregadas, recrutamento (comportamento de retirada de iscas do interior para o exterior do ninho), número de folhas carregadas, número de indecisos e fluxo de formigas, no qual este último foi realizada a contagem de formigas em 1, 3 e 5 min. Todo o procedimento foi avaliado entre o período de 15 às 18 h, no dia da aplicação das íscas, após 24 h e a atividade dos formigueiros após 4, 7, 14, 21, 35 e 60 dias.



Figura 10. Imagem fotográfica da marcação e identificação do formigueiro.
Fonte: Duarte, V.G.O., 2019.

Tabela 1: Tratamentos utilizados para o controle de *Atta* spp. Rio Paranaíba, Minas Gerais, Março a Abril de 2018.

Tratamentos	Formigueiro (m ²)	Dose g/formigueiro	Massa média (mg/isca)	Diâmetro (mm)	Espessura (mm)
T1	1	8,0086	11,8 ± 2,1	2,78 ± 0,27	-
T1	4	31,9879	11,8 ± 2,1	2,78 ± 0,27	-
T1	1	8,0308	11,8 ± 2,1	2,78 ± 0,27	-
T2	4	30,0620	35,6 ± 9,1	5,59 ± 0,35	1,66 ± 0,36
T2	1	8,0641	35,6 ± 9,1	5,59 ± 0,35	1,66 ± 0,36
T2	1	8,0040	35,6 ± 9,1	5,59 ± 0,35	1,66 ± 0,36
T3	3	24,1000	21,3 ± 8,8	2,75 ± 0,23	-
T3	1	8,0218	21,3 ± 8,8	2,75 ± 0,23	-
T3	1	8,0857	21,3 ± 8,8	2,75 ± 0,23	-
T4	1	8,0410	12,3 ± 0,7	2,72 ± 0,14	-
T4	2	16,1013	12,3 ± 0,7	2,72 ± 0,14	-
T4	1	8,0510	12,3 ± 0,7	2,72 ± 0,14	-
T5	4	32,0070	24,0 ± 0,3	-	-
T5	1	8,1010	24,0 ± 0,3	-	-
T5	1	8,1103	24,0 ± 0,3	-	-

Tratamentos - T1: Micro. Controle, T2: Micro. Borato, T3: Micro. *B. bassiana*, T4: Micro. Sulfluramida e T5: Mirex[®].

Tabela 2: Tratamentos utilizados para o controle de *Atta* spp. Rio Paranaíba, Minas Gerais, Junho a Julho de 2018.

Tratamentos	Formigueiro (m ²)	Dose g/formigueiro	Massa média (mg/isca)	Diâmetro (mm)	Espessura (mm)
T2	4	32,0735	35,6 ± 9,1	5,59 ± 0,35	1,66 ± 0,36
T2	1	8,1205	35,6 ± 9,1	5,59 ± 0,35	1,66 ± 0,36
T2	1	8,2409	35,6 ± 9,1	5,59 ± 0,35	1,66 ± 0,36
T6	4	32,0570	25,7 ± 5,7	5,13 ± 0,35	1,64 ± 0,26
T6	1	8,2633	25,7 ± 5,7	5,13 ± 0,35	1,64 ± 0,26
T6	1	8,1837	25,7 ± 5,7	5,13 ± 0,35	1,64 ± 0,26
T7	4	32,1231	24,8 ± 3,4	5,10 ± 0,25	1,63 ± 0,18
T7	1	8,0795	24,8 ± 3,4	5,10 ± 0,25	1,63 ± 0,18
T7	1	8,4071	24,8 ± 3,4	5,10 ± 0,25	1,63 ± 0,18
T8	4	32,4247	40,3 ± 6,1	5,69 ± 0,54	2,07 ± 0,23
T8	1	8,4937	40,3 ± 6,1	5,69 ± 0,54	2,07 ± 0,23
T8	1	8,0038	40,3 ± 6,1	5,69 ± 0,54	2,07 ± 0,23
T9	2	16,4646	24,0 ± 0,3	-	-
T9	1	8,0025	24,0 ± 0,3	-	-
T9	1	8,3641	24,0 ± 0,3	-	-

Tratamentos – T2: Micro. Controle com borato, T6: Micro. com 2,5 g borato e *B. bassiana*, T7: Micro. com 5 g borato e *B. bassiana*, T8: Micro. com borato e clorpirifós e T9: Mirex®.

Para uma avaliação mais objetiva, foi realizada a contagem de íscas carregadas e recrutamentos por meio de imagens fotográficas em todos os tratamentos, ao início do experimento e em todos os dias avaliados.

Um total de 15 formigueiros foram avaliados em cada bioensaio, em esquema fatorial 5 x 8 (cinco tratamentos x oito dias de avaliações após aplicação dos tratamentos) em delineamento experimental do tipo inteiramente casualizado com três repetições. Os dados foram submetidos à análise de variância e as médias comparadas pelo teste Tukey a 5% de probabilidade, com auxílio do software Sisvar (Ferreira, 2011).



Figura 11. Imagem fotográfica das microesferas controle aplicadas a uma distância aproximada de 20 cm a partir do olheiro.

Fonte: Duarte, V.G.O., 2019.

3.7 Bioensaios em laboratório

O experimento foi conduzido no Laboratório de compostos Lamelares (LCL). O delineamento experimental foi inteiramente casualizado com 6 tratamentos e 5 repetições. As formigas operárias *Atta* spp. foram coletadas no mês de Novembro de 2018, em um formigueiro adulto de 28 m² (Figura 12). Em cada tratamento foram utilizados cinco potes plásticos com furos na tampa (61 x 101 mm) com 5 cm de solo argiloso, contendo 6 formigas por pote. No interior do pote foi colocado algodão hidrófilo umedecido com 1,5 mL da dieta líquida proposta por Bueno et al. (1997), contendo 100 mL de água milli-q de 5% (m/v) de glicose, 1% (m/v) de peptona bacteriológica e 0,1% (m/v) de extrato de levedura. Essa mistura foi solubilizada com auxílio de um bastão de vidro até completa homogeneização, em seguida foi autoclavada por 15 min a 120 °C e 1 atm de pressão e, posteriormente, acondicionada em um frasco limpo e seco na geladeira. A dieta foi substituída por uma nova uma vez ao dia. Quinze microesferas (Figura 13) contendo o tratamento foram liberadas sobre o solo de forma a ficar distribuída uniformemente. As avaliações foram feitas a cada 24 h, registrando-se o número de formigas mortas em cada pote plástico. Os dados de mortalidade foram corrigidos com a testemunha seguindo a fórmula de Abbott (1925), e submetidos análise de variância e teste de média de Tukey ($p < 0,05$).



Figura 12. Imagem fotográfica do formigueiro onde foram coletadas as formigas.
Latitude: 19°12'33"S e Longitude: 46°07'55"O.
Fonte: Duarte, V.G.O., 2019.



Figura 13. Imagens fotográficas do bioensaio de laboratório – potes plásticos contendo as iscas formicidas.
Fonte: Duarte, V.G.O., 2019.

3.8 Testes de lixiviação

A lixiviação é um processo de extração de uma substância (soluto) presente em um sólido em contato com um líquido (solvente) (Richardson et al., 2002). A lixiviação

do boro presentes nas esferas pode auxiliar no processo de adubação das plantas no período em que se encontra no solo. No entanto, ao final do processo de percolação pode se apresentar como um fator de risco contaminando o lençol freático e, ou, em grandes doses apresentar toxicidade (Rosolem e Bísaro, 2007).

Adaptado de Abat et al. (2015) o ensaio de lixiviação de boro presentes nas microesferas foi realizado em seringas com capacidade de 60 mL, de diâmetro de 31 mm e altura de 17,5 cm. A base da seringa foi fechada com lã de vidro, de maneira que a solução filtrada saísse límpida. A seguir as seringas foram preenchidas com 50 g de solo, valor este previamente determinado por meio do cálculo de porosidade em que se utilizou a densidade de solo e densidade de partículas (Embrapa, 1997). Uma perfuração de 5 cm foi feita no centro do sistema, onde foi colocada a microesfera, em seguida foi colocada novamente lã de vidro fechando o sistema (Figura 14).



Figura 14. Imagem fotográfica das Microesferas colocadas no centro do solo para estudos de lixiviação.

Fonte: Duarte, V.G.O., 2019.

Em cada um desses tratamentos (3 repetições), foram aplicados correspondentes a $1,8 \text{ kg} \cdot \text{ha}^{-1}$ de boro, na forma de microesferas. Decorridas 24 h, 5, 10 e 15 dias as colunas foram submetidas a aplicações de água correspondentes ao volume total de poros determinado para cada seringa, volume esse igual a 26 mL aplicado com auxílio de uma seringa aferida previamente. Na ponta da seringa foi colocada uma mangueira látex de borracha com 25 cm de comprimento acoplado à outra seringa de capacidade igual a 60 mL a qual auxiliou na sucção do volume de H_2O . As soluções recolhidas nas bases, após a passagem da H_2O , foram pesadas e acondicionadas em recipientes de plástico e, posteriormente, analisadas por espectrofotometria de UV-Vis com descrito no item 3.3.5. A Figura 15 apresenta o sistema utilizado para o processo de lixiviação. O sistema completo está ilustrado na Figura D1 no Apêndice D.

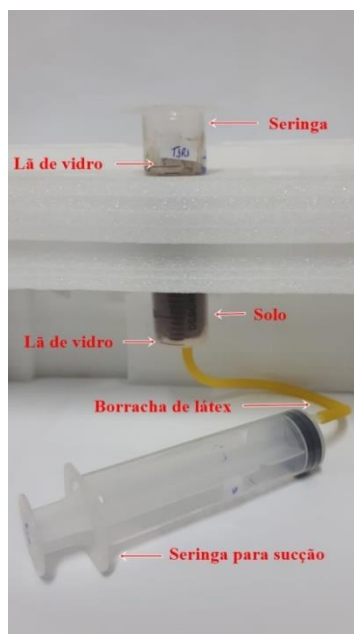


Figura 15. Imagem fotográfica do sistema de lixiviação
Fonte: Duarte, V.G.O., 2019.

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 Caracterizações das microesferas

Para um melhor entendimento dos resultados obtidos, esta seção será dividida em:

- I – Caracterização das microesferas utilizadas para o Bioensaio 1, onde serão apresentados os difratogramas dos materiais comuns aos dois bioensaios, espectros FTIR-ATR e análises de TGA-DTA.
- II – Caracterização das microesferas utilizadas para o Bioensaio 2, apresentando difratogramas, espectros FTIR-ATR, análises de TGA-DTA, lixiviação de boro e estudos de liberação “*in vitro*” de boro e clorpirifós presente nas microesferas.

4.1.1 Caracterização das microesferas utilizadas para o Bioensaio 1 - Plantação de Eucaliptos

O difratograma do alginato de sódio, Figura 16, apresenta três picos característicos em $2\theta = 14, 21$ e 38° (Ikeda et al., 2000, Xiao et al. 2007, Cheong and Zhitomirsky, 2008). O alargamento dos picos de difração e a alta linha de base são característicos de materiais amorfos ou semicristalinos, como é caso dos polímeros orgânicos.

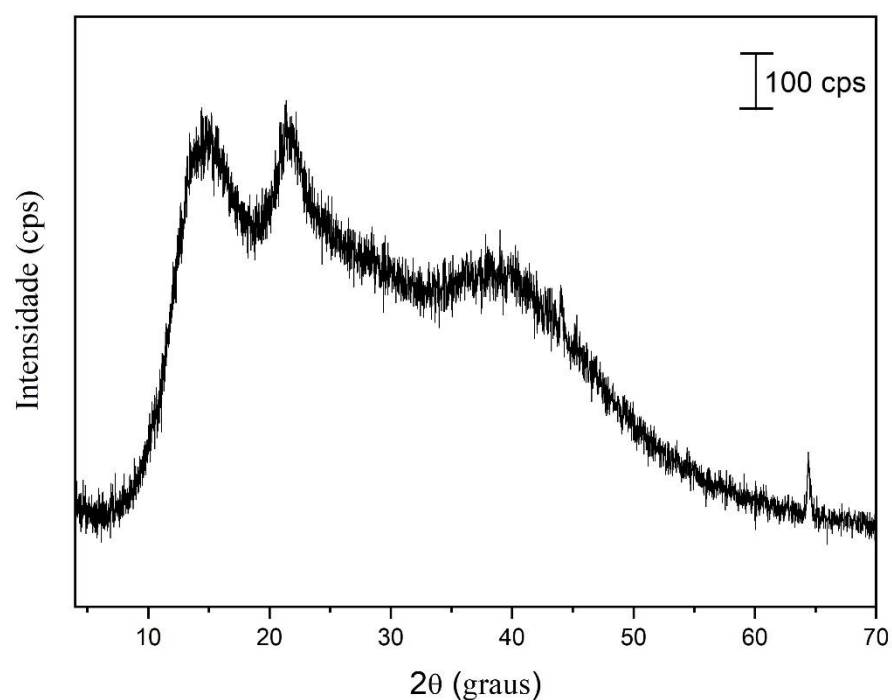


Figura 16. Difratograma do biopolímero alginato de sódio.

A Figura 17 apresenta o difratograma da caulinita usada durante o processo de síntese das microesferas. Os picos de difração que identificam e classificam esse mineral estão identificados pelos índices de Miller, obtidos por comparação com o PCPDFWIN número padrão 29-1488 apresentado no Apêndice C, Figura C1. Os picos atribuídos à estrutura dioctaédrica da caulinita em $2\theta = 12,42^\circ$ (d_{001}) e $25,01^\circ$ (d_{002}) apresentam distâncias interplanares igual $7,00 \text{ \AA}$ e $3,58 \text{ \AA}$, respectivamente, corroborando com os dados obtidos na literatura para este argilomineral (Gardolinski e Wypych, 2001; Albers et al., 2002; Zsirka et al., 2015). Os demais picos observados no difratograma podem estar relacionados à presença de impurezas no material.

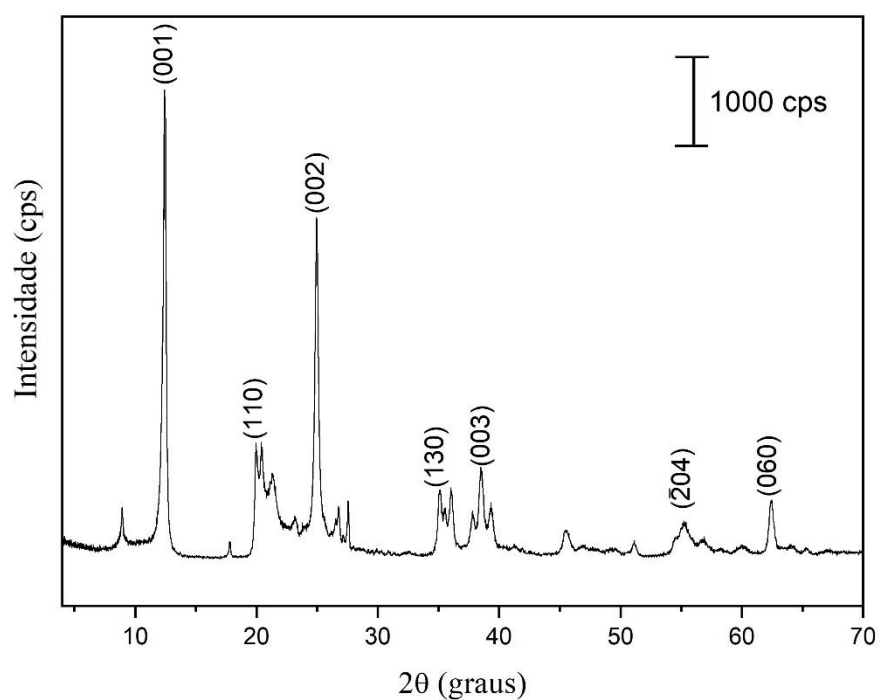


Figura 17. Difratoograma do argilomineral caulinita.

A Figura 18 apresenta o difratograma para o sal tretaborado de sódio decaidratado. Este difratograma foi comparado com padrão PCPDFWIN 12-0258 apresentado no Apêndice C, Figura C2. Os picos mais intensos associados ao sal se apresentam bem definidos em $2\theta = 15,7^\circ$ (d_{200}), $31,6^\circ$ (d_{132}) e $48,0^\circ$ (d_{443}) as quais têm distâncias interplanares iguais a 5,61, 2,82 e 1,89 Å, respectivamente.

Os componentes de *B. bassiana* e sulfluramida, utilizados na síntese das microesferas, não foram submetidos ao DRXP uma vez que seu estado físico na forma líquida impossibilitou tal análise.

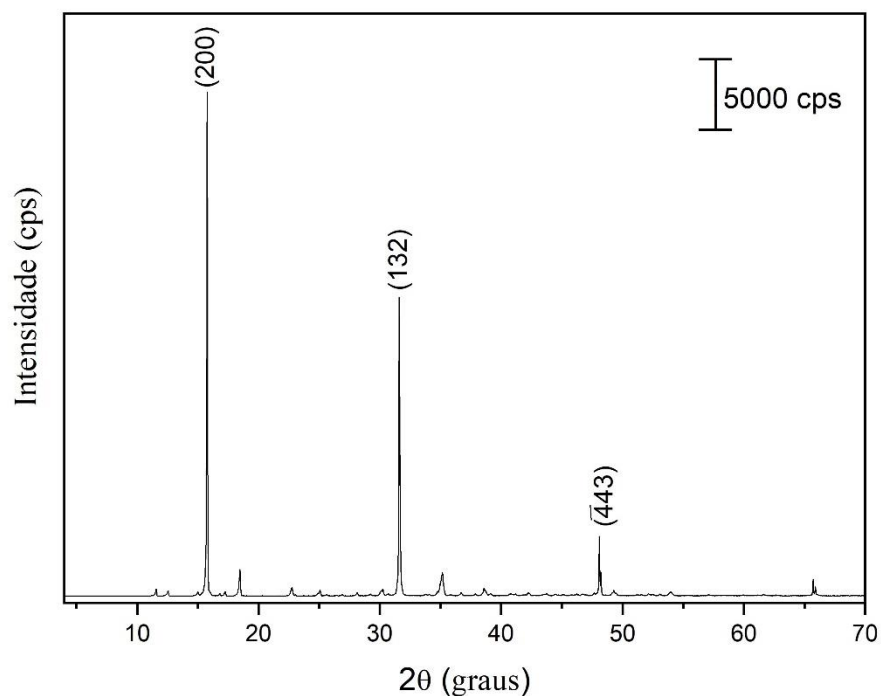


Figura 18. Difratoograma tetraborato de sódio decaidratado.

A Figura 19 apresenta os difratogramas das microesferas, controle (T1); borato (T2); *B. baussiana* e sulfluramida (T4). Pode ser observado em todos os difratogramas, a presença dos picos de difração característicos da caulinita. Para validar essa informação, foram calculados as distâncias interplanares dos dois principais picos associados a esse argilomineral, para d_{001} e d_{002} . Os cálculos de distância interplanar evidenciaram que não houve variação significativa na posição 2θ (Figura 17) dos picos de difração em relação à caulinita pura. Como já era esperado, ocorreu uma diminuição na intensidade dos picos de difração da caulinita devido ao efeito da diluição da matriz polimérica (alginato).

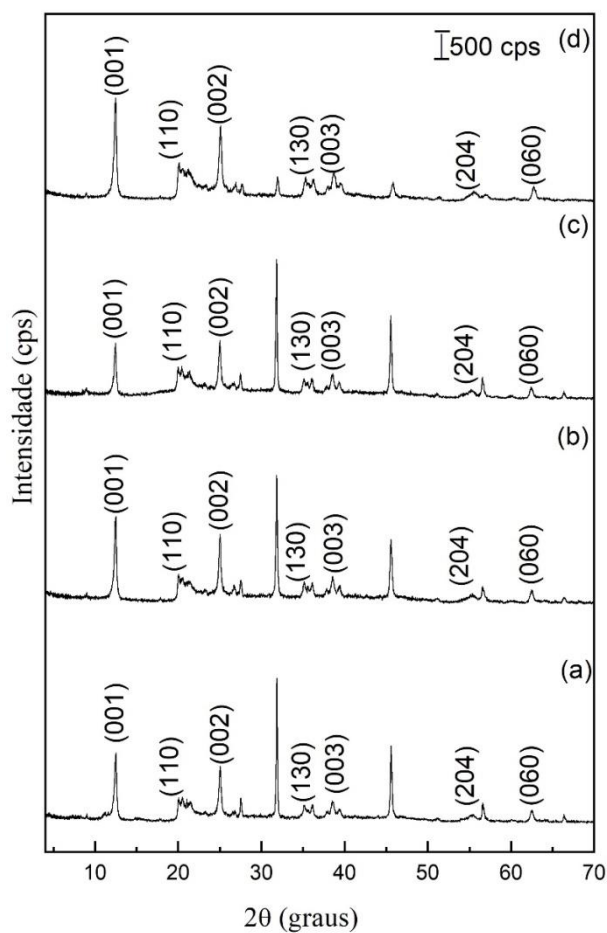


Figura 19. Difratoigramas das microesferas: (a) controle (T1); (b) borato (T2); (c) *B. bassiana* (T3) e (d) sulfluramida (T4).

A Tabela 3 apresenta as distâncias interplanares calculados por meio da Lei de Bragg para as microesferas.

Tabela 3: Distâncias interplanares das microesferas utilizadas para o ensaio biológico no campo.

Tratamentos	2θ (graus)		Distância Interplanar (Å)	
	Pico Primário	Pico Secundário	Pico Primário	Pico Secundário
T1	12,49°	25,05°	7,08	3,57
T2	12,64°	24,98°	7,00	3,56
T3	12,47°	24,98°	7,09	3,56
T4	12,43°	25,20°	7,11	3,53

Tratamentos- T1: Micro. Controle, T2: Micro. Borato T3: Micro. *B. bassiana* e T4: Micro. Sufluramida.

Na Figura 20 são apresentados espectros FTIR-ATR referentes aos componentes utilizados para a síntese das microesferas, bem como a identificação de substâncias orgânicas presentes em suas estruturas.

O alginato de sódio, Figura 20(a), possui bandas em 1537 cm^{-1} e 1376 cm^{-1} , relacionadas ao estiramento simétrico e assimétrico da ligação COO^- . A banda em 3375 cm^{-1} refere-se ao modo vibracional da ligação O-H, e a banda em 2973 cm^{-1} à deformação axial da ligação C-H (Campana e Signini, 2001; Ribeiro et al., 2004; Garay et al., 2016).

O espectro FTIR-ATR da caulinita, Figura 20(b), apresenta desdobramentos em 3688 cm^{-1} , 3648 cm^{-1} e 3617 cm^{-1} referentes ao estiramento do grupo O-H presente na caulinita. Os desdobramentos observados em 1114 cm^{-1} , 1030 cm^{-1} e 998 cm^{-1} estão associados à deformação angular da ligação Si-O. A banda de deformação Al-Al-OH em 912 cm^{-1} corresponde a presença do argilomineral, assim como a banda em 791 cm^{-1} referente a sílica livre e em 750 cm^{-1} referente a ligação Si-O-Al. As bandas intentas em 525 cm^{-1} e 462 cm^{-1} são atribuídas a dobra no plano de Si-O-Al e Si-O-Si, respectivamente (Belver et al., 2002; Madejova, 2003).

O espectro FTIR-ATR do borato de sódio, Figura 20(c), possui uma banda em 600 cm^{-1} atribuída à deformação angular da ligação O-B-O e em 814 cm^{-1} referente à ligação B-O-B. A banda em 939 cm^{-1} é referente à ligação B-O. O estiramento da ligação B-O- Na^+ está caracterizado na banda em 1340 cm^{-1} , a banda em 1010 cm^{-1} é referente ao estiramento assimétrico B-O (Peak et al., 2003; Nakamoto, 2006).

A Figura 20(d) apresenta o espectro FTIR-ATR do fungicida microbiológico formulado a partir de esporos do fungo *B. bassiana*. A banda em 2928 cm^{-1} é atribuída ao estiramento da ligação C-H. A banda em 1741 cm^{-1} refere-se ao estiramento C=O do éster, evidenciado pela banda em 1161 cm^{-1} da ligação C-O. A banda em 725 cm^{-1} refere-se às ligações do benzeno substituído e a banda em 1465 cm^{-1} é referente à vibração em tesoura da ligação CH_2 (Lopes e Fascio, 2004).

O espectro FTIR-ATR da sulfluramida, Figura 20(e), apresenta uma banda em 3383 cm^{-1} que pode ser atribuída à água presente na solução, já a banda em 1632 cm^{-1} é referente à ligação C-N-H (Lopes e Fascio, 2004). O espectro praticamente ausente de bandas da sulfluramida sugere uma baixa concentração deste composto no material analisado.

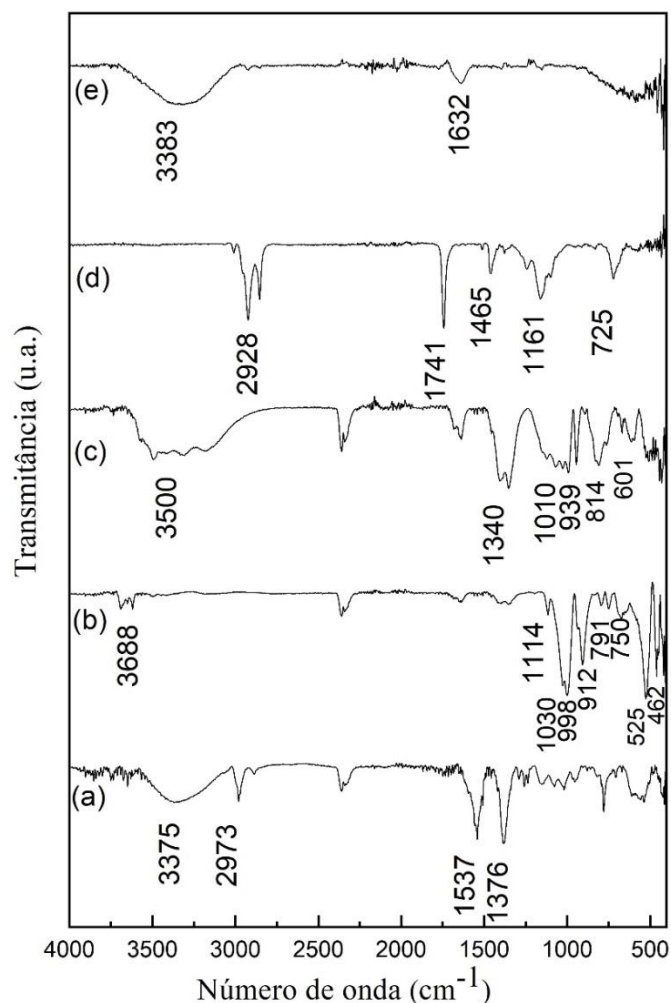


Figura 20. Espectros FTIR-ATR dos reagentes utilizados (a) alginato de sódio; (b) caulinita; (c) borato de sódio; (d) *B. bassiana* e (e) sulfluramida.

Os espectros FTIR-ATR da Figura 21 referem-se às microesferas sintetizadas com os reagentes descritos anteriormente. As bandas na região acima de 3000 cm^{-1} são atribuídas ao estiramento da ligação O-H de hidratação de alginato confirmado anteriormente. As bandas em 1619, 1633, 1605 e 1633 cm^{-1} , Figura 22 (a, b, c e d, respectivamente), estão relacionadas à deformação simétrica da ligação COO^- do alginato de sódio, já as bandas observadas em 528 (b e d), 519 (c) e 524 cm^{-1} referem-se à dobra no plano da ligação Si-O-Al da caulinita. Uma vez que não houve deslocamento significativo das bandas, pode-se inferir que não há interação forte entre os grupos funcionais dos compostos orgânicos e o material inorgânico. A diminuição na intensidade destas bandas é devido ao efeito de diluição do argilomineral na matriz orgânica polimérica.

As bandas em 904 cm^{-1} (b e d) e 906 cm^{-1} (a e c) cm^{-1} são atribuídas às ligações Al-OH da caulinita. As ligações Si-O da argila também se mantiveram, informação que também pode ser confirmada pela presença de bandas em 995, 1003, 1003 e 1006 cm^{-1} , Figura 21 (a, b, c e d, respectivamente).

A banda em 1344 cm^{-1} , Figura 21(b), refere-se ao estiramento da ligação B-O do borato de sódio, a banda em 1411 cm^{-1} , Figura 21(c), pode ser atribuída à vibração em tesoura da ligação CH_2 da *B. bassiana*.

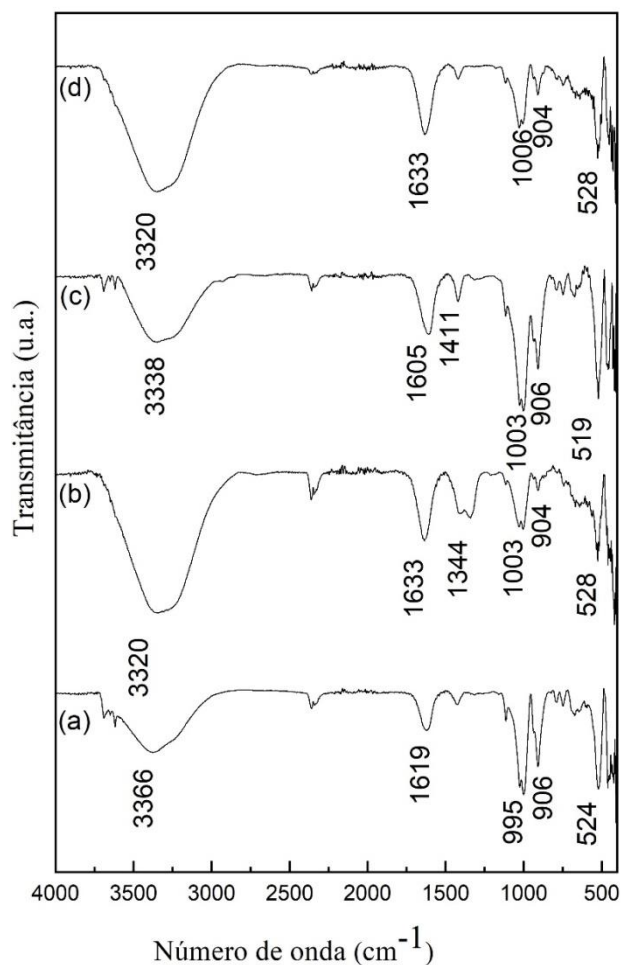


Figura 21. Espectros de FTIR-ATR das microesferas de (a) controle (T1); (b) borato de sódio (T2); (c) *B. bassiana* (T3) e (d) sulfluramida (T4).

A Figura 22 apresenta as curvas TGA-DTA para o biopolímero alginato de sódio utilizado na síntese das esferas. Na curva TGA é possível observar quatro etapas distintas de decomposição térmica, estas etapas foram determinadas com o auxílio da primeira derivada da curva do TGA, não apresentada aqui. A primeira decomposição térmica ocorre no intervalo de temperatura entre 25 °C a 160 °C , com perda de massa de 13%. Neste intervalo de temperatura, a DTA mostra a presença de um pico endotérmico relacionado à perda de água de hidratação (Soares et al., 2004). A segunda

etapa, com intervalo de temperatura entre 160 e 320 °C apresenta perda de massa igual a 36%. Nesta etapa, a curva DTA apresenta um processo exotérmico que pode ser atribuída a decomposição do material proveniente da carbonização das cadeias poliméricas do alginato. A terceira etapa de decomposição térmica, compreendida entre 320 °C e 500°C apresenta perda de massa de 9%. Por meio da análise de DTA pode-se observar a presença de um pico exotérmico neste intervalo de temperatura, que é referente também à decomposição de composto orgânico (Dong et al., 2011; Jana et al., 2015). A quarta etapa de decomposição, que ocorre entre 500 °C e 640 °C apresenta perda de massa igual a 18%. Nesse evento de temperatura, a DTA indicou à presença de um pico exotérmico, atribuído a formação de Na_2CO_3 (Velings e Mestdagh, 1995; Popa e Lisa, 2008). Após 640°C, houve a formação de resíduos estáveis carbonizados com cerca de 24% de massa.

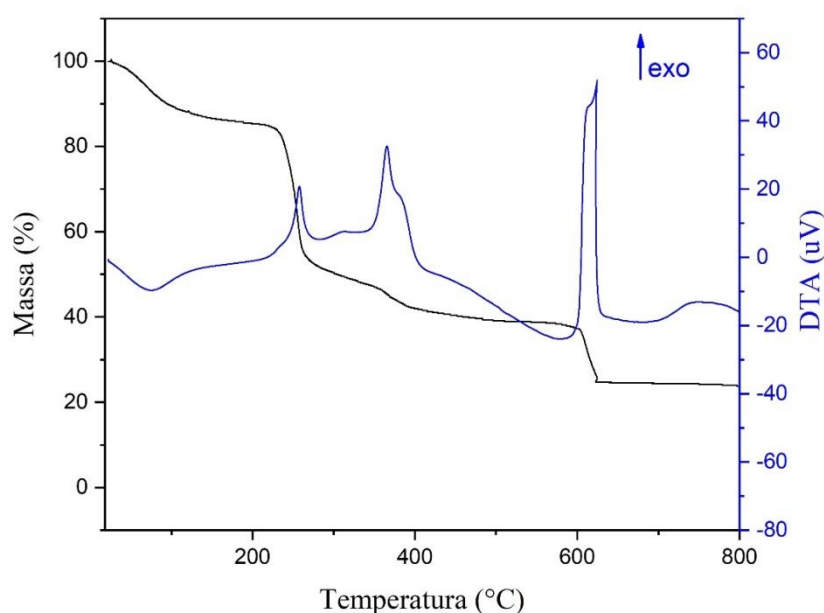


Figura 22. Curvas de análise termogravimétrica e térmica diferencial para o alginato de sódio.

A Figura 23 apresenta as curvas de TGA-DTA para a argila caulinita. A curva TGA apresenta duas etapas distintas de decomposição térmica. A primeira etapa observada, no intervalo entre a temperatura ambiente e 100 °C ocorre uma perda de massa igual a 4%. Nessa etapa, a DTA apresenta um pico endotérmico, referente à perda de moléculas de água adsorvida na argila. A segunda etapa, compreendida na região de temperatura entre 300 °C a 700 °C ocorre uma perda de massa igual a 10%. Esse evento é endotérmico, como apresentado na DTA, refere-se à desidroxilação da

estrutura cristalina da argila, a qual é transformada em metacaulinita (Karathanais & Hajek, 1982; Gardolinski et al., 2003; Oliveira et al., 2010). O resíduo de massa obtido ao final da análise foi de 86%.

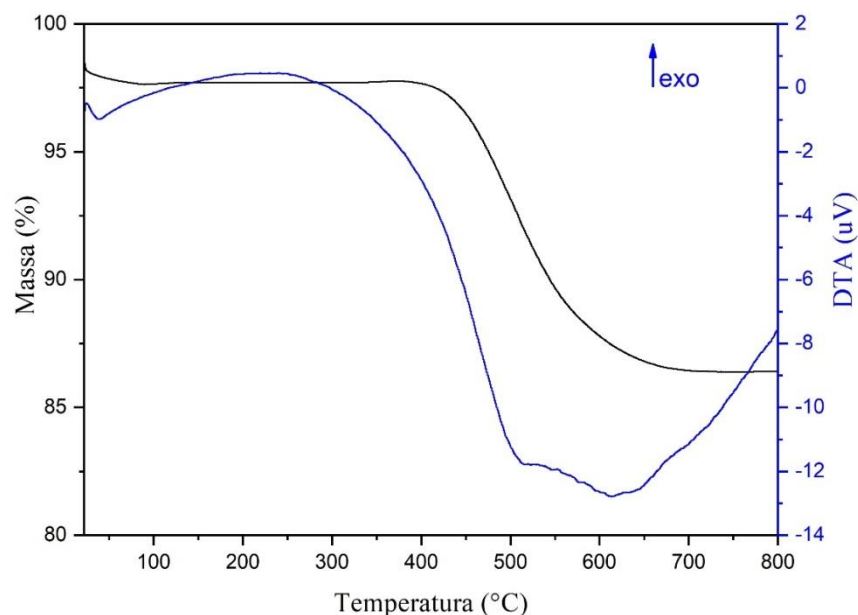
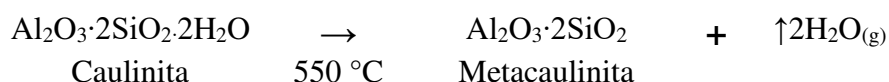


Figura 23. Curvas de análise termogravimétrica e térmica diferencial para a caulinita.

A transformação da caulinita em metacaulinita é apresentada na equação a seguir:



O TGA-DTA do tetraborato de sódio decaidratado está representado na Figura 24. Esse material apresenta um processo de decomposição dentro do intervalo de temperatura estudado. A primeira etapa de decomposição térmica, vai da temperatura ambiente até aproximadamente 360 °C, com perda de 45% em massa, é correspondente à remoção de água cristalina da estrutura do borato. Nesta etapa, a curva DTA mostra a presença de um processo endotérmico (Derun e Senberber, 2014; Guo et al., 2018). O resíduo obtido após a decomposição foi de 55%.

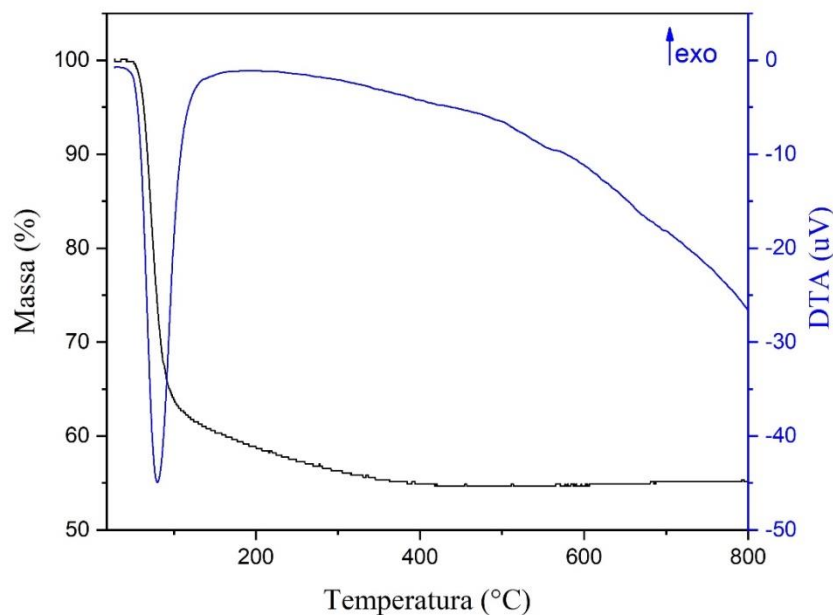


Figura 24. Curvas de análise termogravimétrica e térmica diferencial para o tetraborato de sódio decaidratado.

As curvas de análise termogravimétrica (TGA) e análise térmica diferencial (DTA) para os materiais híbridos orgânico-inorgânico sintetizados são apresentados na Figura 25.

Nas curvas TGA-DTA, apresentadas de nas Figuras 25 (a e d), é possível observar que a decomposição térmica ocorre em uma única etapa. Nessas microesferas, a primeira etapa de decomposição ocorre da temperatura ambiente até aproximadamente 130 °C e representa perda de 58% e 71% da massa total, respectivamente. Nessa etapa, a DTA apresenta um pico endotérmico referente à perda de água nas microesferas. Os resíduos desses dois materiais são respectivamente, 39 e 27% em massa.

A TGA-DTA apresentada nas Figuras 25 (b e c), referentes a microesferas de borato de sódio (T2) e *B. bassiana* (T3), mostram apenas um evento de decomposição térmica. Esse único evento compreendido entre 25 e 130 °C apresenta perdas de massa iguais a 74% para a microesferas com tetraborato de sódio e 70% para a microesfera com esporos da *B. bassiana*. A DTA, indica um pico endotérmico referente a perda de água. Os resíduos obtidos, praticamente óxidos, foram de 26 e 30%, respectivamente.

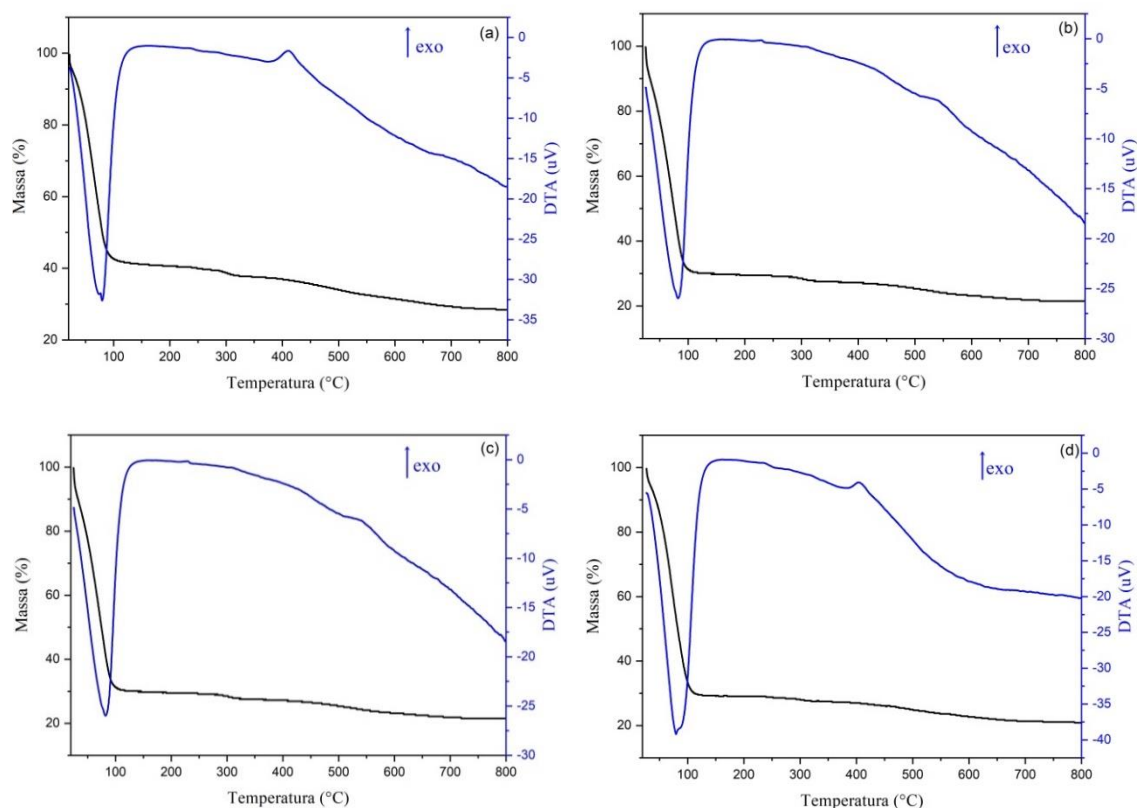


Figura 25. Curvas de análise termogravimétrica e térmica diferencial para as microesferas: (a) controle (T1); (b) borato de Sódio (T2); (c) *B. bassiana* (T3) e (d) sulfluramida (T4).

4.1.2 Caracterização das microesferas utilizadas para o Bioensaio 2 - Pastagem

Os difratogramas para as microesferas utilizadas no bioensaio no pasto são apresentados na Figura 26. As distâncias inteplanares (d_{001} e d_{002}) encontrados por meio da equação de Bragg são apresentados na Tabela 4, os valores são coincidentes com os valores reportados na literatura para a fase cristalina da caulinita (Ikeda et al., 2000; Cheong and Zhitomirsky, 2008). Os demais picos identificados pelos índices de Miller são os mesmos apresentados na Figura 17, mostrando que as ligações da caulinita não foram rompidas após a síntese.

Tabela 4: Distância interplanar das microesferas utilizadas para o ensaio biológico no pasto.

Tratamentos	2 θ (graus)		Distância interplanar (Å)	
	Pico Primário	Pico Secundário	Pico Primário	Pico Secundário
T2	12,50°	25,00°	7,07	3,55
T7	12,59°	25,10°	7,02	3,54
T8	12,53°	25,05°	7,05	3,55
T9	12,44°	24,96°	7,10	3,56

Tratamentos- T2: Micro. Controle com borato, T6: Micro. com 2,5 g borato e *B. bassiana*; T7: Micro. com 5 g borato e *B. bassiana* e T8: Micro. com borato e clorpirifós.

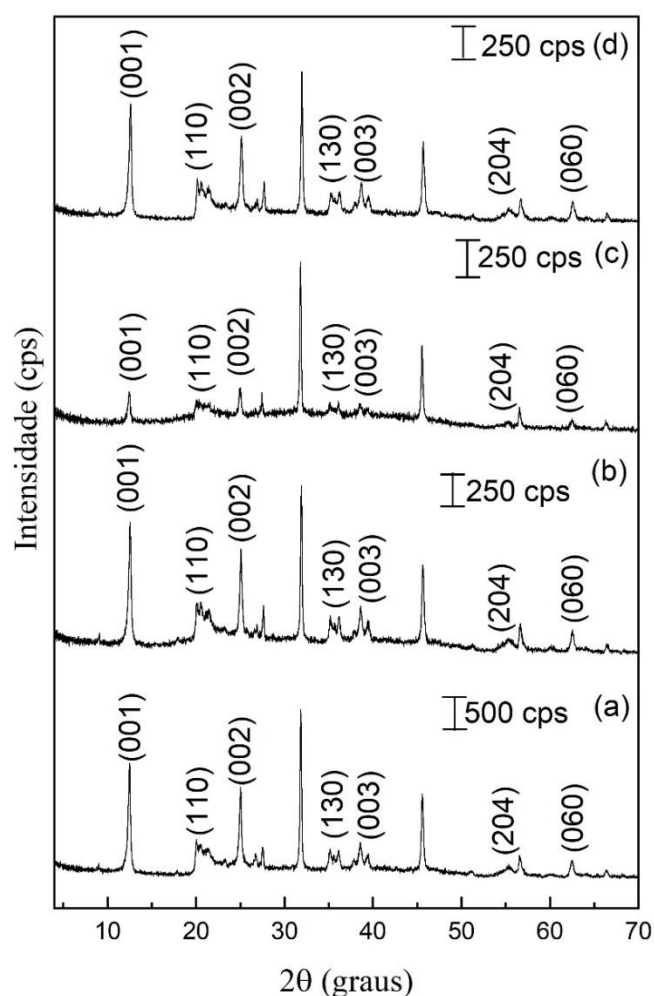


Figura 26. Difrátogramas das microesferas: (a) controle com borato (T2); (b) 2,5 g borato e *B. bassiana* (T6); (c) 5 g borato e *B. bassiana* (T7) e (d) borato e clorpirifós (T8).

Os espectros de FTIR-ATR para os materiais precursores a síntese são apresentados na Figura 27.

A Figura 27(a) mostra o espectro FTIR-ATR do biopolímero alginado em pó. O aparecimento da banda larga na região de 3400 cm⁻¹ é referente ao estiramento OH, já a banda em 2973 cm⁻¹ corresponde à deformação axial da ligação C-H. Em 1376 cm⁻¹ e

em 1537 cm^{-1} ocorrem as bandas relativas às vibrações assimétrica e simétrica, respectivamente da ligação COO^- . Esse espectro apresenta também três bandas de baixa transmitância, em 1150 e 1073 cm^{-1} , referentes ao alongamento das ligações C-C e C-O e em 1015 cm^{-1} referente a dobra da ligação OH. A banda 769 cm^{-1} corresponde a dobra da ligação C-C-H (Sartori et al., 1996; Campana e Roberta, 2001; Garay et al., 2016).

A Figura 27(b) apresenta o espectro de FTIR-ATR da caulinita. As bandas em 462 e 525 cm^{-1} estão relacionadas à deformação angular e deformação fora do plano das ligações Si-O-Si e Si-O-Al, respectivamente. A deformação angular da ligação Si-O pode ser observada por meio dos desdobramentos em 1114 cm^{-1} , 1030 cm^{-1} e 998 cm^{-1} . A banda de média intensidade em 912 cm^{-1} refere-se a deformação Al-Al-OH. A presença de sílica livre é observada em 791 cm^{-1} , já a banda em 750 cm^{-1} corresponde a Si-O-Al presente na argilomineral. A cristalinidade da caulinita é observada pelas quatro bandas vibracionais OH em 3688 , 3676 , 3648 e 3618 cm^{-1} (Belver et al., 2002; Madejova, 2003; Silva e Santana, 2013).

A Figura 27(c) apresenta o espectro FTIR-ATR do borato de sódio. A banda larga em 3364 cm^{-1} refere-se a hidroxila (OH) devido à água em sua estrutura do sal hidratado. A banda em 940 cm^{-1} apresenta um estiramento simétrico do B trigonal, já o duplete em 830 e 805 cm^{-1} é referente ao estiramento simétrico do B tetraédrico (Davis e Mott, 1980). Em 601 cm^{-1} atribuída à deformação angular da ligação O-B-O. A banda em 1010 cm^{-1} é referente à assimetria da ligação B-O, em 1340 cm^{-1} é caracterizado uma banda relacionada ao estiramento da ligação B-O- Na^+ presente no sal (Peak et al., 2004; Nakamoto, 2006).

A Figura 27(d) apresenta o espectro FTIR-ATR do fungicida *B. bassiana*, formado basicamente de três moléculas de fenilalanina e três moléculas de ácido hidroxi-isovalérico em sequência repetitiva e alternada. A absorção entre 3000 e 2800 cm^{-1} são compatíveis com a presença de carbono sp^3 referente ao estiramento C-H em (2928 cm^{-1}). O grupamento carbonila (C=O) referente a presença do grupo funcional éster é observado em 1741 cm^{-1} . Em 1161 cm^{-1} é observada uma banda referente ao estiramento da ligação C-O, já em 725 cm^{-1} a banda indica a presença de um benzeno monosubstituído. A banda de maior intensidade em 1465 cm^{-1} refere-se a deformação em forma de tesoura da ligação CH_2 presente na *B. bassiana* (Charnley 2003; Lopes e Fascio, 2004).

O espectro de uma solução de $100\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ do inseticida clorpirifós é apresentado na Figura 27(e). A banda do duplete em 2993 cm^{-1} refere-se ao alongamento simétrico e

assimétrico dos grupos metileno. Em 1530 cm^{-1} é observada uma banda vibracional da ligação P=S, já em 1474 cm^{-1} relacionado à vibração do anel. Em 732 cm^{-1} é atribuída a banda vibracional C-Cl. A banda de baixa intensidade em 1038 cm^{-1} está relacionada a ligação C-O (Nair e Pradeep, 2007; Neti e Zakkula, 2013). Para preparo da solução do inseticida clorpirifós foi utilizado o solvente acetonitrila, no espectro em 2250 cm^{-1} é observado um modo simétrico vibracional da ligação C-N desse solvente (Ennis et al., 2017).

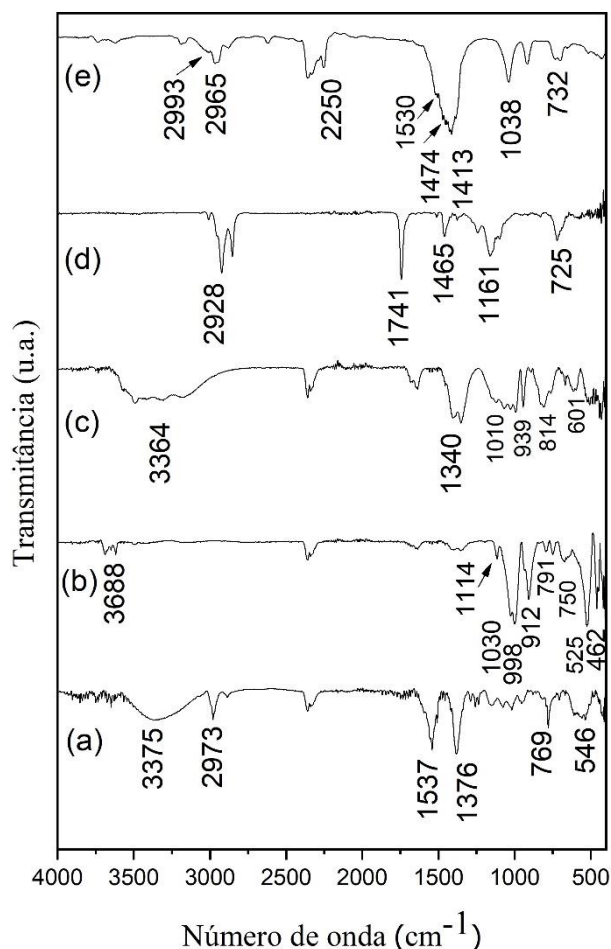


Figura 27. Espectros FTIR-ATR dos reagentes utilizados (a) alginato de sódio; (b) caulinita; (c) borato de sódio; (d) *B. bassiana* e (e) clorpirifós.

A Figura 28 apresenta os espectros FTIR-ATR obtidos das microesferas após a síntese, à partir dos precursores citados à cima. O aparecimento de bandas largas na região superior a 3300 cm^{-1} , comum a todas as microesferas, é referente ao estiramento OH proveniente da água presente nesses materiais. Bandas características da presença do alginato de sódio também são observadas nos espectros, em 1632 cm^{-1} , 1634 cm^{-1} , 1621 cm^{-1} e 1630 cm^{-1} , Figura 28 (a, b, c e d, respectivamente), sendo estas bandas relacionadas à deformação simétrica da ligação COO^- no biopolímero. As bandas em

528 cm^{-1} (a, b e d) e 525 (c) cm^{-1} são atribuídas à ligação de deformação da ligação Si-O-Al.

As bandas 1006 cm^{-1} e 1007 cm^{-1} apresentadas na Figura 28 (a, b, c e d) são atribuídas ao modo de deformação angular da ligação Si-O da caulinita. As bandas em 910 cm^{-1} (a), 912 cm^{-1} (b) e 908 cm^{-1} (c e d) são atribuídas às ligações Al-Al-OH da caulinita.

As bandas em 1335 cm^{-1} , 1335 cm^{-1} , 1330 cm^{-1} e 1338 cm^{-1} , Figura 28, referem-se ao estiramento da ligação B-O do sal borato de sódio.

A Figura 28 (b e c) apresenta bandas em 2920 cm^{-1} e 2924 cm^{-1} , respectivamente, que são compatíveis com a presença do carbono sp^3 , em que ocorre o estiramento da ligação C-H do fungicida *B. bassiana*.

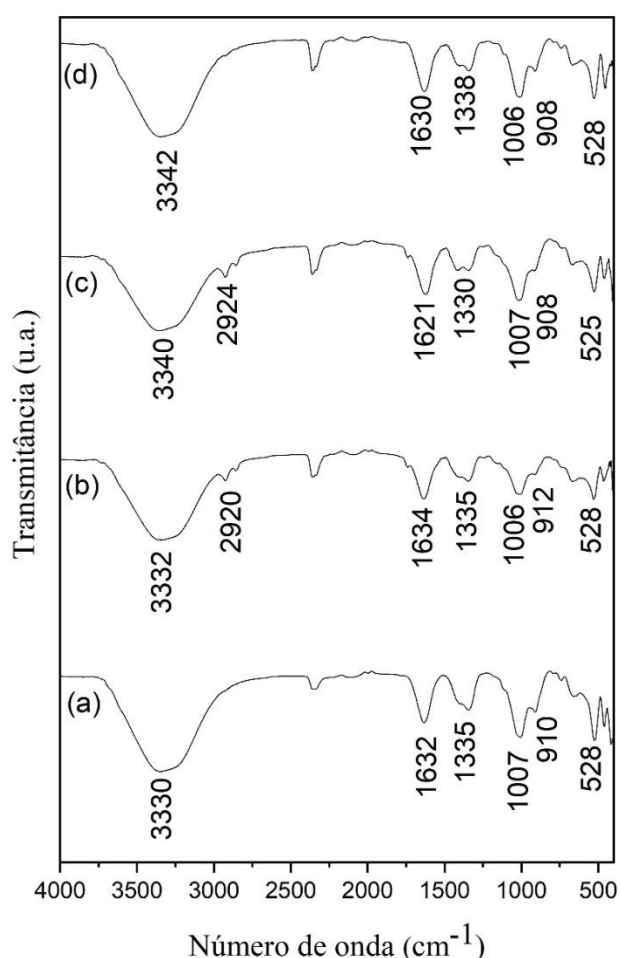


Figura 28. Espectros FTIR-ATR das microesferas: (a) controle com borato (T2); (b) 2,5 g borato e *B. bassiana* (T6); (c) 5 g borato e *B. bassiana* (T7) e (d) borato e clorpirifós (T8).

Na Figura 29 são apresentadas as curvas de TGA-DTA para as microesferas preparadas pelo método adaptado de co-acervação complexa. As TGA-DTA apresentadas nas Figuras 29 (a, c e d) mostram um único evento de decomposição

térmica, estes eventos foram determinados com o auxílio da primeira derivada da curva do TGA, não apresentada aqui. Nesse evento, que ocorre no intervalo de temperatura ambiente até 130 °C, existe uma perda de massa de 80%, 82% e 83%, respectivamente para as microesferas controle com borato (T2), 5,0 g de borato e *B. bassiana* (T7) e clorpirifós (T8). A curva DTA indica a presença de eventos endotérmicos relacionados à perda de água de hidratação nesses materiais. O resíduo obtido ao final do processo foi de 20% para o tratamento T2, 18% para T7 e 17% para T8.

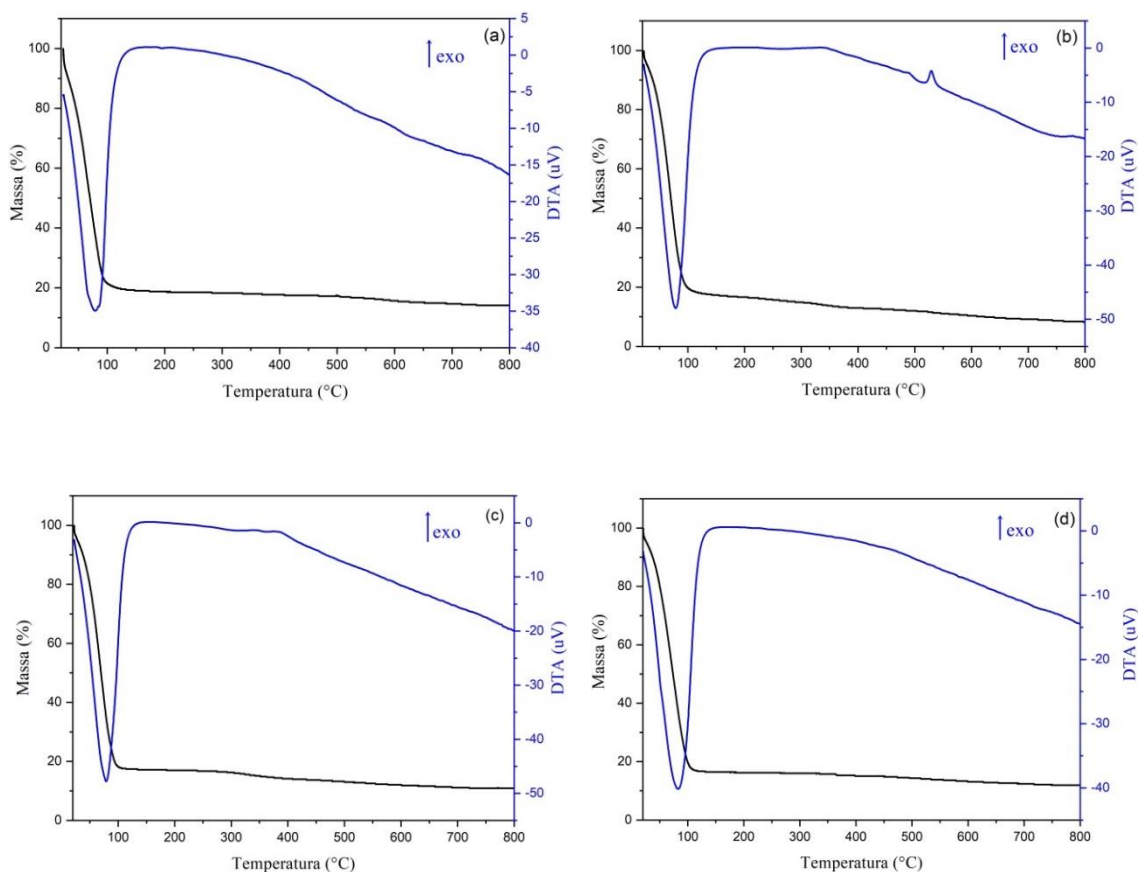


Figura 29. Curvas de análise termogravimétrica e térmica diferencial para as microesferas: (a) controle com borato (T2); (b) 2,5 g borato e *B. bassiana* (T6); (c) 5 g borato e *B. bassiana* (T7) e (d) borato e clorpirifós (T8).

A Figura 29 (b) apresenta um evento de decomposição observado na TGA. O evento entre 25 °C e 130 °C apresenta perda de massa igual a 82%. A DTA apresenta um pico endotérmico, o qual está relacionado à desidratação das microesferas. O resíduo final foi de 18% de massa.

4.1.2.1 Estudos de Liberação “*in vitro*”

Serão apresentados a seguir os resultados da liberação “*in vitro*” do tetraborato de sódio comum em todas as microesferas e do inseticida clorpirifós presente apenas na microesfera T8.

A liberação do boro ocorreu por um processo conhecido como difusão. A água por meio de um processo espontâneo penetra nas microesferas por fissuras ou poros, iniciando uma competição entre a matriz e a água pelo agroquímico. Como a microesfera apresenta maiores quantidades do soluto ocorre a migração do micronutriente para a região de menor concentração até o equilíbrio, em solução (MI, 1997; Paula et al., 2010; Kleinubing et al., 2012).

A Figura 30 (a) e (c) apresentam as curvas de liberação do boro presente nas microesferas T2 e T7. A quantidade total de boro contido em 1,0 g da microesfera foi de 3,33 e 3,24 mg, respectivamente. A velocidade máxima de liberação do micronutriente para a solução ocorreu em um período de 1 h, atingindo 100% de liberação. A microesfera T7 foi sintetizada com uma quantidade maior de boro. No entanto, não foi observada uma grande quantidade de boro liberada como apresentada no gráfico (Figura 30 (c)), isso pode ter sido causado pela diminuição da viscosidade após a adição do sal à suspensão, fazendo com que percolação na proveta fosse mais rápida, desse modo às esferas produzidas foram menores como evidenciada na Tabela 2.

As microesferas ilustradas em (b) e (d) liberaram 100% do boro em até 1 h, sobre condição ácida. A liberação desse micronutriente em 1,0 grama de microesfera foi de 3,0 mg para o T6 e 3,56 mg para a esfera T8 com princípio ativo do clorpirifós. Após esse tempo, a concentração de boro na solução permanece praticamente constante em torno de $1,6 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ e $2,3 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ para os tratamentos T6 e T8, respectivamente.

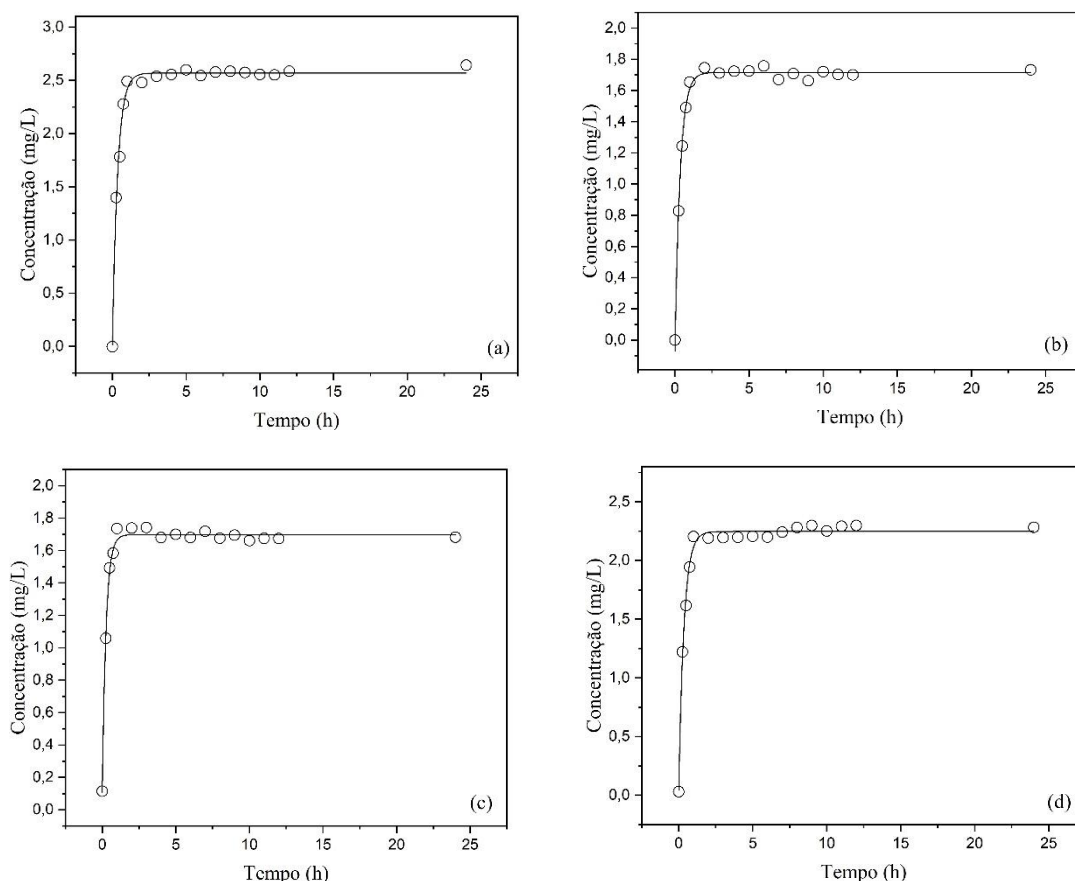


Figura 30. Quantidade de Boro em solução em função do tempo em estudos de liberação “*in vitro*” para as microesferas: (a) controle com borato (T2); (b) 2,5 g borato e *B. bassiana* (T6); (c) 5 g borato e *B. bassiana* (T7) e (d) borato e clorpirifós (T8).

Após a análise com auxílio da curva padrão determinou-se a quantidade de clorpirifós presente nas esferas. A quantidade total de clorpirifós contido em 1 g de microesfera foi de 23,7 μg .

Um gráfico de concentração em função do tempo foi construído a partir dos valores de concentração de clorpirifós obtidos. Este gráfico está apresentado na Figura 31.

Na primeira hora de experimento é possível perceber o aumento da taxa de liberação acumulada de clorpirifós, em torno de 0,20 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$. Após 3 h houve liberação de mais de 86% do inseticida. Após 7 h de estudo não foi observada a presença do inseticida nas alíquotas removidas, provavelmente ocasionada pela degradação do clorpirifós.

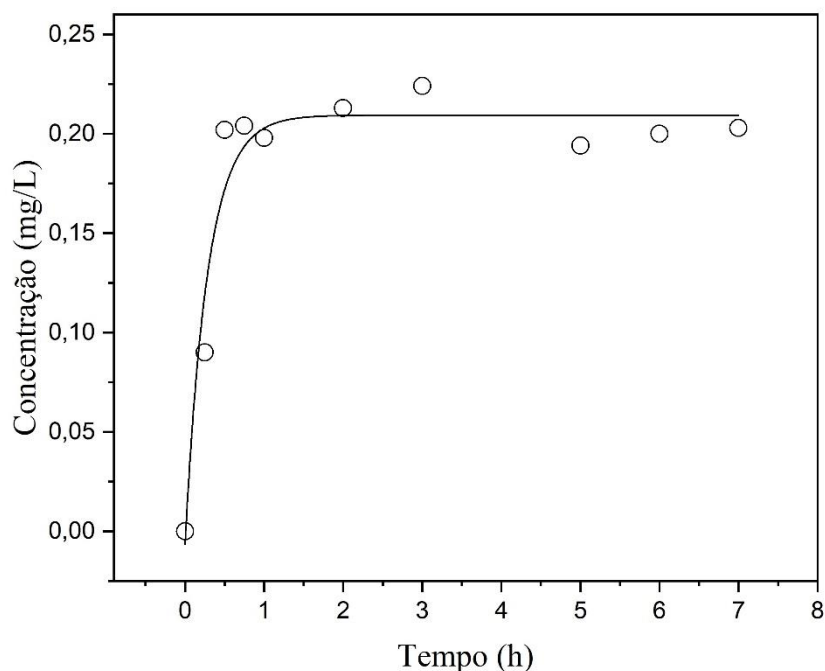


Figura 31. Quantidade de clorpirifós em solução (acetoneitrila) em função do tempo em estudos de liberação “in vitro” para a microesfera T8.

Foi realizado também um estudo de liberação “*in vitro*” do inseticida em água. No entanto, não foram obtidos resultados conclusivos, já que não foram observados picos bem definidos no UHPLC referentes ao clorpirifós nos intervalos de tempo estudados. Contudo, no estudo de lixiviação em água realizado para T8, no tempo de contato de 15 dias, houve a percolação do inseticida no solo, onde cerca 46,5% do princípio ativo foi detectado.

Ao final das 48 h de experimento, as microesferas sintetizadas se mantiveram na forma física constante. Desse modo, as iscas podem ser utilizadas em ambientes úmidos sem se fragmentar.

4.1.2.2 Estudo de Lixiviação

A Figura 32 apresenta os resultados do processo de lixiviação de boro presente nos materiais sintetizados. Como se esperava, as quantidades lixiviadas foram maiores para os tratamentos T2 e T8, pois apresentavam mais boro disponível. Diferentemente do observado nas outras duas esferas, a quantidade máxima de boro liberada ocorreu com 15 dias, com percentual próximo a 95%.

Em contrapartida, para as esferas T6 e T7 que apresentam menor quantidade de boro disponível, liberaram após as 24h iniciais 12% e 22% do micronutriente,

respectivamente. Ao final de 10 dias de contato atingiu a quantidade máxima lixiviada, aproximadamente 99%.

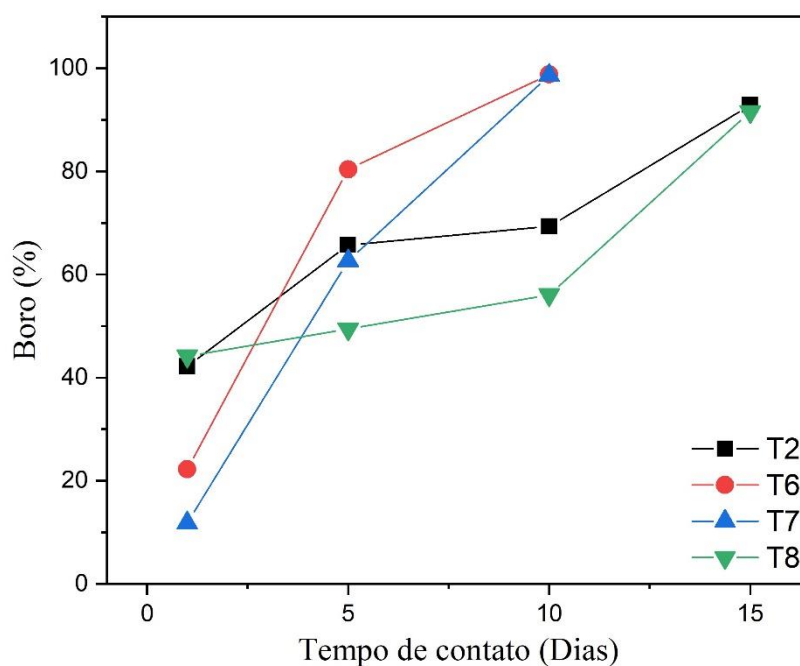


Figura 32. Gráfico do estudo de lixiviação de boro em função do tempo de contato para as microesferas: (a) controle com borato (T2); (b) 2,5 g borato e *B. bassiana* (T6); (c) 5 g borato e *B. bassiana* (T7) e (d) borato e clorpirifós (T8).

4.2 Bioensaios em laboratório

4.2.1 Bioensaio 1 – Plantação de Eucaliptos (*E. grandis*)

A Tabela 5 apresenta os dados para percentual de formigas vivas em que houve diferença significativa ($p < 0,01$) entre os tratamentos. A menor média é observada para o tratamento T5, isca comercial usual no controle químico de formigas. Não diferindo significativamente de T5, temos os tratamentos T3 e T4, essas íscas foram sintetizadas com princípios ativos da *B. bassiana* e sulfluramida. Com base nesses dados estatísticos, pode-se inferir que a mortalidade foi equivalente a comercial, desse modo as íscas sintetizadas se apresentam como um potencial formicida. Contudo, as maiores médias foram observadas para os tratamentos T0, em que não foram adicionadas nenhuma isca formicida, para o tratamento T2 que contém borato de sódio seguido da microesfera controle T1.

Tabela 5: Sobrevivência (%) de *Atta* spp. por tratamento.

Tratamentos	Sobrevivência (%)
T0	66,92 A
T1	23,84 AB
T2	31,84 A
T3	15,56 BC
T4	12,88 BC
T5	8,32 C

Tratamentos – T0: Testemunha; T1: Micro. Controle, T2: Micro. Borato de sódio, T3: *B. bassiana*, T4: Micro. Sulfluramida e T5: Mirex[®]. Médias seguidas de mesma letra maiúscula na coluna e minúscula na linha, não diferem entre si pelo teste Tukey a 5% de probabilidade.

O histograma apresentado na Figura 33 mostra o percentual de sobrevivência das formigas *Atta* spp. em função do tempo de avaliação (dias) ($p < 0,01$). O número de formigas variou ao longo do tempo de avaliação. A maior média, como esperada foi para o primeiro dia com 100% sobrevivência desses insetos. Ao decorrer dos dias de avaliação, nota-se a diminuição do percentual de formigas vivas, perfazendo ao final do experimento após 120 h, menos de 20% de sobrevivência desses insetos. Etheridge e Phillips (1976) relataram em seu trabalho que as iscas Mirex causam a mortalidade de formigas cortadeiras (Hymenoptera, Formicidae) em até seis dias.

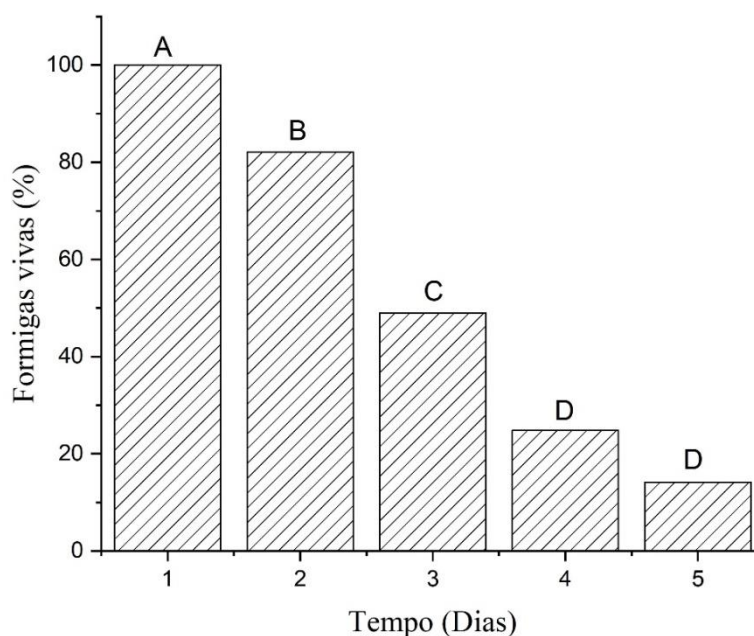


Figura 33. Histograma do Percentual de formigas vivas ao decorrer dos dias de avaliação. Rio Paranaíba, 2018.

4.2.2 Bioensaio 2 – Pastagem (*Gramineae*)

A Figura 34 apresenta o perfil em percentagem, da mortalidade de formigas ao decorrer dos dias de avaliação. Os dados estatísticos referentes a essa mortalidade são apresentadas na Tabela 6.

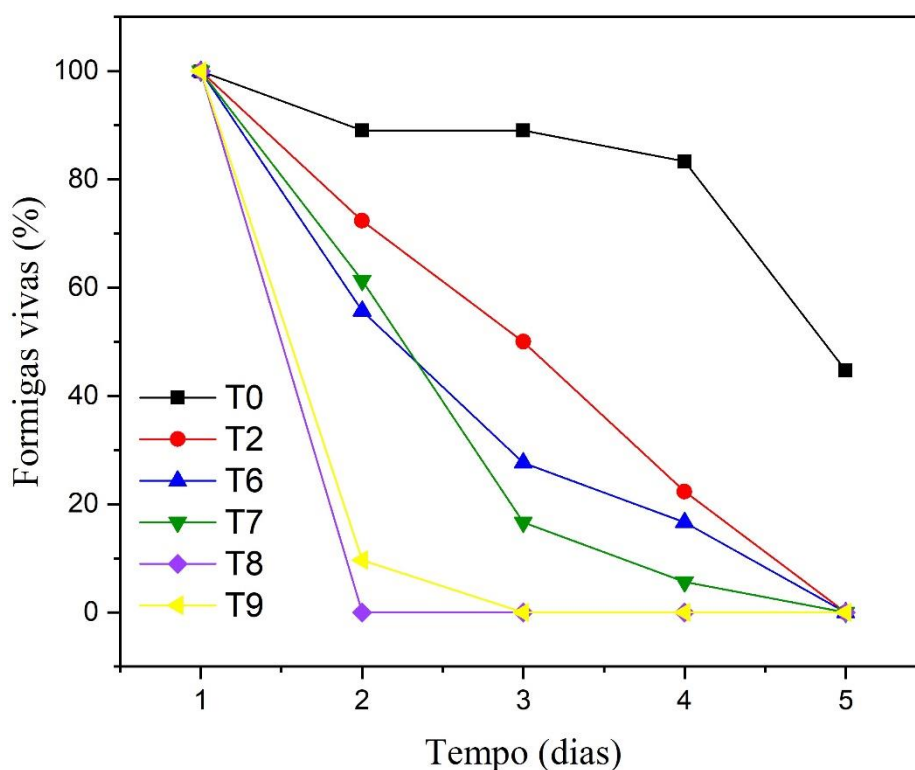


Figura 34. Percentual de formigas vivas ao decorrer dos dias de avaliação. Rio Paranaíba, 2018. Tratamentos – T0: Testemunha, T2: Micro. controle com borato, T6: Micro. 2,5 g borato e *B. bassiana*; T7: Micro. 5 g borato e *B. bassiana*, T8: Micro. Borato e clorpirifós e T9: Mirex®.

Segundo os resultados do bioensaio houve interação significativa (tratamentos *versus* dias avaliados após aplicação dos tratamentos) para a variável percentual de formigas vivas ($p < 0,01$).

As formigas foram confinadas em um recipiente fechado, e o contato com as esferas seria iminente. Desse modo, a Tabela 6 apresenta o percentual de formigas vivas ao comparar os tratamentos dentro de cada dia. Pode-se observar que todas as iscas apresentaram maiores médias de percentual de sobrevivência no primeiro dia, não diferindo significativamente.

Nos dias 2, 3 e 4, os tratamentos T8 e T9 apresentaram as menores médias. Sendo que o tratamento T8 apresentou 100% de mortalidade após 24 h de avaliação. Ao final de 120 h de experimento todas as iscas apresentaram eficiência na mortalidade de

formigas. Desse modo, pode-se inferir que essas iscas possuem uma boa eficiência no controle químico desses insetos. Vale ressaltar que, a isca T8 apresentou superioridade em relação a isca comercial Mirex[®] (T9), isca comercial mais utilizada no Brasil no combate a esses insetos.

Tabela 6: Sobrevivência (%) de *Atta* spp. (tratamento *versus* dias de avaliação).

Tratamentos	Dias				
	1	2	3	4	5
T0	100 Aa	89,00 Aa	89,00 Aa	83,33 Aab	44,67 Ab
T2	100 Aa	72,33 Aa	50,00 ABab	22,33 Bb	0,00 Bb
T6	100 Aa	55,67 Aab	27,67 BCbc	16,66 Bb	0,00 Bb
T7	100 Aa	61,,33 Aa	16,67 BCb	5,66 Bb	0,00 Bb
T8	100 Aa	0,00 Bb	0,00 Cb	0,0 Bb	0,00 Bb
T9	100 Aa	9,,67 Bb	0,00 Cb	0,0 Bb	0,00 Bb

Tratamentos – T0: Testemunha, T2: Micro. Controle com borato, T6: Micro. 2,5 g borato e *B. bassiana*; T7: Micro. 5 g borato e *B. bassiana*, T8: Micro. borato e clorpirifós e T9: .Mirex[®]. Médias seguidas de mesma letra maiúscula na coluna e minúscula na linha, não diferem entre si pelo teste Tukey a 5% de probabilidade.

4.3 Bioensaios em campo

4.3.1 Bioensaio 1 – Cultivos de Eucalipto (*E. grandis*)

A Figura 35 mostra o contato inicial das formigas do gênero *Atta* spp. com as microesferas para carregamento ao interior do ninho.



Figura 35. Imagem fotográfica de formigas coletando microesferas para serem carregadas para o ninho durante o experimento com a isca sulfluramida (T4).

Fonte: Duarte, V.G.O., 2019.

Segundo os resultados do bioensaio houve interação significativa (tratamentos *versus* dias avaliados após aplicação dos tratamentos) para a variável do número de íscas carregadas ($p < 0,01$).

A isca comercial Mirex[®], foi utilizada no presente estudo para comparar a efetividade dos tratamentos em formigas cortadeiras. Dessa forma, o carregamento de íscas foi contabilizado até que o formicida Mirex[®] fosse totalmente carregado, isso ocorreu nas primeiras 48 h. Na Tabela 7, é possível verificar que as maiores médias de carregamento dentro dos tratamentos no dia 1 foram apresentadas para as íscas borato de sódio e Mirex[®], que apresentaram diferença significativa dos demais tratamentos. No dia 2, o Mirex[®] apresentou maior média, diferindo dos demais, enquanto para os dias seguintes não houve diferença estatística entre os tratamentos, isso porque nas primeiras 48 h, alguns dos tratamentos já haviam obtido um carregamento percentual de 100% ou por terem sido removidos da trilha (recrutamento).

Tabela 7: Número de íscas carregadas por *Atta* spp. ao longo dos dias após a aplicação das íscas. Rio Paranaíba, Minas Gerais, Março a Abril de 2018.

Tratamentos	Dias							
	1	2	4	7	14	21	35	60
T1	0,66 Ba	-	-	-	-	-	-	-
T2	24,33 Aa	0,33 Bb	-	-	-	-	-	-
T3	0,66 Ba	-	-	-	-	-	-	-
T4	2,33 Ba	-	-	-	-	-	-	-
T5	26,33 Aa	11,00 Ab	-	-	-	-	-	-

Tratamentos - T1: Micro. Controle, T2: Micro. Borato de sódio, T3: *B. bassiana*, T4: Micro. Sulfluramida e T5: Mirex[®]. Médias seguidas de mesma letra maiúscula na coluna e minúscula na linha, não diferem entre si pelo teste Tukey a 5% de probabilidade.

Para a comparação de cada tratamento no decorrer dos dias, nota-se novamente que apenas a isca com borato e o tratamento Mirex[®] apresentaram média superior no dia 1 e diferiram dos demais dias.

A variável indecisão apresenta interação significativa ($p < 0,05$) para tratamentos *versus* dias avaliados após aplicação das íscas. O teste de indecisão foi realizado para verificar se as formigas teriam aceitação ao entrarem em contato com as microesferas. A Tabela 8 apresenta os resultados de indecisão pelas *Atta* spp. em relação aos diferentes tratamentos e diferentes períodos de tempo (dias). Para essa variável ao comparar os tratamentos dentro de cada dia, pode-se observar que as íscas borato e controle apresentaram maiores médias de indecisão no primeiro dia, ao passo que, a isca comercial Mirex[®] e as microesferas com *B. bassiana* e sulfluramida, apresentaram a

menor indecisão. Para os demais dias não foram observadas diferenças significativas, o que pode ser justificado por não haver mais iscas para o carregamento, ou pelo fato das formigas já terem removido as iscas das trilhas.

Tabela 8: Indecisão pelas *Atta* spp. Rio Paranaíba, Minas Gerais, Março a Abril de 2018.

Tratamentos	Dias							
	1	2	4	7	14	21	35	60
T1	1,67 ABa	-	-	-	-	-	-	-
T2	3,67 Aa	-	-	-	-	-	-	-
T3	0,00 Ba	-	-	-	-	-	-	-
T4	0,33 Ba	-	-	-	-	-	-	-
T5	0,00 Ba	-	-	-	-	-	-	-

Tratamentos - T1: Micro. Controle, T2: Micro. Borato de sódio, T3: *B. bassiana*, T4: Micro. Sulfluramida e T5: Mirex[®]. Médias seguidas de mesma letra maiúscula na coluna e minúscula na linha, não diferem entre si pelo teste Tukey a 5% de probabilidade.

A variável recrutamento apresenta diferença significativa ($p < 0,05$) para dias *versus* tratamentos. A Tabela 9 apresenta o recrutamento de iscas em função dos tratamentos e os dias de aplicação. Para a comparação dos tratamentos dentro de cada dia avaliado e o paralelo de cada tratamento em função dos dias, o uso de sulfluramida apresentou maior recrutamento apenas para o dia 2. As únicas iscas que não emitiram odor após a síntese foram a sulfluramida e o controle, desse modo o cheiro do polímero alginato pode ter influenciado na não aceitação dessa isca pelas formigas (Margarete et al., 2007).

Tabela 9: Número de iscas retiradas do ninho (recrutamento) por *Atta* spp. Rio Paranaíba, Minas Gerais, Março a Abril de 2018.

Tratamentos	Dias							
	1	2	4	7	14	21	35	60
T1	8,83 Ab	29,00 Aa	12,00 Ab	-	-	-	-	-
T2	1,00 Aa	0,00 Ba	0,33 Aa	1,66 Aa	-	-	-	-
T3	0,66 Aa	1,00 Ba	1,00 Aa	-	-	-	-	-
T4	1,66 Aa	2,66 Ba	5,33 Aa	2,00 Aa	-	-	-	-
T5	0,00 Aa	0,00 Ba	0,00 Aa	-	-	-	-	-

Tratamentos - T1: Micro. Controle, T2: Micro. Borato de sódio, T3: *B. bassiana*, T4: Micro. Sulfluramida e T5: Mirex[®]. Médias seguidas de mesma letra maiúscula na coluna e minúscula na linha, não diferem entre si pelo teste Tukey a 5% de probabilidade.

Ainda segundo os dados da Tabela 9 é possível observar que partir do dia 14, não houve recrutamento para qualquer tratamento avaliado. O Mirex[®] não apresentou recrutamento durante todo o processo de avaliação, o que revela a boa aceitação dessa isca pelas formigas.

O recrutamento é parte de um protocolo utilizado para verificar a não rejeição pelas íscas testadas, que são removidas do interior dos formigueiros e, ou, das trilhas, caso seja perceptível pelas formigas algum material que não as satisfaça ou que possa causar dano ao ninho (Jacques et al., 2000). Desse modo, foi realizada uma análise no qual se objetivou verificar se os tratamentos realizados teriam uma boa aceitação por parte das formigas do gênero *Atta* spp.

Como os formigueiros não foram abertos utilizou-se para determinar a mortalidade das formigas uma diminuição do seu fluxo durante oito avaliações, em um período total de 60 dias. Para os resultados do fluxo de formigas/min, não houve efeito da interação, contudo houve diferença ($p < 0,01$) entre os tratamentos avaliados. A Tabela 10 mostra que o fluxo de formigas/min foi superior quando se aplicou o controle, que diferiu apenas no uso das íscas *B. bassiana* e Mirex[®], estes não apresentaram diferenças entre si e exibiram o menor fluxo.

Tabela 10: Fluxo de *Atta* spp. por minuto. Rio Paranaíba, Minas Gerais, Março a Abril de 2018.

Tratamentos	Fluxo de Formigas/min
T1	10,29 AB
T2	22,00 A
T3	1,83 C
T4	15,29 AB
T5	5,83 BC

Tratamentos - T1: Micro. Controle, T2: Micro. Borato de sódio, T3: *B. bassiana*, T4: Micro. Sulfluramida e T5: Mirex[®]. Médias seguidas de mesma letra maiúscula na coluna e minúscula na linha, não diferem entre si pelo teste Tukey a 5% de probabilidade.

Como as microesferas controle não apresenta nenhum agroquímico em potencial em sua composição, o alto fluxo observado na Tabela 10 foi de encontro ao resultado esperado.

Os testes anteriores mostraram que as íscas com borato de sódio apresentaram maiores médias para carregamento e para o fluxo de formigas, pode-se pensar que a isca agiu como um atrativo e não como um inseticida. No entanto, no decorrer do experimento pode-se observar (avaliação no campo) que o fluxo de formigas diminuiu.

A Figura 36 apresenta um histograma do perfil de íscas carregadas/contabilizadas no período de tempo de 60 dias, pode-se observar que as íscas Mirex[®] e com borato tiveram 100% de carregamento, diferentemente do que aconteceu com as demais íscas.

O sulfluramida incorporado as microesferas, pode não ter causado efeito em uma diminuição do fluxo das formigas, como a isca comercial Mirex[®]. Isso provavelmente ocorreu porque as microesferas que foram carregadas também foram recrutadas.

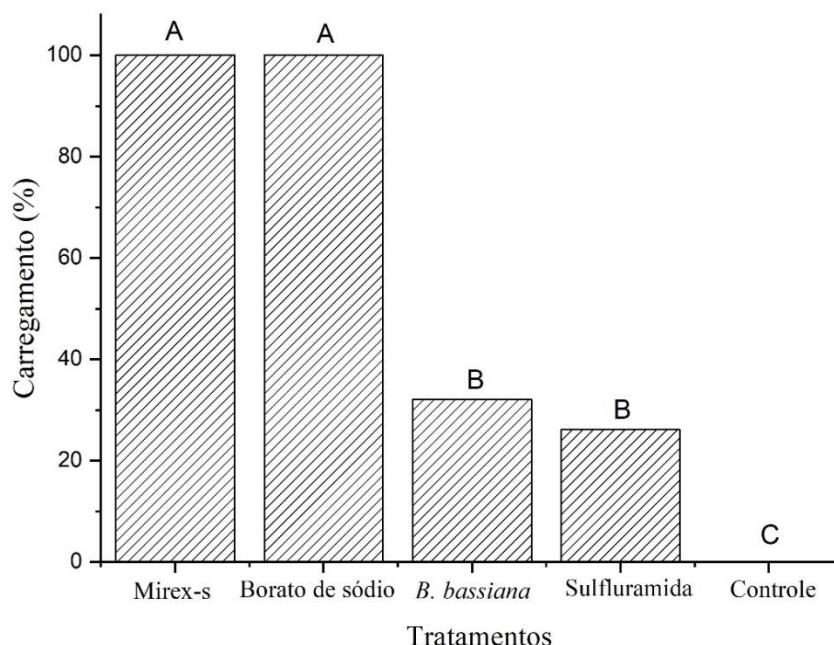


Figura 36. Histograma do Percentual de carregamento dos tratamentos utilizados no bioensaio.

As íscas com o princípio ativo sulfluramida da marca Mirex[®] e as microesferas com borato apresentaram as maiores médias de carregamento, não diferindo ao teste Tukey ao nível de 5% de probabilidade. Já as íscas com sulfluramida e *B. bassiana* não apresentaram diferença significativa, tendo a segunda menor média entre os sistemas estudados, o controle apresentou a menor média dentre as íscas avaliadas.

As microesferas com *B. bassiana* apresentaram as menores médias nas avaliações: íscas carregadas, recrutamento e indecisão. Elas também apresentaram menor média no fluxo de formigas, com um percentual de carregamento médio inferior a 40%. Isso mostra que o fungicida foi eficiente no controle dos fungos dentro da panela, e posteriormente causaram efeitos deletérios no formigueiro, levando à morte desses insetos.

A Tabela 11 apresenta os dados referentes ao número de folhas carregadas pela *Atta* spp. Para esta variável não houve interação significativa, mas observou-se efeito isolado dos tratamentos e dos dias avaliados após aplicação das microesferas ($p < 0,05$).

Tabela 11: Número de folhas carregadas pela *Atta* spp. por tratamento. Rio Paranaíba, Minas Gerais, Março a Abril de 2018.

Tratamentos	Número de folhas carregadas
T1	6,50 ABC
T2	13,46 AB
T3	1,33 C
T4	13,60 A
T5	3,50 BC

Tratamentos - T1: Micro. Controle, T2: Micro. Borato de sódio, T3: *B. bassiana*, T4: Micro. Sulfluramida e T5: Mirex[®]. Médias seguidas de mesma letra maiúscula na coluna e minúscula na linha, não diferem entre si pelo teste Tukey a 5% de probabilidade.

O tratamento com a isca comercial Mirex[®] e com a microesfera incorporada com *B. bassiana* apresentou menores médias para o carregamento de folhas, corroborando com o que foi discutido anteriormente, onde esse pequeno número está associado ao baixo fluxo proveniente da morte causada pelos agroquímicos presentes nas íscas.

As maiores médias de carregamento de folhas são observadas novamente nos tratamentos com borato, sulfluramida e controle, onde o fluxo desses insetos eram maiores que aos dos demais.

4.3.2 Bioensaio 2 – Pastagem (*Gramineae*)

Os resultados do bioensaio não mostram interação significativa (tratamentos *versus* dias avaliados após aplicação dos tratamentos) para todas as variáveis avaliadas pelo teste Tukey ($p < 0,05$): fluxo de formigas, número de íscas carregadas, recrutamento, indecisão e número de folhas carregadas. Contudo, algumas das variáveis apresentaram diferença significativa no tratamento ou no dia de avaliação.

A seguir está apresentada a estatística referente a cada uma das variáveis avaliadas.

A diminuição do forrageamento após o início de aplicação das íscas pode implicar na diminuição das atividades e, ou, na mortalidade das formigas. Desse modo, objetivou-se avaliar o fluxo de formigas a fim de determinar a mortalidade desses insetos. No entanto, a análise estatística não indicou diferença significativa para a variável fluxo de formigas. Assim, as íscas testadas foram eficientes, podendo utilizá-las no combate a esses insetos. Essa informação pode ser baseada na Tabela 6, resultado do ensaio com as íscas em laboratório, onde foi verificada a toxicidade e eficiência das íscas.

Além do fluxo de formigas, as variáveis recrutamento e indecisão não apresentaram diferença significativa para os tratamentos avaliados ($p > 0,05$). O recrutamento refere-se a busca de alimento, neste caso as íscas, essa variável teve como

objetivo principal avaliar a aceitação das iscas após carregarem até as panelas dos ninhos e se as mesmas iriam remover esses materiais (Jacques et al., 2000).

A variável número de iscas carregadas apresenta diferença ($p < 0,01$) entre os dias avaliados. As microesferas com os princípios ativos apresentaram boa atratividade para as formigas, fato verificado no dia 1, em que se observa as maiores médias de carregamento. Essa rápida aceitação implica no controle de possíveis intoxicações por parte de animais, visto que as iscas não ficam muito tempo expostas (Lima et al., 2003).

A variável indecisão refere-se à capacidade de aceitação das formigas pela isca logo após o contato. A Tabela 12 apresenta os dados referentes à indecisão por *Atta* spp., houve interação significativa ($p < 0,01$). O tratamento T6 apresentou as maiores médias, essa indecisão pode estar atribuída ao odor proveniente de uma grande quantidade de *B. bassiana* presente na microesfera, diferentemente do que ocorrem no T7, em que a quantidade do fungicida foi igual para ambas, no entanto a quantidade de borato de sódio utilizada foi superior, inibindo assim o cheiro.

Tabela 12: Indecisão pelas *Atta* spp. Rio Paranaíba, Minas Gerais, Junho a Julho de 2018.

Tratamentos	Número de folhas carregadas
T2	0,042 AB
T6	0,200 A
T7	0,000 B
T8	0,42 AB
T9	0,000 B

Tratamentos – T2: Micro. Controle com borato, T6: Micro. 2,5 g borato e *B. bassiana*; T7: Micro. 5 g borato e *B. bassiana*, T8: Micro. e clorpirifós e T9: .Mirex®. Médias seguidas de mesma letra maiúscula na coluna, não diferem entre si pelo teste Tukey a 5% de probabilidade.

A Tabela 13 apresenta os dados das médias dos tratamentos avaliados e mostra diferença significativa ($p < 0,01$) para a variável número de folhas carregadas. Ainda segundo os dados da Tabela 14 é possível observar que as maiores médias são referentes as microesferas (T2), que apresentava menor quantidade de agroquímicos em sua composição. Os tratamentos T6, T7 e T8 apresentaram as menores médias, se igualando ao tratamento T9, em que se utilizou a isca comercial Mirex® e esta por sua vez não diferiu significativamente do tratamento T2.

Tabela 13. Número de folhas carregadas pelas *Atta* spp. Rio Paranaíba, Minas Gerais, Junho a Julho de 2018.

Tratamentos	Número de folhas carregadas
T2	18,17 A
T6	3,67 B
T7	7,08 B
T8	3,12 B
T9	10,17 AB

Tratamentos – T2: Micro. Controle com borato, T6: Micro. 2,5 g borato e *B. bassiana*; T7: Micro. 5 g borato e *B. bassiana*, T8: Micro. e clorpirifós e T9: .Mirex[®]. Médias seguidas de mesma letra maiúscula na coluna, não diferem entre si pelo teste Tukey a 5% de probabilidade.

5. CONCLUSÕES

Com base nos resultados obtidos, podemos concluir que a síntese das microesferas contendo os agroquímicos, tetraborato de sódio, *B. bassiana*, sulfluramida e clorpirifós foram eficientes, originando produtos inéditos na literatura.

As técnicas de caracterização utilizadas (DRXP, FTIR-ATR e TGA-DTA), forneceram informações sobre cristalinidade, composição, estrutura e análises térmicas das microesferas sintetizadas. Essas técnicas permitiram identificar características (químicas e físicas) dos materiais precursores da síntese, evidenciando a presença dos mesmos após a síntese das microesferas, as quais foram encapsuladas pelo biopolímero alginato de sódio.

Os testes de liberação “*in vitro*” para as microesferas contendo boro e clorpirifós mostraram que a taxa de liberação acumulada para a solução ocorreu em um período de 1h, atingindo 100% de liberação para o boro e 86% do inseticida clorpirifós.

Os testes de lixiviação de boro e clorpirifós mostraram o comportamento desses inseticidas contidos nas microesferas no solo. As microesferas com tetraborato de sódio apresentaram percolação de 100% em até 15 dias de tempo de contato, podendo auxiliar no processo de adubação das plantas. No entanto, em grandes quantidades essas microesferas podem vir a contaminar o lençol freático. Em contrapartida, as microesferas com o princípio ativo do clorpirifós, só foram detectados após 15 dias de contato, com apenas 46,5%.

Os testes em laboratório permitiram verificar a eficiência das iscas após o confinamento em potes plásticos. Para as microesferas utilizadas no Bioensaio 1, as iscas mais eficientes foram os tratamentos T3 e T4 que apresentavam em sua composição esporos de *B. bassiana* e o princípio ativo da sulfluramida, respectivamente. Durante período de tratamento foi verificada a diminuição das formigas ao decorrer das avaliações. Em contrapartida, no biensaio realizado nas plantações de eucalipto, a variável que avaliou a mortalidade (fluxo de formigas) apresentou maior eficiência apenas para o tratamento T3, não divergindo significativamente da isca comercial Mirex®. A variável número de folhas carregadas corroborou com os dados obtidos para o fluxo, foi considerado que diminuição do forrageamento foi causada pelo maior índice de mortalidade das formigas soldados. As demais variáveis, indecisão, recrutamento e iscas carregadas apresentaram as maiores médias para os tratamentos T2, T1 e T5, respectivamente.

Para os resultados do bioensaio 2, houve interação significativa (tratamentos x dias avaliados) para a variável percentual de formigas vivas ($p < 0,01$). A isca sintetizada T8 apresentou as menores médias, sendo a mais eficiente no combate a *Atta* spp., causando 100% de mortalidade em até 24 h. Essa isca apresentou-se mais eficiente em relação a isca comercial Mirex[®] (T9). Ao final das 120 h de avaliação os tratamentos T7, T8 e T9 foram observados maior mortalidade. No entanto, para o bioensaio realizado no pasto a variável utilizada para verificar a mortalidade desses insetos (fluxo de formigas) não apresenta diferença significativa, podendo assim inferir que as iscas testadas foram eficientes no combate a esses insetos. Além disso, as variáveis recrutamento e indecisão não apresentaram diferença significativa para os tratamentos avaliados ($p > 0,05$). A variável número de iscas carregadas apresentou ($p < 0,01$), mostrando a atratividade dessas iscas para o primeiro dia de teste.

Com base nos resultados obtidos por meio das análises estatísticas e experimentos realizados, dentre todas as microesferas, pode-se afirmar que a isca que apresenta melhor controle químico de formigas cortadeiras do gênero *Atta* spp. é o tratamento T8, que contém o princípio ativo do inseticida clorpirifós, apresentando um período de mortalidade mais rápida que a isca comercial.

6. PERSPECTIVAS

O presente trabalho permitiu uma compreensão do processo de controle químico de formigas cortadeiras. Embora ainda haja lacunas quanto às informações aqui apresentadas, esse estudo abre caminhos para outros trabalhos, como, por exemplo, a adaptação dessas iscas para controle de formigas de outros gêneros.

Maiores estudos, como o aumento da dosagem e, ou adição de novos inseticidas podem ser realizadas visando a melhoria dessas iscas, podendo até mesmo ser utilizadas como agente de liberação sustentada para controle de outros insetos.

Estudos com outros organismos para verificar a influência no ecossistema, com vistas a proteger o aplicador e os inimigos naturais.

7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ABAT, M.; Degryse, F.; Baird, R.; McLaughlin, M.J. Slow-release boron fertilisers: co-granulation of boron sources with mono-ammonium phosphate (MAP). *Soil Research*, v. 53, p.505–511, 2015.
- ABBOTT, W. S. *A Method of Computing the Effectiveness of an Insecticide*. *Journal of Economic Entomology*, v. 18, n. 2, p. 265–267, 1925.
- ABELLÁN, G.; MARTÍ-GASTALDO, C.; RIBERA, A.; CORONADO, E. Hybrid Materials Based on Magnetic Layered Double Hydroxides: A Molecular Perspective. *Acc. Chem. Res*, v. 48, p. 1601–1611, 2015.
- ABREU, J.M.; DELABIE, J.H.C. (1986). Controle das formigas cortadeiras em plantios de cacau. *Revista Theobroma*, v. 16, n. 4, p. 199-211, 1986.
- AGROFIT (Base de dados de produtos agrotóxicos e fitossanitários). Brasília: Secretaria de Defesa Agropecuária/Ministério da Agricultura e do Abastecimento, 2019.
- ALBERS, A.P.F.; MELCHIADES, F.G.; MACHADO, R.; BALDO, J.B.; BOSCHI, A.O. Um método simples de caracterização de argilominerais por difração de raios X. *Cerâmica*. v. 48, n. 35, p. 34–37, 2002.
- ALMEIDA, F. S; MAYHÉ-NUNES, A. J.; QUEIROZ, J. M. The Importance of Poneromorph Ants for Seed Dispersal in Altered Environments. *Sociobiology*, v. 60, n. 3, p. 229-235, 2013.
- ANJOS, N.; DELLA LUCIA, T. M. C.; MAYHÉ-NUNES, A. J. Guia prático sobre formigas cortadeiras em reflorestamentos. Ponte Nova: Editora Graff Cor, 1998. 97 p.
- AntWeb v7.81. Disponível em: < <https://www.antweb.org/>> Acesso em : 30/11/2018.
- ANWAR, S; LIAQUAT, F.; KHAN, QM; KHALID, ZM; IQBAL, A. Biodegradation of chlorpyrifos and its hydrolysis product 3,5,6-trichloro-2-pyridinol by *Bacillus pumilus* strain C2A1. *Journal of Hazardous Materials*, v. 168, p. 400–405, 2009.

- ARAÚJO, M. S.; DELLA LUCIA, T. M. C.; SOUZA, D. J. Estratégias Alternativas de Controle. *Bahia Agrícola*, Salvador, v. 6, n. 1, p. 71-73, 2003.
- ARAÚJO, M.S.; RODRIGUES, C. A.; OLIVEIRA, M. A.; JESUS, F. G. Controle biológico de formigas-cortadeiras: o caso da predação de fêmeas de *Atta spp.* por *Canthon virens*. *Revista de Agricultura Neotropical*, v. 2, n. 3, p. 8–12, 2015.
- ASTRUC, C.; JULIEN, J.F.; ERRARD, C.; LENOIR, A. Phylogeny of ants (Formicidae) based on morphology and DNA sequence data. *Mol. Phylogenet. Evol.*, v.31, p. 880–893, 2004.
- AUTUORI, M. Investigação sobre a biologia da saúva. *Cienc. Cult*, v. 1, p. 4-13, 1950.
- BARBOSA, L.C. DE A. Espectroscopia no infravermelho: na caracterização de compostos orgânicos. 1 ed. Viçosa: Editora UFV, 2013.
- BASKARAN, S.; KOOKANA, R.; NAIDU, R. Contrasting behaviour of chlorpyrifos and its primary metabolite, tcp (3,5,6-trichloro-2-pyridinol), with depth in soil profiles. *Soil Reseach*, v. 41, n. 4, p. 746-760, 2003.
- BASS, M.; CHERRETT, J.M. Fungal hyphae as a source of nutrients for the leafcutting ant *Atta sexdens*. *Physiol. Entomol.*, v. 20, p. 1-6, 1995.
- BELVER, C.; MUÑOZ, M. A. B.; VICENTE, M. A. Chemical Activation of a Kaolinite under Acid and Alkaline Conditions. *Chem. Mater*, v. 14, n. 5, p. 2033–2043, 2002.
- BENÍCIO, L. P. F; SILVA, R. A.; LOPES, J. A; EULÁLIO D.; SANTOS, R. M. M.; AQUINO, L.A.; VERGÜTZ, L.; NOVAIS, R. F.; COSTA, L. M.; PINTO, F. G. AND TRONTO, J. Layered Double Hydroxides: Nanomaterials for Applications In Agriculture. *Rev. Bras. Ciênc. Solo*, v. 39, p. 1–13, 2015.
- BOLTON, B. A taxonomic and zoogeographical census of the extant ant taxa (Hymenoptera: Formicidae). *J. Nat. Hist.*, v. 29, p. 1037–1056, 1995.
- BOARETTO, M. A. C.; FORTI, L. C. Perspectivas no controle de formigas cortadeiras. *Série técnica IPEF*, v. 11, n. 30, p. 31-46, 1997.

- BRASIL. Lei nº 7.802, de 11 de Julho de 1989. Lei dos Agrotóxicos no Brasil. Disponível em: < http://www.planalto.gov.br/ccivil_03/leis/L7802.htm> Acesso em: 20/11/2018.
- BRITTO, J.S. DE; FORTI, L.C.; OLIVEIRA, M.A. DE; ZANETTI, R.; WILCKEN, C.F.; ZANUNCIO, J.C.; LOECK, A.E.; CALDATO, N.; NAGAMOTO, N.S.; LEMES, P.G.; CAMARGO, S. Use of alternatives to PFOS , its salts and PFOSF for the control of leaf-cutting ants *Atta* and *Acromyrmex*. *Int. J. Res. Environ. Stud.*, v. 3, p. 11–92, 2016.
- BUENO, O.C.; MORINI, M.S.C.; PAGNOCCA, F.C.; HEBLING, M.J.A.; SILVA, O. A. Sobrevivência de Operárias de *Atta sexdens* rubropilosa Forel (Hymenoptera: Formicidae) Isoladas do Formigueiro e Alimentadas com Dietas Artificiais. *An. Soc. Entomol*, v. 26, n. 1, p. 107-113, 1997.
- BUNACIU, A. A.; UDRISTIOIU, E.G.; ABOUL-ENEIN, H.Y. X-Ray Diffraction: Instrumentation and Applications. *Critical Reviews in Analytical Chemistry*, v. 45, p. 289–299, 2015.
- BURATTO, D. A. **Uso de isca granulada em plantações de Pinus taeda L., no planalto sul catarinense : avaliação de consumo por formigas cortadeiras, formas de distribuição e degradação.** 2013. 72 f. Dissertação (Mestre em Engenharia Florestal) – Universidade Federal do Paraná, Curitiba, Paraná, 2013.
- CAMPANA, S.P.; SIGNINI, F. R. Efeito de Aditivos na Desacetilação de Quitina. *Polímeros: Ciência e Tecnologia*, v. 11, n. 4, p. 169-173, 2001.
- CAMPOS, T. 2017. Principais espécies de formigas que podem atacar sua horta orgânica. Disponível em: <<http://thiagoorganico.com/tipos-de-formiga/>> Acesso em: 24/07/18.
- CARNEIRO, A., GOMES, E. A., NONATO, L. F.V., BRITTO, W. M.A., TAVARES, F. F., GUIMARÃES, C. T. E CRUZ, I. Embrapa., 2002. Caracterização da diversidade genética de isolados de *Beauveria Bassiana* por RAPD, in: XXIV Congresso Nacional de Milho e Sorgo. pp. 5–10.
- CHAN, L.W., JIN, Y., HENG, P.W.S. Cross-linking mechanisms of calcium and zinc in production of alginate microspheres. *Int. J. Pharm*, v. 242, p. 255–258, 2002.

- CHARNLEY, A. K. Fungal Pathogens of Insects: Cuticle Degrading Enzymes and Toxins. *Advances in Botanical Research*, v.40, p. 241-321, 2003.
- CHEONG, M.; ZHITOMIRSKY, I. Electrodeposition of alginic acid and composite films. *Colloids Surfaces A Physicochem. Eng. Asp*, v. 328, n. 1-3 , p. 73–78, 2008.
- COUTO, L.; ZANUNCIO, J.C.; ALVES, J. E.M. Avaliação da eficiência e controle de *Atta sexdens rufopilosa*, através do sistema de termonebulização, na região de Aracruz, ES. *Revista Árvore*, v.1. n.1. p. 9-16, 1977.
- CRUZ, A. P.; ZANUNCIO, J. S.; ZANETTI, R.; GOMES, O. S. Eficiência de iscas granuladas a base de sulfluramida e clorpirifós no controle de *Atta Sexdens* *Sexdens* (Hymenoptera: Formicidae), no trópico úmido. *Acta Amazônica*, v. 26, n. 3, p. 145-150. 1996.
- da SILVA, T. L.; VIDART, J. M. M.; da SILVA, M. G. C.; GIMENES, M. L.; VIEIRA, M. G. A. (2017). Alginate and sericin: Environmental and pharmaceutical applications. In E. A. Shalaby (Ed.), *Biological activities and application of marine polysaccharides* (Vol. 1) (pp. 57–85). InTech.
- DARDER, M.; ARANDA, P.; RUIZ, A.I.; FERNANDES, F.M.; RUIZ-HITZKY, E., Design and preparation of bionanocomposites based on layered solids with functional and structural properties. *Mater. Sci. Technol*, v. 24, p. 1100–1110, 2008.
- DARDER, M.; LO, M.; ARANDA, P.; LEROUX, F.; RUIZ-HITZKY, E., SEPTEMBER, R. V, RE, V., RECEI, M., FEBRUARY, V. Bio-Nanocomposites based on layered double hydroxides. *Chemistry of Materials*, v. 17, p. 1969–1977. 2005.
- DAVIS, H.B.; MOTT, C.J. Interaction of Boric Acid and Borates with Carbohydrates and Related *Substances*. *J.C.S. Faraday I*, n. 76, p. 1991-2002, 1980.
- DELLA LUCIA, T.M.C., FOWLER, H.G., ARAÚJO, M.S. Castas de formigas cortadeiras. In: Della Lucia, T.M.C. (ed.) *As formigas cortadeiras*. Viçosa: Folha de Viçosa. p. 43-53, 1993.

- DERUN, E.M.; SENBERBER, F.T. Characterization and Thermal Dehydration Kinetics of Highly Crystalline Mcallisterite, Synthesized at Low Temperatures. *The Scientific World Journal*, p. 1–10, 2014.
- DONG, Y.; DONG, W.; CAO, Y.; HAN, Z.; DING, Z. Preparation and catalytic activity of Fe alginate gel beads for oxidative degradation of azo dyes under visible light irradiation. *Catalysis Today*, v. 175, n. 1, p. 346–355, 2011.
- ENNIS, C.; AUCHETTL, R.; RUZI, M.; ROBERTSON, E.G. Infrared characterisation of acetonitrile and propionitrile aerosols under Titan's atmospheric conditions. *Phys. Chem. Chem. Phys*, v. 19, n. 4, p. 2915- 2925, 2017.
- EMBRAPA. Centro Nacional de Pesquisa do Solo. Manual de métodos de análises de solo. Rio de Janeiro: Embrapa-CNPS, 1997. 212p.
- EPSTEIN, L. Fifty Years Since Silent Spring. *Annual Review of Phytopathology*, v. 52, p. 377-402, 2014.
- ETHERIDGE, P.; PHILLIPS, F.T. Laboratory evaluation of new insecticides and bait matrices for the control of leaf-cutting ants (Hymenoptera, Formicidae). *Bulletin of Entomological Research*, v. 66, n.4, p.569-578, 1976.
- FERNANDES, F.M.; BARADARI, H.; SANCHEZ, C. Integrative strategies to hybrid lamellar compounds: An integration challenge. *Appl. Clay Sci*, v. 100, p. 2–21, 2014.
- FERREIRA, R.A., SILVA ZACARIN EC, MALASPINA O, BUENO O.C, TOMOTAKE ME, PEREIRA AM., 2013. Cellular responses in the Malpighian tubules of *Scaptotrigona postica* (Latreille, 1807) exposed to low doses of fipronil and boric acid. *Micron* (Oxford, England : 1993). 26.
- FERREIRA, D. F. SISVAR : A Computer Statistical Analysis System Sisvar : um sistema computacional de análise estatística. *Ciênc. Agrotec*, v.35, n.6, p.1039–1042, 2011.
- FERRON, P. Biological control of insect pests by entomogenous fungi. *Ann. Rev. Entomol*, v. 23, p. 409-42, 1978.

- REIS FILHO, W.; NICKELE, M. A.; STRAPASSON, P. Combate às formigas cortadeiras. Curitiba: SENAR-PR., 2011.
- REIS FILHO, W. ; SILVA, V. P.; NICKELE, M. A.; MARTINS, M. F. O. Formigas cortadeiras em sistemas de integração lavoura-pecuária-floresta - iLPF: fundamentos para o controle. Comunicado Técnico. Dezembro 2013.
- FISHER, P.J., STRADLING, D.J., PEGLER, D.N. Leaf cutting ants, their fungus gardens and the formation of basidiomata of *Leucoagaricus gongylophorus*. *Top. Catal*, v. 8, p. 128–131, 1994.
- FORTI, L. C.; NAGAMOTO, N. S.; PRETTO, D. R. Controle de formigas cortadeiras com isca granulada. In: Simpósio sobre formigas cortadeiras dos países do mercosul. Piracicaba: FEALQ, 1998, p. 113-132.
- FORTI, L. C.; PRETTO, D.R.; NAGAMOTO, N.S.; PADOVANI, C.R.; CAMARGO, R.S.; ANDRADE, A.P.P. 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. 1-15, 2007.
- FOWLER, H.G., FORTI, L.C., BRANDÃO, C.R.F., DELABIE, J.H.C., VASCONCELOS, H.L. Ecologia nutricional de formigas. In: Pannizi, A.R., Parra, J.R.P. (eds.). Ecologia nutricional dos insetos e suas implicações no manejo de pragas. São Paulo: Manole, p. 360, 1991.
- FOWLER, H.G., DELLA LUCIA, T.M.C., MOREIRA, D.D.O. (1993). Posição taxonômica das formigas cortadeiras. In: Della Lucia, T.M.C. (ed.) As formigas cortadeiras. Viçosa: Folha de Viçosa. p. 4-25.
- FUXA, J.R.; TANADA, Y. Epizootiology of insect disease. New York: Wileyinterscience, 1987, 555p.
- GARAY, K.A.F.; LUÉVANOS, A.M.; ORTIZ, B.R.C.; CERDAB, L.A.G.; BADILLO, C.M.B. Síntesis de silicatos de calcio por el método Pechini e intercambio iónico de alginato de sodio-cloruro de calcio. *Boletín de la Sociedad Española de Cerámica y Vidrio*, v. 55, n. 6, p. 239-245, 2016.

- GARDOLINSKI, J.E. E WYPYCH, F. Esfoliação e hidratação da caulinita após intercalação com uréia. *Quim. Nova*, v. 24, n. 6, p. 761-767, 2001.
- GARDOLINSKI, J.E.; FILHO, H.P.M.; WYPYCH, F. Comportamento térmico da caulinita hidratada. *Química Nova*, v. 26, n. 1, p. 30-35, 2003.
- GIESEL, A. **Preparados homeopáticos, iscas fitoterápicas, conhecimento popular e estudo do comportamento para o manejo das formigas cortadeiras no planalto serrano catarinense**. 2007. 95 f. Dissertação (Mestre em Produção Vegetal) - Universidade do Estado de Santa Catarina, Lages, Santa Catarina, 2007.
- GLIESSMAN, S.R. Agroecologia: Processos Ecológicos em Agricultura Sustentável. Porto Alegre: Ed. Universidade/UFRGS, 2000. 653p.
- GUO, J.; CHEN, X.; ZHANG, Y. Improving the Mechanical and Electrical Properties of Ceramizable Silicone Rubber/Halloysite Composites and Their Ceramic Residues by Incorporation of Different Borates. *Polymers*, v. 10, n. 388; p. 1-12, 2018.
- HABES, D.; MORAKCHI, S.; ARIBI, N.; FARINE, J.P.; SOLTANI, N. Boric acid toxicity to the German cockroach, *Blattella germanica*: Alterations in midgut structure, and acetylcholinesterase and glutathione S-transferase activity. *Pestic. Biochem. Physiol.*, v. 84, p. 17–24, 2006.
- HAJEK, A. E.; ST. LEGER, R. J. Interactions between fungal pathogens and insect hosts. *Annu. Rev. Entomol.*, v. 39, p. 293-322, 1994..
- HANNA, R., FOTSO KUATE, A., NANGA, S.N., TINDO, M., NAGEL, P. Boric acid for suppression of the ant *Anoplolepis tenella* and effects on an associated scale insect pest *Stictococcus vayssierei* in cassava fields in the Congo Basin. *Crop Prot.*, v. 74, p. 131–137, 2015.
- HÖLLDOBLER, B. 1978. Ethological aspects of chemical communication in ants. Museum of Comparative Zoology Laboratories, Cambridge – Massachusetts.
- HÖLLDOBLER, B., WILSON, E.O. (1990) The ants. The Belknap Press of Harvard University, Cambridge, Massachusetts. 732 p.

- HOU C, QIN G, LIU T, GENG T, GAO K, et al. (2014) Transcriptome Analysis of Silkworm, *Bombyx mori*, during Early Response to *Beauveria bassiana* Challenges. *PLoS ONE* 9(3): e91189.
- IBGE. Informações obtidas do censo de 2010. Disponível em: <<https://cidades.ibge.gov.br/brasil/mg/rio-paranaiba/panorama>> Acesso em : 23/07/2018.
- IKEDA, A.; TAKEMURA, A.; ONO, H. Preparation of low-molecular weight alginic acid by acid hydrolysis. *Carbohydr. Polym.*, v.42, n. 4, p. 421–425, 2000.
- INSTITUTO DE PESQUISAS AGRONÔMICAS (IPAGRO). Informativo nº 23. Governo do Estado do Rio Grande do Sul. Secretaria da Agricultura. Departamento de Pesquisa, julho de 1980.
- IONASHIRO, M. Giolito: Fundamentos de Termogravimetria, Análise Térmica Diferencial e Calorimetria Exploratória Diferencial. São Paulo: Giz Editorial, 2004, 82 p.
- IRSCHIK, H.; SCHUMMER, D.; GERTHFT, K.; HFLENT, G.; REICHENBACH, H. The Tartrolons , New Boron-containing Antibiotics from a Myxobacterium. *The Journal of Antibiotics*, v. 48, p. 26–30, 1995.
- JACQUES, H.C.; DELLA LUCIA, T.; PASTRE, L. Protocolo de experimentação para avaliar a atratividade de novas formulações de iscas granuladas utilizadas no controle das formigas cortadeiras *Acromyrmex* spp. e *Atta* spp. (Hymenoptera: Formicidae: Myrmicinae: Attini) no campo. *An. Soc. Entomol. Bras.*, v. 29, n. 4, p.843–848, 2000.
- JANA, S.; TRIVEDI, M.K.; TALLAPRAGADA, R.M.; BRANTON, A.; TRIVEDI, D.; NAYAK, G.; MISHRA, R. Characterization of Physicochemical and Thermal Properties of Chitosan And Sodium Alginate after Biofield Treatment. *Pharmaceutica Analytica Acta*, v. 6, n. 10, p. 1-9, 2015.
- JAIN, S.; DATTA, M. Montmorillonite-alginate microspheres as a delivery vehicle for oral extended release of Venlafaxine hydrochloride. *J. Drug Deliv. Sci. Technol*, v. 33, p. 149–156, 2016.

- JUSTI JUNIOR, J.; IMENES, S.L.; BERGMANN, E.C.; CAMPOS, F.A.E.C.; ZORZENON, F.J. Formigas Cortadeiras. *Boletim técnico do Instituto Biológico*, São Paulo, n. 4, p. 31, 1996.
- KARATHANASIS, A. D.; HAJEK, B. F. Revised Methods for Rapid Quantitative Determination of Minerals in Soil Clays¹. *Soil Science Society of America Journal*, v.46, n.2. p. 419-425, 1982.
- KIRUBHADHARSINI, B.L; NAKKEERAN, S.; KENNEDY, J.S.; MANOHARAN, T. Morphological and molecular characterization of entomopathogenic fungi , isolated from different *Beauveria bassiana* insects in India International Journal of Applied Agricultural & Horticultural Sciences Conserve Natural Resoucers. *Int. J. Appl. Agric. Hortic. Sci*, v. 8, n. 4, p. 940–944, 2017.
- KLEINUBING, S.A.; SERAPHIM, D.C.; MEI, L.H.I. Desenvolvimento de um sistema de liberação controlada de oxitetraciclina microparticulada em matriz de alginato e quitosana. In: Congresso latino americano de órgãos artificiais e biomateriais, 2012. Natal-RN.
- KLOTZ, J.H., GREENBERG, L.E.S., AMRHEIN, C., RUST, M.K., GREENBERG, L.E.S. Toxicity and Repellency of Borate-Sucrose Water Baits to Argentine Ants (Hymenoptera : Formicidae) Toxicity and Repellency of Borate-Sucrose Water Baits to Argentine Ants (Hymenoptera : Formicidae). *J. Econ. Entomol*, v. 93, p. 1256–1258, 2000.
- LARANJEIRO, A.J. Manejo integrado de formigas cortadeiras na Aracruz Celulose. In: Curso de Atualiza- ção no controle de formigas cortadeiras, 3, 1994, Piracicaba, SP. Piracicaba: IPEF, p. 28-33, 1994.
- LIMA, C.A.; DELLA LUCIA, T.M.C.; GUEDES, R.N.C; DA VEIGA, C.E. Desenvolvimento de Iscas Granuladas com Atraentes Alternativos Para *Atta bisphaerica* Forel, (Hymenoptera: Formicidae) e sua Aceitação Pelas Operárias. *Neotropical Entomology*, v.32, n. 3, p. 497-501, 2003.
- LOECK, A.E.; NAKANO, O. Efeito de novas substâncias visando o controle de saueiros novos de *Atta laevigata* (Smith, 1858) (Hymenoptera - Formicidae). *O Solo*, v.1, p. 25-30, 1984.

- LOPES, W. A.; FASCIO, M. Esquema para interpretação de espectros de substâncias orgânicas na região do infravermelho. *Química Nova*, v. 27, n. 4, p. 670–673, 2004.
- MADEJOVA, J. FTIR techniques in clay mineral studies. *Vibrational Spectroscopy*, v. 31, n. 1, p. 1–10, 2003.
- MARGARETE, A.; LIMA, F.; ANDREANI, L.; SOLDI, V.; BORSALI, R. Influência da Adição de Plastificante e do Processo de Reticulação na Morfologia, Absorção de Água e Propriedades Mecânicas de Filmes de Alginato De Sódio. *Química Nova*, v.30, n.4, p.832–837, 2007.
- MARICONI, F. A. M. As saúvas. São Paulo: Agronômica Ceres, 1970. 167 p.
- MARICONI, F.A.M. As saúvas. Circular Técnica, n. 77, IPEF, São Paulo, 1979.
- MARTINS, P. R. **Trajetórias tecnológicas e meio ambiente: a indústria de agroquímicos/transgênicos no Brasil**. 2000. Tese (Doutorado em Ciências Sociais) - Instituto de Filosofia e Ciências Humanas/Unicamp, Campinas.
- MAZUTIS, L.; VASILIAUSKAS, R.; WEITZ, D. A. Microfluidic Production of Alginate Hydrogel Particles for Antibody Encapsulation and Release. *Macromol. Biosci*, v.15, n. 5, p. 1641-1646, 2015.
- MI, F.L.; WONG, T.; SHYU, S.S. Sustained-release of oxytetracycline from chitosan microspheres prepared by interfacial acylation and spray hardening methods. *Journal of microencapsulation*, v. 14, n. 5, p. 577-591, 1997.
- MORESSI, M.; NETO, A. M.; CREPALDI, R.A.; CARBONARI, V.; DEMÉTRIO, M.F.; SILVESTRE, R. Eficiência do controle mecânico de formigas cortadeiras (*Atta laevigata*) no reflorestamento com espécies nativas. In: XVIII Simpósio de Mirmecologia. Biológico. São Paulo, p. 471-473, 2007.
- NAIR, A.S.; PRADEEP, T. Extraction of Chlorpyrifos and Malathion from Water by Metal Nanoparticles. *Journal of Nanoscience and Nanotechnology*, v. 7, n. 7, p. 1-7, 2007.
- NAKAMOTO, K. Infrared and Raman Spectra of Inorganic and Coordination

Compounds. Handbook of Vibrational Spectroscopy, John Wiley & Sons, Inc., Hoboken, New Jersey. 2006.

NETI, N.; ZAKKULA, V. Analysis of chlorpyrifos degradation by *Kocuria* sp. using GC and FTIR. *Current Biotica*, v. 6, n. 4, p. 466-472, 2013.

OH, S.T.; KIM, W.R.; KIM, S.H.; CHUNG, Y.C.; PARK, J.S. The preparation of polyurethane foam combined with pH-sensitive alginate/bentonite hydrogel for wound dressings. *Fiber. Polym*, v. 12, n.2, p. 159-165, 2011.

OLIVEIRA, M.A.; ARAÚJO, M.S.; MAINHO, C.G.S.; RIBEIRO, M.M.R.; DELLA LUCIA, T.M.C. Manejo de formigas-cortadeiras. In: DELLA LUCIA, T.M.C. (Ed.). Formigas-cortadeiras: da biologia ao manejo. Viçosa: UFV, 2011. p. 400-419.

OLIVEIRA, O.M.; ZANDONADI, A. R.; MARTINS, M.V.R.; CARRIÓ, J.A.G., JR, A.H.M. Caracterização de uma argila de vitória da conquista – Bahia, por análise térmica. In: 19º Congresso Brasileiro de Engenharia e Ciência dos Materiais – CBECiMat, 2010, Campos do Jordão, SP, Brasil.

PAULA, H.C.B.; OLIVEIRA, E.F.; ABREU, F.O.M. S.; PAULA, C.M.; MORAIS, U.F.C.S., FORTE, M.M.C. Esferas (Beads) de Alginato como Agente Encapsulante de Óleo de Croton zehntneri Pax et Hoffm. *Polímeros: Ciência e Tecnologia*, v. 20, n. 2, p. 112-120, 2010.

PEAK, D.E.; LUTHER, G.E.W.; SPARKS, D.O.L. ATR-FTIR spectroscopic studies of boric acid adsorption on hydrous ferric oxide. *Geochimica et Cosmochimica Acta*, v. 67, n. 14, p. 2551–2560, 2004.

PEREGRINE, D.J.; CHERRETT, J.M. Toxicant spread in colonies of leaf-cutting ants. Proceedings of the Association of Applied Biologists, p. 131-132, 1976.

PINHEIRO, A., ZANUNCIO, C., ZANETTI, R. Eficiência de iscas granuladas a base de sulfluramida e de clorpirifós no controle de *Atta sexdens* (HYMENOPTERA: FORMICIDAE), No Trópico Úmido. *Acta Amaz*, v. 26, p. 145–150, 1996.

POPA, M. I., LISA, G., AELENEI, N. Termogravimetric characterization of chitosan/alginate microparticles loaded with diferente drugs. *Polym Bull*, v.61, n.4, p.481-490, 2008.

PPDB - Pesticide Properties Data Base. Disponível em: <<http://sitem.herts.ac.uk/aeru/ppdb/en/Reports/602.htm>> Acesso em: 23/07/2018a.

PPDB - Pesticide Properties Data Base. Disponível em: <<https://sitem.herts.ac.uk/aeru/ppdb/en/Reports/154.htm>> Acesso em: 23/07/2018b.

PRETTO, D.R. **Arquitetura dos túneis de forrageamento e do ninho de *Atta sexdens ruprobilosa* Forel, 1908 (Hymenoptera: Formicidae), dispersão de substrato e dinâmica do inseticida na colônia**. 110 f. Dissertação (Mestrado). Faculdade de Ciências Agronômicas, Botucatu, 1996.

QUEIROZ, J. M.; ALMEIDA, F. S.; PEREIRA, M. P. S. Conservação da biodiversidade e o papel das formigas (Hymenoptera: Formicidae) em agroecossistemas. *Revista Floresta e Ambiente*, v.13, n.2. p.37-45, 2006.

REIS, C.; REIS, E.L.; SILVA, C.A. Modificação de procedimento para extração de boro em solos. *RECIE*, v. 15, n. 1/2, p. 91-94, 2006.

RIBEIRO, C.C.; BARRIAS, C.C.; BARBOSA, M.A.. Calcium phosphate-alginate microspheres as enzyme delivery matrices. *Biomaterials*, v. 25, n. 18, p. 4363–4373, 2004.

RICHARDSON, J. F.; HARKER, J. H.; BACKHURST, J. R. **Chemical Engineering Volume 2: Particle Technology and Separation Processes**. 5. ed. Coulson and Richardson.s Chemical Engineering Series, Oxford, U.K.: ButterWorth Heinemann, 2002.

ROSOLEM, C.A.; BÍSCARO, T. Adsorção e lixiviação de boro em Latossolo Vermelho-Amarelo. *Pesq. agropec. bras.*, v.42, n. 10, p. 1473-1478, 2007.

SANTOS, M. A. T., AREAS, M. A., REYES, F. G. Piretróides – Uma Visão Geral. *Alim. Nutr*, v. 18, p. 339–349, 2007.

SANTOS, A.; ZANETTI, R.; ZANUNCIO, J.C.; MENDONÇA, L.A.; SILVA, A.S.; MEDEIROS, A.G.B. Eficiência e custo de controle de ninhos de *Atta spp.* (Hymenoptera: Formicidae) Com termonebulização. *Cerne*, v. 13, p. 23-27, 2007.

SANCHEZ, C.; BELLEVILLE, P.; POPALL, M.; NICOLE, L. Applications of

- advanced hybrid organic–inorganic nanomaterials: from laboratory to market. *Chem. Soc. Rev.*, v. 40, p. 696-753, 2011.
- SANCHEZ, C., SHEA, K.J., KITAGAWA, S. Recent progress in hybrid materials science. *Chem. Soc. Rev.*, v.40, p. 471–472, 2011.
- SARTORI, C.; FINCH, D. S.; RALPH, B.; & GILDING, K. Determination of the cation content of alginate thin films by FTi.r. spectroscopy. *Polymer*, v.38, n.1, p.43–51, 1996.
- SCHNELLMANN, R.G., MANNING, R.O. Perfluorooctane sulfonamide: A structurally novel uncoupler of oxidative phosphorylation. *Bioenerg*, v. 1016, p. 344–348, 1990.
- SCHULTZ, T.R., MEIER, R. A phylogenetic analysis of the fungus-growing ants (Hymenoptera: Formicidae: Attini) based on morphological characters of the larvae. *Syst. Entomol*, v. 20, p. 337–370, 1995.
- SILVA, R. A. S; CARVALHO, G. A.; CARVALHO, C. F.; REIS, P. R., PEREIRA, A.M.A.R.; PEREIRA E COSME, L. V. Toxicidade de Produtos Fitossanitários Utilizados na Cultura do Cafeeiro a Larvas de Chrysoperla externa (Hagen) (Neuroptera: Chrysopidae) e Efeitos Sobre as Fases Subseqüentes do Desenvolvimento do Predador. *Neotropical Entomology*, v. 34, n. 6, p. 951-959, 2005.
- SILVA, M.S.; SANTANA, G.P. caulinita: estrutura cristalina, técnicas físicas de estudo e adsorção. *Scientia Amazonia*, v. 2, n.3, p. 54-70, 2013.
- SOARES, J. P.; SANTOS, J.E.; CHIERICE, G.O.; CAVALHEIRO, E. T. G.. Thermal behavior of alginic acid and its sodium salt. *Ecletica Química*, v. 29, n. 2, p.53-56, 2004.
- TAKAHASHI, T.; YAMAGUCHI, M. Host-Guest Interaction between Swelling Clay Minerals and Poorly Water-Soluble Drugs. 1" Complex Formation between a Swelling Clay Mineral and Griseofulvin. *J. Incl. Phenom. Mol. Recognit. Chem*, v. 10, p. 283–297, 1991.
- VELINGS, N. M., MESTDAGH, M. M. Physico-Chemical Properties of Alginate Gel Beads. *Polym. Gels. Netw*, v. 3, p. 311-330, 1995.

- VILELA, E.F., DELLA LUCIA, T.M.C. (1987) Ferômonios de insetos; biologia, química e emprego no manejo de pragas. Viçosa, MG, Universidade Federal de Viçosa. 155p.
- WAN, L.S.C., HENG, P.W.S., CHAN, L.W. Surfactant effects on alginate microspheres. *International J. Pharm*, v. 103, p. 267–275, 1994.
- WILSON, E.O. Caste and division of labor in leaf-cutter ants (Hymenoptera: Formicidae: *Atta*) - I. The overall pattern in *A. sexdens*. *Behavioral Ecology and Sociobiology*, v.7. p. 143-156, 1980.
- XIAO, C.; LIU, H.; LU, Y.; ZHANG, L. Blend films from sodium alginate and blend films from sodium alginate. *J. Macromol. Sci. , Part A Pure Appl. Chem*, v. 38, n. 3, p. 317–328, 2007.
- XUAN, J., REN, Z., QING, T., COUCH, L., SHI, L., TOLLESON, W.H., GUO, L. Mitochondrial dysfunction induced by le fl unomide and its active metabolite. *Toxicology*, p. 33–45, 2018.
- YADAV, I. C.; DEVI, N.D. Pesticides Classification and Its Impact on Human and Environment. *Environ. Sci. & Engg*, v. 6, p. 140-158, 2017.
- ZANETTI, R.; CARVALHO, G. A.; SANTOS, A.; SOUZASILVA, A.; GODOY, M. S. Manejo integrado de formigas cortadeiras. Lavras: UFLA, 2002. 16 p.
- ZANETTI, R.; ZANUNCIO, J.C.; VILELA, E.F.; LEITE, H.G.; JAFFE, K.; OLIVEIRA, A.C. Level of Economic Damage for Leaf-Cutting Ants (Hymenoptera: Formicidae) in Eucalyptus Plantations in Brazil. *Sociobiology*, v. 42, n. 2, p. 433-442 , 2003
- ZANETTI, R.; ZANUNCIO, J. C.; SILVA, A. S.; MENDONÇA, L. A.; MATTOS, J. O.S; RIZENTAL, M.S. (2006). Efficiency of products for thermonebulization on the control of *Atta laevigata* (Hymenoptera: Formicidae) in eucalyptus plantations. *Ciênc. agrotec.*, v. 32, n. 4, p. 1313-1316, 2006.
- ZANUNCIO, J. C; COUTO, C; SANTOS, G. P; ANUNCIO, T. V; Eficiencia da isca granulada Mirex-S, a base de sulfluramida, no controle de formigas cortadeira *Atta*

laevigata (F. Smith, 1858) (Hymenoptera: Formicidae). **Revista Árvore**, v. 16, n. 3, p 247 - 372, 1992.

ZHANG, Y.; LIANG, X.; YANG, X.; LIU, H.; YAO, J. An eco-friendly slow-release urea fertilizer based on waste mulberry branches for potential agriculture and horticulture applications. **ACS Sustain. Chem. Eng**, v.2, n.7, p.1871–1878, 2014.

ZMITROWICZ, W. As estruturas territoriais dos insetos. **Estudos Avançados**, v. 15, n.41, p.193-212, 2001.

ZSIRKA, B.; HORVÁTH, E.; MAKÓ, E.; KURDI, R.; KRISTÓF, J. Preparation and characterization of kaolinite nanostructures: reaction pathways, morphology and structural order. **Clay Minerals**, v. 50, n.3, p. 329–340, 2015.

Apêndice A – Microesferas sintetizadas

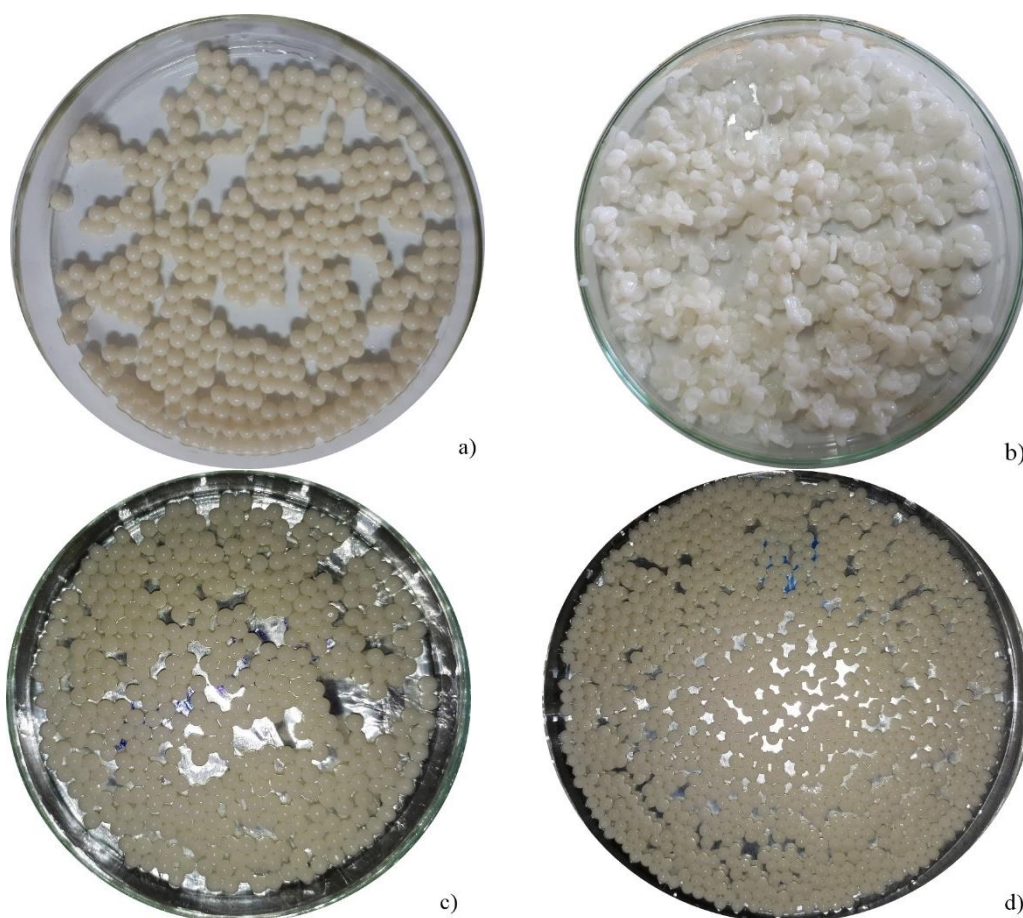


Figura A1 Imagens fotográficas das microesferas utilizadas para o Bioensaio 1: (a) Controle (T1); (b) Borato de sódio (T2); (c) *B. bassiana* (T3) e (d) Sulfluramida (T4).
Fonte: Duarte, V.G.O., 2019.

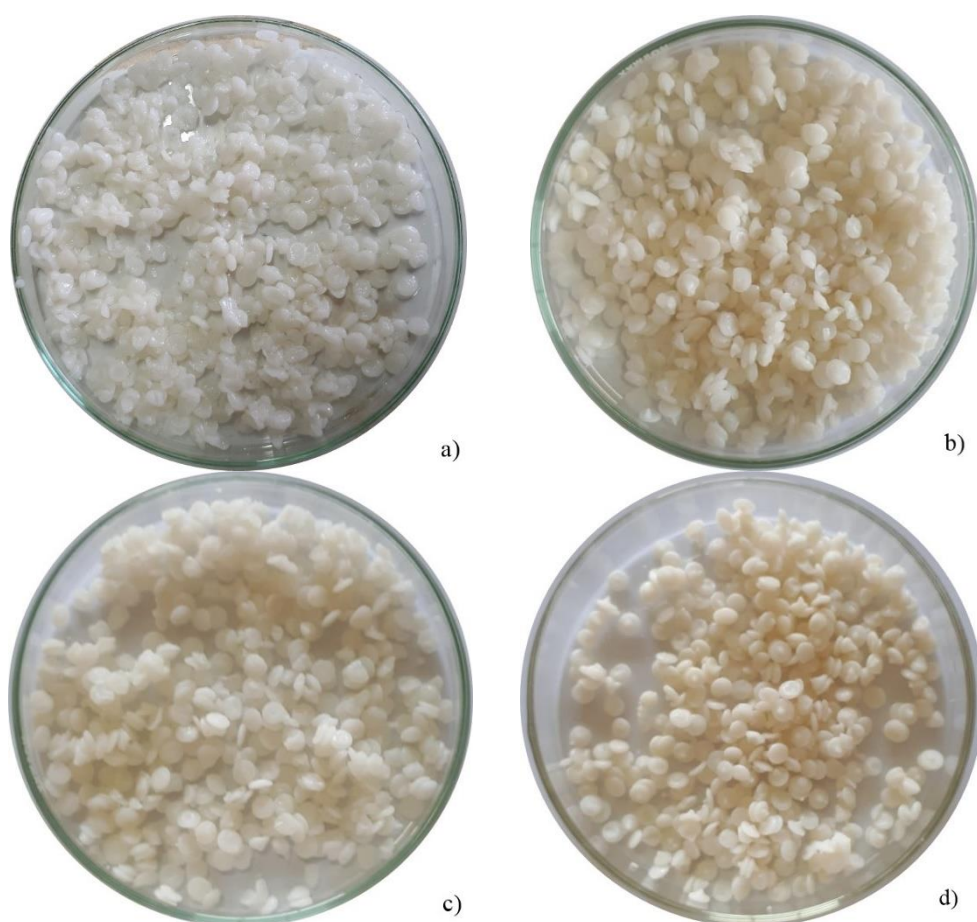


Figura A2. Imagens fotográficas das microesferas utilizadas para o Bioensaio 2: (a) Controle com borato de sódio (T2); (b) 2,5 g de Borato de sódio e *B. bassiana* (T6); (c) 5 g de Borato de sódio e *B. bassiana* (T7) e (d) Borato de sódio e clorpirifós (T8).

Fonte: Duarte, V.G.O., 2019.

Apêndice B – Curvas Padrão

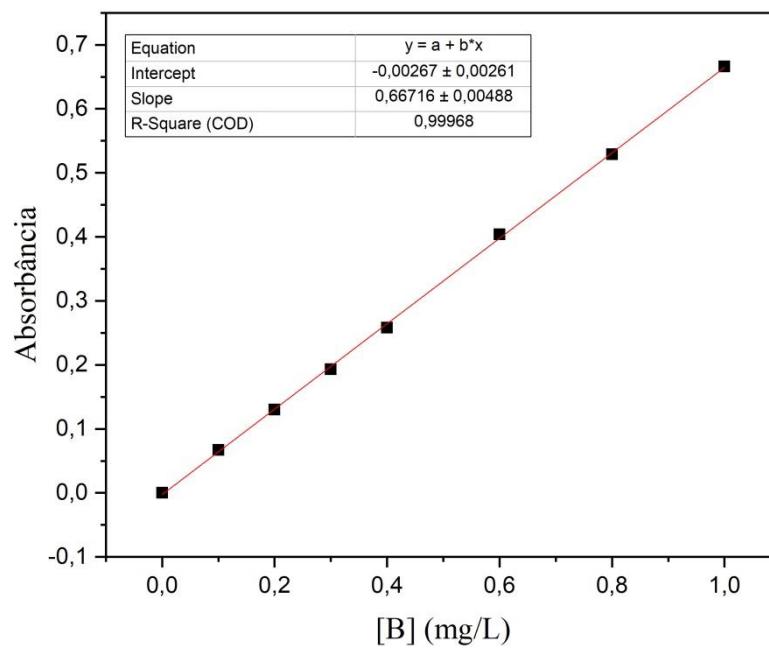


Figura B1. Curva analítica padrão para determinação de boro.

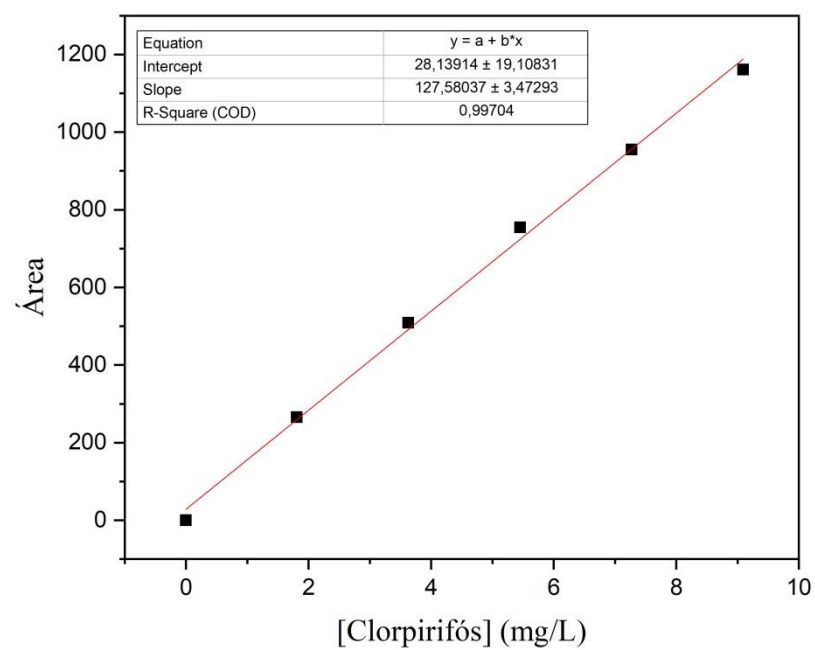


Figura B2. Curva analítica padrão para determinação de clorpirifós em acetonitrila.

Apêndice C – Padrões de difratogramas

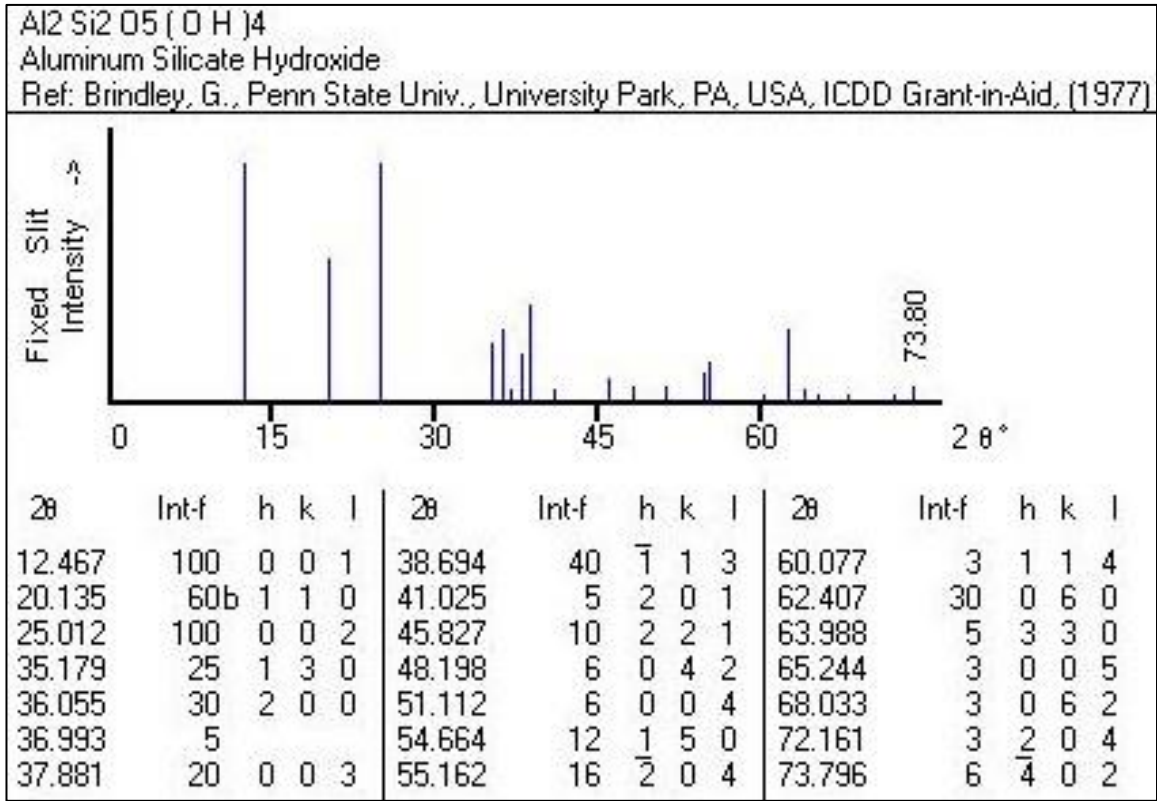


Figura C1. Padrão PCPDFWIN número 29-1488 para a caulinita.

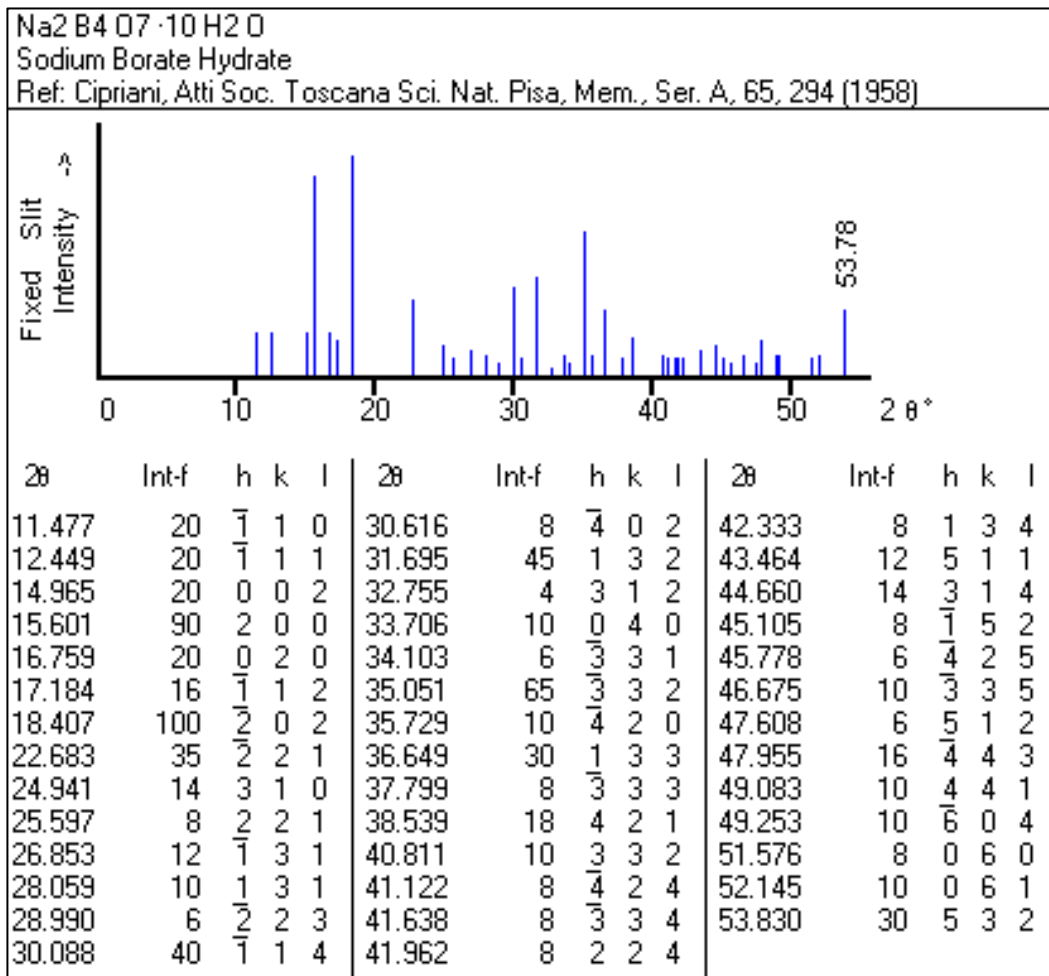


Figura C2. Padrão PCPDFWIN número 12-0258 para o tetraborado de sódio decaidratado.

Apêndice D – Sistema de Lixiviação

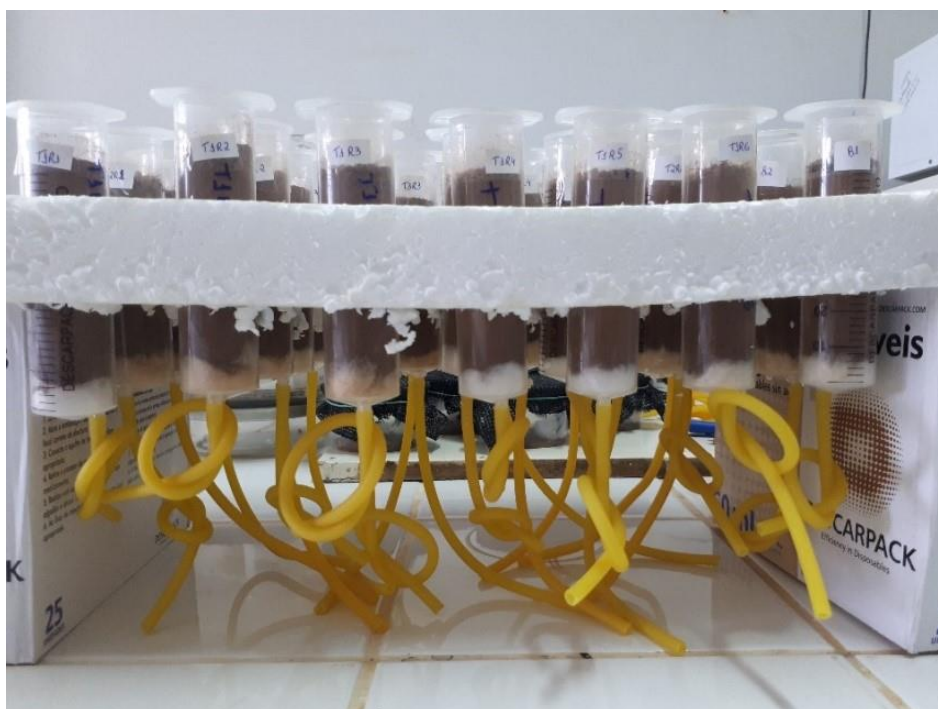


Figura D1. Imagem fotográfica do sistema de lixiviação completo.
Fonte: Duarte, V.G.O., 2019.