

SUSCETIBILIDADE DA FORMIGA-DE-FOGO *Solenopsis saevissima*
(HYMENOPTERA FORMICIDAE) AOS FUNGOS ENTOMOPATOGÊNICOS
Beauveria bassiana E *Metarhizium anisopliae*

WILLIANS GUIMARÃES DE SOUZA

UNIVERSIDADE ESTADUAL DO NORTE FLUMINENSE DARCY
RIBEIRO

CAMPOS DOS GOYTACAZES – RJ
Março - 2023

SUSCETIBILIDADE DA FORMIGA-DE-FOGO *Solenopsis saevissima*
(HYMENOPTERA FORMICIDAE) AOS FUNGOS ENTOMOPATOGÊNICOS
Beauveria bassiana E *Metarhizium anisopliae*

WILLIANS GUIMARÃES DE SOUZA

“Dissertação apresentada ao Centro de Ciências e Tecnologias Agropecuárias da Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro, como parte das exigências para obtenção do título de Mestre em Produção Vegetal”

Orientador: Prof. Dr. Richard Ian Samuels

Coorientadora: Dr^a Thais Berçot Pontes Teodoro

CAMPOS DOS GOYTACAZES – RJ

Março - 2023

FICHA CATALOGRÁFICA

UENF - Bibliotecas

Elaborada com os dados fornecidos pelo

null.

SUSCETIBILIDADE DA FORMIGA-DE-FOGO *Solenopsis saevissima* (HYMENOPTERA FORMICIDAE) AOS FUNGOS ENTOMOPATOGÊNICOS *Beauveria bassiana* E *Metarhizium anisopliae* / Willians Guimarães de Souza. - Campos dos Goytacazes, RJ, 2023.

64 f. : il.

Inclui bibliografia.

Dissertação (Mestrado em Produção Vegetal) - Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro, Centro de Ciências e Tecnologias Agropecuárias, 2023.

Orientador: Richard Ian Samuels.

1. Controle Microbiano . 2. Fungos Entomopatogênicos. 3. Formiga-de-Fogo. I. Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro. II. Título.

CDD - 630

SUSCETIBILIDADE DA FORMIGA-DE-FOGO *Solenopsis saevissima* AOS
FUNGOS ENTOMOPATOGÊNICOS *Beauveria bassiana* E *Metarhizium anisopliae*

WILLIANS GUIMARÃES DE SOUZA

“Dissertação apresentada ao Centro de Ciências e Tecnologias Agropecuárias da Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro, como parte das exigências para obtenção do título de Mestre em Produção Vegetal”

Aprovada em 1 de março de 2023

Comissão Examinadora:

Dr^a Aline Teixeira Carolino

Dr^a Denise Dolores Oliveira Moreira

Prof. Dr. Milton Erthal Junior

Dr^a Thaís Berçot Pontes Teodoro
Coorientadora

Prof. Dr. Richard Ian Samuels
Orientador

Aos meus pais Flávio e Gina e aos
meus avós Sérgio (*in memoriam*) e

Nice,

dedico.

“Quando faço uma escolha, não há
desistência, não existe retorno, e quanto a
isso não há discussão”.

— Flávio de Souza.

AGRADECIMENTOS

Quero começar meus agradecimentos, dizendo o quanto sou grato aos meus pais, Gina e Flávio, por todas oportunidades que tive em minha vida, todo incentivo aos estudos e todo apoio que sempre deram as minhas escolhas;

À UENF pelas oportunidades de bolsa e estudos, por ter me apresentado o incrível mundo das formigas, e ter me permitido crescer como pessoa e como profissional;

Ao professor Richard, por todo ensinamento, suporte, apoio acadêmico e orientação! Por ter sido receptivo desde o começo, e sempre me permitir aprender e evoluir mais! Sou muito grato ao senhor, Professor!

À Thaís, minha coorientadora, por ser essa pessoa incrível que todo dia me ensina e torna minha trajetória acadêmica mais leve. Por todo suporte, por estar sempre presente e me ajudar a desbravar a Ciência! Aprendo muito com você, Thaís, muito obrigado!

À Aline, por todas suas ideias geniais, brilhantismo e ter me apresentado aos equipamentos e técnicas do laboratório. Muito obrigado!

À Denise, por toda sabedoria, paciência e instruções! Por ajudar a moldar meu caminho com mais bagagem e segurança. Gratidão!

Ao professor Gerson, pelas ideias e suporte que foram muito importantes para a realização desse trabalho. Muito obrigado!

A todos do LEF e do Grupo de Patologia de Insetos da UENF, Aline, Arli, Carol, Denise, Luciana, Patrícia, Ray, Rick e Thaís por toda troca de ideia, descontração e aprendizado que tornaram o dia a dia mais tranquilo e valioso.

Ao professor Odair e toda equipe do Centro de Estudos de Insetos Sociais do Instituto de Biociências de Rio Claro da UNESP, por toda ajuda na manutenção dos formigueiros.

Ao Professor Jacques H. C. Delabie, do CEPLAC/ Itabuna – Ba, pela classificação da espécie.

Agradeço também a minha família por mesmo de longe estarem presentes na minha vida, a minha mãe, meu pai, minha irmã, minha avó, meu avô (saudades), minhas tias e tios e minhas primas e primos! Muito obrigado pessoal!

Aos meus amigos do RJ que estão comigo desde o começo e que mesmo com a distância não ficam longe de mim. A Thais, Bianca, Vick, Bruna, Paula, Bia, Godoy, Julia, Israel e Rubinho. Amo vocês!

Aos meus amigos de Campos, que se tornaram uma família para mim! Amanda, Babi, Clarissa, Igor, Kíssila, Laura, Louíse, Luciene, Ludi, Otalício, Rafael, Sheila, Thamiris, Yasmin e Yuri. Vocês são incríveis!

E finalmente, agradeço ao meu filho Axl, o amor da minha vida, por estar comigo todos os dias! Nos melhores e nos piores momentos, sempre. Meu caminho não teria sentido sem você!

SUMÁRIO

RESUMO.....	vii
ABSTRACT.....	ix
1. INTRODUÇÃO.....	1
2. REVISÃO DE LITERATURA.....	4
2.1. Família Formicidae.....	4
2.2. Formigas-de-fogo.....	5
2.3. <i>Solenopsis saevissima</i>	7
2.4. Controle alternativo.....	9
2.5. Fungos entomopatogênicos x Formigas-de-fogo.....	12
3. OBJETIVO.....	14
3.1. Objetivo geral.....	14
3.2. Objetivos específicos	14
4. METODOLOGIA.....	15
4.1. Produção dos fungos entomopatogênicos.....	15
4.2. Virulência dos fungos entomopatogênicos em indivíduos de <i>S. saevissima</i> em laboratório, a partir do contato com papel impregnado com fungo.....	16
4.3. Virulência dos fungos entomopatogênicos em indivíduos de <i>S. saevissima</i> em simulação de minicolônias.....	18
4.4. Teste de eficiência de controle em colônias no campo utilizando suspensão fúngica.....	19
4.5. Análise dos dados.....	20
5. RESULTADOS	21
5.1. Testes de virulência de <i>S. saevissima</i> com papel impregnado com fungo.....	21
5.2. Testes inundativo de minicolônias de <i>S. saevissima</i> com suspensão fúngica, em condições de simulação de campo.....	26
5.3. Teste de inoculação inundativa de suspensão fúngica em colônias no campo.....	27
6. DISCUSSÃO.....	31

6.1.	Testes de virulência de <i>S. saevissima</i> com papel impregnado com fungo.....	31
6.2.	Testes inundativo de minicolônias de <i>S. saevissima</i> com suspensão fúngica, em condições de simulação de campo.....	33
6.3.	Teste de inoculação inundativa de suspensão fúngica em colônias no campo.....	34
7.	CONCLUSÃO.....	37
	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	38

RESUMO

SOUZA, Willians Guimarães; MSc.; Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro; março de 2023; SUSCETIBILIDADE DA FORMIGA-DE-FOGO *Solenopsis saevissima* AOS FUNGOS ENTOMOPATOGÊNICOS *Beauveria bassiana* E *Metarhizium anisopliae*; Orientador: Richard Ian Samuels. Coorientadora: Thaís Berçot Pontes Teodoro.

Formigas-de-fogo da espécie *Solenopsis saevissima* são insetos com capacidade de causar danos no ambiente doméstico, no meio agrícola e à saúde humana. O método de controle mais utilizado para reduzir populações desses insetos é a aplicação de inseticidas químicos sintéticos. Porém, seu uso indiscriminado pode acarretar em graves problemas ambientais, intoxicação humana e seleção de insetos resistentes. O uso de fungos entomopatogênicos como agentes de controle biológico é uma abordagem com significativo potencial e de acordo com a demanda existente de estratégias mais sustentáveis e eficientes. *Beauveria bassiana* e *Metarhizium anisopliae* são os fungos entomopatogênicos que mais se destacam como agentes de controle biológico e podem infectar todos os estágios de desenvolvimento dos insetos. Desta forma, esse estudo teve como objetivo avaliar a suscetibilidade das formigas-de-fogo *S. saevissima* aos fungos entomopatogênicos *B. bassiana* e *M. anisopliae*, visando investigar o potencial para controle biológico desta espécie. Para isso, foram realizados ensaios de virulência fúngica na concentração de 1×10^8 conídios/mL, e ensaios de inoculação inundativa destes fungos em minicolônias em simulação de campo e em colônias íntegras no campo. Ao final dos ensaios, foi

observado que ambos os fungos entomopatogênicos afetaram negativamente a sobrevivência das formigas, tanto operárias quanto soldados. O tratamento mais eficiente com *B. bassiana* foi em soldados, apresentando sobrevivência de 0% depois de 7 dias (S_{50} de 6 dias). *M. anisopliae* também foi mais eficiente contra soldados, apresentando sobrevivência de 0% (S_{50} de 5 dias). Nos ensaios inundativos em minicolônias, as formigas tratadas com *B. bassiana* apresentaram 0% de sobrevivência ao final do ensaio. No tratamento com *M. anisopliae*, ao final do ensaio houve apenas 1,6% de formigas sobreviventes. No ensaio em colônias íntegras no campo, todas as colônias dos tratamentos fúngicos apresentaram inatividade após os 10 dias de inoculação da suspensão fúngica, enquanto que no tratamento controle as colônias se mantiveram ativas por todo o período. Dessa maneira, foi possível concluir que os fungos entomopatogênicos *B. bassiana* e *M. anisopliae* apresentam alto potencial para serem utilizados como agentes de controle biológico de *S. saevissima*.

ABSTRACT

SOUZA, Willians Guimarães; MSc.; State University of North Fluminense Darcy Ribeiro; March 2023; SUSCEPTIBILITY OF FIRE ANT *Solenopsis saevissima* (HYMENOPTERA FORMICIDAE) TO THE ENTOMOPATHOGENIC FUNGI *Beauveria bassiana* and *Metarhizium anisopliae*; Supervisor: Richard Ian Samuels.; Co-supervisor: Thaís Berçot Pontes Teodoro.

Fire ants of the species *Solenopsis saevissima* cause severe damage to domestic and agricultural environments and human health. The most commonly used method to control these insects is the application of synthetic chemical insecticides. However, this can lead to serious environmental problems, human intoxication and the selection of resistant insects. The use of entomopathogenic fungi as biological control agents has significant potential, being a sustainable and efficient strategy. *Beauveria bassiana* and *Metarhizium anisopliae* are entomopathogenic fungi commonly used as biological control agents and are able to infect all stages of insect development. Thus, this study aimed to evaluate the susceptibility of *S. saevissima* to the entomopathogenic fungi *B. bassiana* and *M. anisopliae*, aiming to investigate their potential for biological control of this species. To do so, fungal virulence assays were carried out at a concentration of 1×10^8 conidia/mL in *S. saevissima* by contact with fungus impregnated filter paper inundative inoculation of these fungi in minicolonies in a field trail simulation and in whole colonies in the field. At the end of the assays, it was observed that both entomopathogenic fungi negatively affected the survival of ants, both workers, and soldiers. The most effective treatment with *B. bassiana* was

against soldiers, with 0% survival after 7 days (S_{50} of 6 days). *Metarhizium anisopliae* was also more efficient against soldiers, (S_{50} of 5 days). In the inundative assay using minicolonies, the ants treated with *B. bassiana* showed 0% survival at the end of the test. In the treatment with *M. anisopliae*, at the end of the trial there were only 1.6% of the ants still alive. In the assay with whole colonies in the field, all of the colonies treated with fungi showed inactivity 10 days after inoculation of the fungal suspension, Both entomopathogenic fungi, *B. bassiana* and *M. anisopliae*, have high potential to be used as biological control agents against *S. saevissima* .

1. INTRODUÇÃO

As formigas-de-fogo, como a espécie *Solenopsis saevissima* (F. Smith.) (Hymenoptera: Formicidae), são insetos, que embora endêmicos das Américas do Sul e Central, são invasoras de diversas regiões do mundo como Ásia, Europa e principalmente América do Norte (Costa, 2019; De Jong, 2020). Essas formigas são consideradas importantes insetos-praga tanto no meio urbano, como no meio rural (Tschinkel, 2013; Fernandes, 2016). Apresentam como principal dano, suas dolorosas picadas, que em casos mais agravados, podem causar choques anafiláticos e até a morte de suas vítimas. O comportamento altamente agressivo das formigas-de-fogo e os ataques cooperativos dos indivíduos da colônia intensificam os danos causados, podendo apresentar até centenas de picadas por ataque (Malaspina, 2004; Fernandes et al., 2016). Estima-se que 35% dos casos hospitalares devido picadas de insetos são causados por formigas-de-fogo (Zeringóta et al., 2014). Nos EUA, aproximadamente 50% da população é ferroadada por formigas-de-fogo ao menos uma vez ao ano, sendo em sua maioria idosos e crianças vítimas dos ataques dessas formigas (Golden, 2011). No Brasil, assim como em toda América do Sul, *S. saevissima* é a espécie de formiga morfológicamente variada, e abundante em extensão territorial (Wilson, 1952; Fox, 2010). Além dos danos à saúde, essa espécie tem potencial de causar graves prejuízos econômicos, danificando folhas e fuste das árvores, abrindo orifícios e galerias até a região apical, atacando novas brotações e brotos terminais, o que prejudica a formação retilínea dos troncos e afeta a uniformização para

comercialização, como ocorre na cultura do Paricá, árvore da floresta atlântica. (Lunz, 2009; Fox, 2010).

Os métodos de controle de formigas-de-fogo ainda não são bem estabelecidos, porém as técnicas com uso de químicos sintéticos são as mais empregadas (Pinto et al., 2019). A eficácia destes métodos no controle das formigas-de-fogo é baixa, e potencialmente acarreta resistência (Fernandes et al., 2020). Além da baixa eficiência, o uso de produtos químicos sintéticos causa graves problemas ambientais, tal como a contaminação de lençóis freáticos e do solo, morte de animais não alvo e provoca severos problemas de saúde humana, como diversos tipos de câncer (Kishor et al., 2021).

Métodos de controle alternativos aos químicos sintéticos estão sendo estudados e aplicados em diversas culturas a fim de reduzir os impactos ambientais e à saúde humana, além de serem mais específicos e eficazes contra as espécies de pragas-alvo (Pratissoli, 2018). O controle biológico é uma das técnicas e consiste no uso de inimigos naturais de pragas, rurais ou urbanas, para controlar as mesmas (Parra, 2019). O controle microbiano é uma vertente do controle biológico em que se aplica organismos entomopatógenos para controlar insetos vetores de doenças ou pragas. Esses organismos recebem esse nome pela capacidade de causar patogenicidades (doenças) infecciosas em seus insetos-hospedeiros, em condições ambientais favoráveis. Dentre eles se destacam os vírus, bactérias, protozoários, helmintos (nematoides) e fungos (Shapiro et al., 2012).

Os fungos entomopatogênicos são os microrganismos mais utilizados no controle microbiano contra insetos-praga e vetores de doenças. Isso se justifica pelo fato de serem os únicos que não precisam ser ingeridos para causar patogenicidades em seus hospedeiros, infectando-os diretamente através da cutícula (De Souza, 2022). Dentre os fungos entomopatogênicos, os mais aplicados comercialmente pertencem aos gêneros *Beauveria* e *Metarhizium* (Ascomycota: Hypocreales) (Hetjens et al., 2022), que apresentam alta variação genética, sendo capazes de infectar uma vasta gama de hospedeiros, incluindo insetos de todas as ordens e em todos estágios de desenvolvimento (McGuire, 2020).

Pesquisas recentes mostram alto potencial no uso de fungos entomopatogênicos para o controle de formigas-de-fogo da espécie *Solenopsis invicta*, conseguindo alcançar taxas de 89% de mortalidade das formigas (Rojas,

2018). No entanto, estudos voltados para *S. saevissima*, uma espécie do grupo formiga-de-fogo bastante recorrente no Brasil, ainda são escassos, necessitando de mais pesquisas avaliando a capacidade dos fungos entomopatogênicos de controlar essa praga. Portanto, a fim de reduzir impactos negativos do uso de inseticidas químicos esse trabalho teve como objetivo avaliar a suscetibilidade de *S. saevissima* aos fungos entomopatogênicos *Beauveria bassiana* e *Metarhizium anisopliae*, visando o potencial de controle biológico desta espécie.

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1. Família Formicidae

Todas as espécies de formigas estão agrupadas na família Formicidae. Apesar disso, as distintas espécies apresentam características e hábitos bem singulares e divergentes entre si (Alencar, 2021). Entre todas as espécies animais existentes no planeta, as que predominam são as formigas. Há aproximadamente entre 10 quatrilhões a 1 septilhão de indivíduos em todo mundo, equivalente a cerca de 15% de toda biomassa animal, divididos em mais de 18.000 espécies, dentre estas, mais de 10.000 já descritas (BBC News Brasil, 2015; Santos, 2021). As formigas são insetos eusociais, seres com o mais alto grau nível de organização social entre os animais, classificados por apresentar sobreposição de gerações em uma mesma colônia, cuidado cooperativo com a prole, e divisão de tarefas entre castas reprodutora (rainha) e operárias. (Wazema, 2019).

No Brasil, mais de 2.000 espécies de formigas já foram documentadas. Estes insetos são altamente benéficos ao ambiente, por realizarem dispersão de sementes, ciclagem de nutrientes, e degradação de matéria orgânica (Gama, 2019; Santos, 2020). Segundo Macedo (2011), há séculos as formigas vem sendo usadas como inimigos naturais de espécies prejudiciais aos humanos. Durante o século III, as formigas eram empregadas no controle de pragas de citros na China, e nos séculos IV e V como controle de pragas no Oriente Médio. Porém esses artrópodes também podem causar inúmeros prejuízos aos humanos, seja para a saúde, por causar alergias ou infecções hospitalares (Moreira et al, 2005). Em pesquisa feita

no Hospital Universitário Polydoro Ernani de São Thiago – SC, Paulino Córdova (2021) identificou a presença de 11 espécies bacterianas em formigas coletadas, oferecendo riscos aos pacientes suscetíveis. Espécies de formigas podem também danificar equipamentos eletrônicos, móveis e serem pragas importantes em lavouras. E ainda, formigas-cortadeiras, importantes pragas da agricultura, que utiliza material vegetal para cultivar fungos simbiotes, causam danos diretos nas culturas, além de elevar custos de implementos e manutenção (Palma, 2016).

2.2. Formigas-de-fogo

Solenopsis é um dos mais importantes gêneros de formigas, que compreende formigas distribuídas de forma cosmopolita (Martins et al., 2021). As espécies do grupo conhecido por formigas-de-fogo, como *Solenopsis invicta* e *Solenopsis saevissima*, são nativas da América do Sul e América Central (Costa, 2019). A maior parte desses indivíduos estão concentrados nas áreas urbanizadas, construindo ninhos em gramados abertos e jardins, em áreas pavimentadas, caixas de fiação e aparelhos eletrônicos (Fernandes, 2016). Seus formigueiros podem atingir a profundidade de 1,5 m abaixo do solo, com estrutura constituída em galerias e câmaras no subsolo, sendo facilmente identificados pelo amontoado de terra, murundu, solto acima do solo, que se forma principalmente após períodos chuvosos, e que pode chegar a até 60cm (Souza, 2019). Os murundus são responsáveis por absorver energia solar, que regula a temperatura ao longo de seus extratos, maximizando o crescimento da prole. Em épocas mais frias, a formiga-de-fogo propende a construir murundus maiores para melhor absorção da luz solar, que é indispensável na realização de funções dentro do ninho (Fernandes et al., 2016).

Solenopsis spp. são insetos polimórficos, e como toda formiga, apresentam metamorfose completa, dividida em: ovo, larva (com quatro ínstaes), pupa e adultos. O ciclo de vida completo das operárias varia de 20 a 45 dias (Hölldobler e Wilson, 1990). As larvas eclodem cerca de 8 a 10 dias após a postura dos ovos. Cerca de 6 a 10 dias depois passam para o estágio de pupa, emergindo em adultos em cerca de 9 a 15 dias (Fernandes, 2016). Suas colônias podem possuir até 220.000 indivíduos (McFrederick, 2013). Divididos entre as castas de operárias mínimas e máximas (soldados), e pela casta reprodutora, sendo possível possuir

mais de uma rainha (Arsenault et al., 2020). A coloração das formigas varia em amarelada, vermelha, castanha ou enegrecida (Tschinkel, 2006). As operárias e soldados medem cerca de 2 mm e 3 mm, respectivamente, e a rainha pode medir até 7 mm, e colocar de 150 a 200 ovos por dia (Hölldobler e Wilson, 1990). Durante a reprodução, a cópula é feita no ar, no voo nupcial, podendo atingir 250 m de altura. As formigas podem se distanciar em um raio de 2 km do seu formigueiro de origem, para dispersar o máximo possível as fêmeas férteis, evitando erradicação da espécie. Porém, devido as adversidades naturais, somente 2 em cada 100 aladas conseguem fundar uma nova colônia (Hölldobler e Wilson, 1990). O formigueiro atinge a maturidade no período de 4 a 6 anos, podendo viver por mais de 20 anos. A rainha tem expectativa de vida de 8 anos, e geralmente são substituídas por outra após sua morte (Fernandes, 2016).

As formigas-de-fogo possuem o hábito alimentar onívoro e oportunista, se alimentando tanto de plantas quanto de animais (vertebrados e invertebrados), ingerindo o líquido de frutas, sementes e até insetos (Qin, 2019). São encontradas também em carcaças de pequenos mamíferos e aves, estando diretamente relacionada com o processo de decomposição orgânica. As operárias apresentam o comportamento de transportar pequenos recursos alimentares individualmente para colônia, e para recursos maiores, elas segmentam previamente o alimento e transportam de maneira cooperativa (Qin, 2019). Os adultos geralmente se alimentam de líquidos açucarados, enquanto os juvenis, na fase larval, ingerem mais proteínas (Calabi et al., 1989).

Devido seu comportamento agressivo, esses insetos podem eliminar competitivamente outras espécies de formigas, além de outros artrópodes, sendo um dos predadores mais ativos em diversas culturas. Perturbações na colônia podem desencadear ataques rápidos, com centenas de indivíduos. As formigas fixam as mandíbulas na vítima, e ferroam cerca de 10 a 12 vezes, injetando aproximadamente 10 µg de veneno (Malaspina, 2004; Fernandes, 2016). Suas ferroadas podem ser responsáveis por causar choques anafiláticos e até morte em casos mais agravados.

Seu veneno é produzido por duas glândulas exócrinas agregadas ao ferrão: a glândula ácida (ou glândula de veneno) e a glândula básica (ou glândula de Dufour) (Billen, 2000; Cruz-Landim et al., 2002). O veneno possui uma mistura única entre os artrópodes, sendo composto por 90% de alcaloides e uma solução

aquosa de proteínas alergênicas, sendo esta combinação responsável pelos incômodos gerados pelas ferroadas (Fox, 2010). Estima-se que 35% de casos hospitalares de picadas de insetos em humanos são causadas por formigas-de-fogo (Zeringóta et al., 2014). O ataque, em quase todos os casos, é cooperativo entre os indivíduos da colônia, podendo chegar a centenas de picadas, que atingem geralmente crianças e idosos ao pisar acidentalmente nos formigueiros. Além dos danos à saúde humana, as formigas-de-fogo podem ser prejudiciais para os animais domésticos, danificar equipamentos eletrônicos e ser consideradas pragas agrícolas, pois podem danificar sementes, plântulas germinadas, plantas em viveiros, além de dificultarem as ações dos trabalhadores rurais devido às suas ferroadas (Tschinkel, 2006).

Apesar de serem originárias da América do Sul, as formigas-de-fogo são invasoras de diversas regiões do mundo. Porém, nos Estados Unidos a invasão desse grupo de insetos foi ainda mais severa. O primeiro relato desses indivíduos no país foi em 1918, ano em que sua incidência ainda era restrita a partes do Alabama e Mississippi. Em 1930 a invasão dessas formigas foi mais agravada, se espalhando por mais de 260 milhões de acres de 9 estados do sudeste estadunidense (Lofgren, 1985; De Jong, 2020). Atualmente, ao menos uma vez no ano, cerca de 50% das pessoas que vivem em áreas infestadas nos EUA são ferroadas por essas formigas, e muitas vezes são hospitalizadas. A formiga-de-fogo apresentou uma alta adaptabilidade às condições climáticas adversas, se tornando uma espécie dominante e causando deslocamento ou até mesmo redução populacional de espécies de insetos nativos, inclusive outras formigas (Fernandes, 2016). Devido a incidência da formiga-de-fogo nos EUA, anualmente é gasto cerca de 6 bilhões de dólares, seja por prejuízos em lavouras, danos à saúde e tentativas de controle da espécie (Valles, 2022).

2.3. *Solenopsis saevissima*

Solenopsis saevissima é a espécie de formiga com maior variação morfológica e mais abrangente da fauna de formigas da América do Sul. As operárias dessa espécie podem medir de 1,27 mm a 1,89 mm de comprimento, as rainhas de 2,11 mm a 2,59 mm e os machos de 2,24 mm a 2,67 mm de comprimento, todos com coloração amarelada ou castanha (Wilson, 1952). No

Brasil *S. saevissima* ocorre em todas as regiões, apresentando populações bastante homogêneas em toda região norte, nordeste, sudeste e central. A espécie é caracterizada pela coloração amarela clara, as operárias são geralmente menores e com abdomens mais finos (Pitts et al., 2005; Pitts et al., 2018). Do sul do Mato Grosso até Santa Catarina a coloração das formigas se destaca de amarelo escuro a castanho escuro, com estrutura corporal geralmente maior. A partir do sul do Rio Grande do Sul as características morfológicas dos indivíduos são erráticas, dificultando definição (Wilson, 1952; Pitts, 2018).

Assim como as demais espécies do grupo formigas-de-fogo, *S. saevissima* apresenta o hábito alimentar onívoro, se alimentando principalmente de insetos, vivos ou mortos, mas também podendo realizar relações mutualísticas com pulgões, a fim de se alimentarem do líquido açucarado (honeydew) excretado por eles, e em casos mais raros se alimentarem de material vegetal (Hays, 1959). Um dos principais papéis ecológicos exercidos por essas formigas é a predação e a decomposição de matérias orgânicas. As formigas da espécie *S. saevissima* podem acelerar as taxas de decomposição de material orgânico, ao se alimentarem das carcaças de animais mortos, assim como retardá-las, agindo como uma barreira ecológica, ao preda dípteros imaturos que se estabelecem no cadáver do animal (Pereira, 2017).

No Brasil *S. saevissima* pode provocar graves acidentes de saúde, além de causar muitos danos a produções em diversas localidades, principalmente na região Amazônica. Apesar disso, a espécie nunca foi registrada como invasora de outros países, fato que pode se justificar pela composição de seu veneno. *S. saevissima* apresenta veneno com menor variedade de compostos quando comparado ao da espécie de formiga-de-fogo com maior relato de invasão pelo mundo, *Solenopsis invicta* (Fox et al., 2010; Potiwat et al., 2015) A ferroadada e injeção de veneno em suas vítimas é o principal dano causado por *S. saevissima*. Esse veneno é composto por 90% de isômeros *cis* e *trans* de um mesmo alcaloide piperidínico oleoso, sendo o restante uma solução aquosa de toxinas proteicas, incluindo neurotoxinas, fosfolipases e alérgenos (Fox, 2010).

Solenopsis saevissima causa importantes prejuízos para economia brasileira. Em pesquisa realizada no estado do Pará, foi descrito que formigas desta espécie causam injúrias aos Paricás (*Schizolobium amazonicum*), espécie de árvore adotada por cerca de 40% das empresas de reflorestamento (Luns et al.,

2007). Essas formigas danificam folhas e fuste das árvores, abrindo orifícios e galerias até a região apical, além de também atacarem novas brotações e brotos terminais, prejudicando a formação retilínea dos troncos e afetando a uniformização para comercialização (Lunz et al., 2009).

Apesar de ainda não estarem bem estabelecidas, as técnicas mais empregadas para o controle das formigas-de-fogo são utilizando produtos químicos sintéticos. Inicialmente com inseticidas de contato, como deltrin e heptacloro, sendo seguidos de iscas contendo sulfluramida em sua formulação (Oi et al., 2008; Pinto et al., 2019). Porém, além de não se obter sucesso em controlar as formigas, o uso dos produtos químicos ainda pode acarretar resistência por parte dos indivíduos, possivelmente pela rapidez que o inseticida age no corpo de *S. saevissima*, pois elimina rapidamente os indivíduos suscetíveis ao modo de ação do grupo químico e permite que os resistentes se propaguem (Fernandes et al., 2020). A ineficiência em erradicar a espécie alvo faz com que por muitas vezes se aplique os produtos químicos em concentrações e doses indiscriminadas. Esse fato provoca problemas ambientais, como contaminação de solo e lençóis freáticos e morte de animais não alvo. A utilização de inseticidas químicos desencadeia severos problemas de saúde, tanto do aplicador quanto do consumidor, incluindo diversos tipos de câncer e outros problemas de saúde (Camilotti, 2015). Desta forma, há uma grande demanda por meios de controle alternativos aos químicos, que sejam eficazes e sustentáveis.

2.4. Controle alternativo

Algumas técnicas de controle alternativo vêm sendo desenvolvidas com a finalidade de reduzir os impactos negativos ao ambiente e à saúde humana. O uso de metabólitos secundários de plantas, como óleos essenciais com propriedades inseticidas, está sendo amplamente pesquisado para aplicação como controle de insetos-praga. Estudo realizado na China mostrou que aplicação de inseticidas botânicos compostos de 36,61% de óleos essenciais de cânfora (*Cinnamomum camphora*), com concentração de 2,55 µg/mL, apresentaram a capacidade de causar mortalidade de 84,89% de *S. invicta* em 72h pós-aplicação (Fu et al., 2015). Em outra pesquisa realizada na China, foi observado que óleos essenciais de eucalipto (*Eucalyptus globulus*), ao serem aplicados como fumigantes, com

concentração de 100 mg/kg, em *S. invicta*, apresentaram repelência completa às formigas 16h pós-aplicação (Wang et al., 2014). Porém, apesar de apresentarem grande potencial para controlar formigas-de-fogo, a aplicação de óleos essenciais como inseticidas ainda enfrenta limitações burocráticas, como falta de agências reguladoras (Isman, 2020). E ainda, limitações físico-químicas, como a alta volatilidade e pouca estabilidade, além de apresentarem sensibilidade a fotodegradação (Maria Beltrame et al., 2013).

Controle Biológico

Apesar de outros métodos alternativos ao uso de produtos químicos, como os citados acima para o controle de pragas, o controle biológico é o método mais eficiente e que faz uso de um fenômeno natural a fim de controlar pragas, agrícolas ou urbanas, e insetos transmissores de doenças a partir do uso de seus inimigos naturais, sejam eles nematoides, insetos benéficos, como predadores e parasitoides, ou até mesmo microrganismos como fungos, vírus e bactérias (Heimpel et al., 2017). O uso dessa prática tem como um dos principais benefícios não apresentar resíduos tóxicos em alimentos, sendo inofensivos ao ambiente e à saúde humana (Parra, 2019).

O controle microbiano é uma vertente do controle biológico que utiliza organismos entomopatógenos, microscópicos ou não, para controlar populações de insetos-praga ou vetores de doenças. Esses organismos podem ser vírus, bactérias, protozoários, fungos e helmintos (nematoides), e são assim chamados por apresentarem a capacidade de causar patogenicidades (doenças) infecciosas em seus insetos-hospedeiros (Kunimi, 2007). Uma das principais vantagens do uso do controle microbiano é a alta seletividade dos agentes entomopatógenos no controle de pragas, assim como a fácil multiplicação e produção. Esses microrganismos benéficos são selecionados a partir de sua eficácia contra os insetos prejudiciais, e multiplicados em meios artificiais, podendo ser produzidos em grande escala (Köhl, 2019).

Fungos entomopatogênicos

Dentre os microrganismos entomopatogênicos, os fungos se destacam, pois são os únicos que não precisam ser ingeridos para causar patogenicidades em seus hospedeiros, podendo infectá-los diretamente através da penetração pela

cutícula, sendo capazes de infectar um amplo espectro de pragas (Fernandes, 2010). O processo de infecção do fungo em seus alvos ocorre através das etapas de penetração e colonização em seus corpos (Mora et al., 2018). Os esporos, estruturas reprodutivas fúngicas, se fixam na cutícula, camada mais externa, do hospedeiro e germinam (Samuels et al., 2016). Após germinar, há a formação de apressórios, estruturas de penetração, a partir dos esporos, assim como há a produção enzimática e de metabólitos por parte dos fungos para degradar a cutícula do hospedeiro (Colombo et al., 2020). A penetração para o interior do inseto se dá a seguir, superando os estímulos das respostas imunológicas do hospedeiro, havendo a proliferação na hemolinfa dos insetos, e a diferenciação em blastosporos, estruturas que absorvem os nutrientes dessa hemolinfa, e produz metabólitos inseticidas (Mannino et al., 2019). E por fim, após a morte do inseto, há formação de hifas, estruturas fúngicas de disseminação pelos orifícios do cadáver do inseto, que irão esporular e repetir o ciclo (Mondal et al., 2016). O êxito dessa colonização depende das condições ambientais. Condições secas afetam negativamente a colonização, podendo inviabilizá-la, sendo então necessário alta umidade (Fernandes et al., 2016). O estágio de desenvolvimento do hospedeiro também é importante, variando de acordo com a espécie a ser colonizada (Carvalho, 2018).

Os fungos entomopatogênicos mais aplicados comercialmente pertencem aos gêneros *Beauveria* e *Metarhizium* (Ascomycota: Hypocreales) (Hetjens et al., 2022). *Beauveria* e *Metarhizium* podem habitar superfícies foliares de variadas plantas, solos ou podem ser encontrados como endofíticos. Apresentam grande diversificação genética, sendo capazes de infectar uma vasta gama de hospedeiros em diferentes nichos ecológicos, incluindo insetos de todas as ordens e em todos os estágios de desenvolvimento (McGuire, 2020).

Beauveria bassiana foi descoberta em 1835 pelo entomologista Agostino Bassi em bichos-da-seda da Itália, devido sua aparência pulverolenta branca recebeu o nome de “doença da muscardina branca” (Melo, 2012; Dannon et al., 2020). Anos depois Jean Beauverie catalogou o patógeno como *Botrytis bassiana* (Bhattacharyya et al., 2022). E apenas em meados do século XX que o gênero *Beauveria* foi formalmente descrito (Dannon et al., 2020). Dentre as espécies pertencentes ao gênero *Beauveria*, o fungo entomopatogênico *Beauveria bassiana* é um dos agentes de controle biológicos mais eficazes já descritos na literatura

(Ribeiro, 2011). É originário de solos, sobretudo saprófitos, e já possui isolados identificados que atuam como agentes patogênicos de mais de 700 espécies de insetos de diversas ordens (Zimmermann, 2007; Ortiz-Urquiza et al., 2016; Ali et al., 2018). Seu uso é inofensivo para a saúde humana e seu cultivo e armazenamento são mais fáceis e baratos comparados aos de pesticidas químicos sintéticos (Ottati-de-Lima, 2007; Amobonye et al., 2020). Os esporos assexuais de *B. bassiana* são conídios brancos ou amarelados, apresentando filamentos longos, septais e transparentes, com diâmetro das hifas medindo entre 2,5 µm e 25 µm. A formação dos conídios pode variar de acordo com as condições ambientais. Em ambientes aeróbicos o fungo *B. bassiana* pode produzir conídios esféricos, de 1 a 4 µm de diâmetro, ou conídios ovais, com 1,5 a 5 µm de diâmetro. Porém em condições anaeróbicas, o fungo pode produzir blastosporos ovais com 2 a 3 µm de diâmetro e até 7 µm de comprimento (Dannon et al., 2020). Esses esporos são dispersados pelo vento, chuva ou até mesmo por insetos vetores, auxiliando o fungo a infectar hospedeiros suscetíveis (Ortiz-Urquiza et al., 2016).

O gênero *Metarhizium* é composto de fungos filamentosos muito conhecidos pela sua capacidade de infectar diversos artrópodes, principalmente insetos. Porém esses fungos também podem comumente ser saprófitos, colonizadores de rizosfera e endófitos benéficos (Guo et al., 2017; St. Leger, 2020). *Metarhizium anisopliae* é a espécie mais pesquisada do gênero, pela ampla gama de hospedeiros que é capaz de infectar e tem alta incidência em diferentes ecossistemas (Brancini et al., 2018). Descoberto na Rússia em 1879 pelo pesquisador Metschnikoff, parasitando larvas de *Anisopliae austriaca*, *M. anisopliae* primeiramente recebeu o nome de *Entomophthora anisopliae*, e após um ano o mesmo pesquisador o descreveu como *Isaria destructor* (Zimmermann et al., 1995). Apenas em 1883 foi descrito pelo cientista Sorokin como membro do gênero *Metarhizium* (Pamphile, 1993). O primeiro registro desse fungo no Brasil foi feito por Pestana em 1923, quase meio século após seu descobrimento, quando o pesquisador identificou o agente entomopatogênico infectando duas espécies de cigarrinha (*Mahanarva fimbriolata*) (Li et al., 2009). O fungo *M. anisopliae* apresenta micélio transparente e septado, com conidióforos característicos, sobre os quais surgem conídios, geralmente uninucleados e cilíndricos, na coloração verde, com comprimento de 10 -14 x 4 - 6 µm (Liu et al., 2003). Não há registros de danos causados por *M. anisopliae* na saúde humana e no meio ambiente. Pesquisas científicas vem mostrando que o

uso desse fungo como agente no controle de pragas estão tendo resultados similares aos de pesticidas químicos. Apontando o potencial desse fungo entomopatogênico para o controle biológico (Peng et al., 2021).

2.5. Fungos entomopatogênicos x Formigas-de-fogo

Uma das primeiras publicações sobre a interação do fungo entomopatogênico *B. bassiana* visando o controle das formigas-de-fogo foi realizada por Brome e seus colaboradores em 1976. Neste estudo foi feita aplicação tópica e por ingestão de conídios do fungo em larvas aladas de formigas da espécie *Solenopsis richteri*, alcançando taxas de mortalidade das formigas em 95% e 84%, respectivamente. Em 1987, Stimac e Alves testaram a patogenicidade de diferentes isolados de *B. bassiana*, na concentração de 1×10^7 conídios/mL, em colônias de *S. invicta*, conseguindo alcançar taxas de 90% de mortalidade das formigas. Em 1990, os mesmos autores sugeriram que o fungo entomopatogênico *B. bassiana* infectava as formigas de forma natural, causando mortalidade em populações de *S. invicta* no Brasil, aumentando o interesse por pesquisas com a finalidade de desenvolver pesticidas biológicos contra essas formigas. Pereira (1991) ao avaliar a eficácia de infecção da *B. bassiana* em operárias de *S. invicta* pulverizou, de forma direta, suspensão fúngica na concentração de 1×10^6 conídios/mL, concluindo que se houver contato suficiente entre os conídios e *S. invicta*, que poderia ser controlada por *B. bassiana*.

Um dos poucos estudos na literatura sobre infecção de *B. bassiana* em formigas-de-fogo da espécie *S. saevissima* foi realizado em Piracicaba/ SP, em 1996, por Alves e seus colaboradores da Universidade da Flórida. Neste trabalho os pesquisadores obtiveram taxas máximas de 80% de mortalidade das formigas ao aplicarem suspensão fúngica com a concentração de 1×10^8 conídios/mL. Esse estudo demonstrou o potencial que o fungo entomopatogênico *B. bassiana* tem em controlar *S. saevissima*. Entretanto, infelizmente há poucos trabalhos aprofundando a capacidade de infecção desse, ou de outros fungos entomopatogênicos, em *S. saevissima*.

Rojas (2018) testou contato indireto de conídios de isolados de *B. bassiana* em operárias de *S. invicta* através da pulverização de suspensão fúngica na concentração 1×10^6 conídios/mL, alcançando taxas de mortalidade de 89% das

formigas em 4 dias. Já em estudo feito por Nalini e Sasinathan (2020), na Índia, em que foi aplicado arroz cozido com cultura esporulada de *B. bassiana*, nas concentrações de 3 g, 5 g, 7 g e 10 g de arroz com conídios, em pastagem com a incidência de murundus de *S. geminata*, foi observada redução dos murundus em 24h nas concentrações de 5 g, 7 g e 10 g. Porém nos tratamentos com concentrações de 7 g e 10 g foi observado a formação de novos murundus, no entanto o tratamento com 5 g apresentou mortalidade das formigas logo após 48h de aplicação. Esses fatos evidenciam que apesar de promissor, o controle biológico de formigas-de-fogo com fungos entomopatogênicos deve ser feito em concentrações adequadas, pois a estrutura de defesa das colônias é altamente organizada. Em 2022, uma pesquisa realizada na Coreia por Park e seus colaboradores mostrou resultados de até 100% de mortalidade de operárias de *S. invicta* em apenas 7 dias após o contato com suspensão fúngica de *B. bassiana* na concentração 1×10^7 conídios/ mL.

Em 2019 ao realizar uma pesquisa na China com a finalidade de avaliar o efeito da patogenicidade de *M. anisopliae* em diferentes castas de *S. invicta*, Hualong apontou grande suscetibilidade das formigas ao fungo, especialmente a casta de machos, que apresentou menor resistência, enquanto as fêmeas aladas e operárias se mostraram mais resistentes às ações fúngicas (Hualong, 2019). Em contrapartida, um estudo realizado em 2016 na China, demonstrou que quatro inseticidas químicos comumente usados no controle de formigas-de-fogo, abemectina, fenoxicarbe, metropeno e fipronil, não afetavam negativamente a germinação de *M. anisopliae*, possibilitando o uso conjunto desses seguindo as práticas do manejo integrado de pragas (MIP), podendo potencialmente reduzir as defesas imunológicas das formigas para facilitar a infecção fúngica (Wang, 2016). Mais recentemente em estudo realizado na Índia com a finalidade de avaliar diferentes dosagens de *M. anisopliae* em ninhos de *S. geminata*, foi mostrado que o fungo foi eficiente em controlar os formigueiros em apenas 3 dias com a dosagem de 10 g de conídios, e em 5 dias com as dosagens de 5 g e 7 g de conídios (Nalini e Sasinathan, 2020). Porém apesar do alto potencial de controle biológico de formigas-de-fogo apresentado pelo fungo entomopatogênico *M. anisopliae*, poucos trabalhos avaliaram a ação desse fungo em formigas *S. saevissima*, a espécie do grupo formiga-de-fogo mais recorrente no Brasil.

3. OBJETIVOS

3.1. Objetivo geral

Esse estudo teve como objetivo avaliar a suscetibilidade das formigas-de-fogo *Solenopsis saevissima* aos fungos entomopatogênicos *Beauveria bassiana* e *Metarhizium anisopliae*.

3.2. Objetivos específicos

- Avaliar a virulência de conídios de *B. bassiana* e *M. anisopliae* em operárias e soldados de *S. saevissima* em condições de laboratório;
- Avaliar o efeito de formulações fúngicas de *B. bassiana* e *M. anisopliae* em minicolônias de *Solenopsis saevissima* em colônias mantidas em laboratório;
- Avaliar o potencial de controle biológico das formulações fúngicas de *B. bassiana* e *M. anisopliae* em colônias de *S. saevissima* no campo.

4. METODOLOGIA

O trabalho foi conduzido no setor de Mirmecologia do grupo de Patologia de Insetos do Laboratório de Entomologia e Fitopatologia da Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro. As colônias de *Solenopsis saevissima* utilizadas nos bioensaios foram coletadas no *campus* da UENF, através da escavação dos ninhos, para coleta da terra e máximo número de operárias, soldados e rainhas. As colônias foram transferidas para bandejas e mantidas no setor de Mirmecologia onde eram mantidas com temperatura e umidade controladas (27°C e 70%UR) e oferecidas diariamente laranja-pera, sardinha ou larvas de *Tenebrio molitor*. A espécie foi identificada pelo professor Dr. Jacques H. C. Delabie (CEPLAC/ Itabuna – BA).

4.1. Produção dos fungos entomopatogênicos

As espécies de fungos utilizados neste trabalho foram *Metarhizium anisopliae* e *Beauveria bassiana*. Os isolados utilizados destas espécies foram, respectivamente, MTK 01 (isolado de cigarrinha das pastagens, coletado em Itabira, MG) e LPP139 (isolado de broca do café, coletado em Bom Jardim, RJ). Os fungos foram cultivados em meio de cultivo composto por batata, dextrose e ágar (BDA) em placas de Petri e mantidos em BOD a 27°C e fotoperíodo 12hL/12hE por 10 dias. Após este período, os conídios eram removidos da placa, inoculados em arroz parboilizado estéril e mantido novamente em BOD a 27°C e fotoperíodo de

12hL/12hE por 10 dias. Esse procedimento foi necessário para produzir volumes maiores de suspensão fúngica para que fossem utilizados nos testes.

Após pré-testes de virulência dos fungos em indivíduos de *S. saevissima* para ajustar a concentração adequada de suspensão fúngica a ser utilizada nos ensaios, foi estabelecido a concentração de 1×10^8 conídios/mL em Tween 20 (0,02%) de ambos os isolados. Nos tratamentos controle foram utilizados somente Tween 20 (0,02%) em água destilada estéril, uma vez que em pré-testes, esta foi a concentração do espalhante adesivo que não afetou a sobrevivência das formigas.

4.2. Testes de virulência

Foram realizados testes de virulência em operárias e soldados das colônias coletadas na UENF e mantidas em laboratório. Foram estabelecidos 16 tratamentos: 8 para soldados e 8 para operárias de *S. saevissima*. Nestes tratamentos foram utilizados ambos os fungos *M. anisopliae* e *B. bassiana* na concentração de 1×10^8 conídios/mL. Foram definidos dois diferentes tempos de contato com o fungo: contato por apenas 48h e contato contínuo por 10 dias. Utilizou-se o segundo tipo de tratamento (contato contínuo), pois nas segunda e terceira fases de experimentos, as formigas ficaram em contato contínuo com o fungo devido a inoculação de suspensão fúngica na terra. A figura 1 apresenta a representação gráfica dos 16 tratamentos estabelecidos nos ensaios.

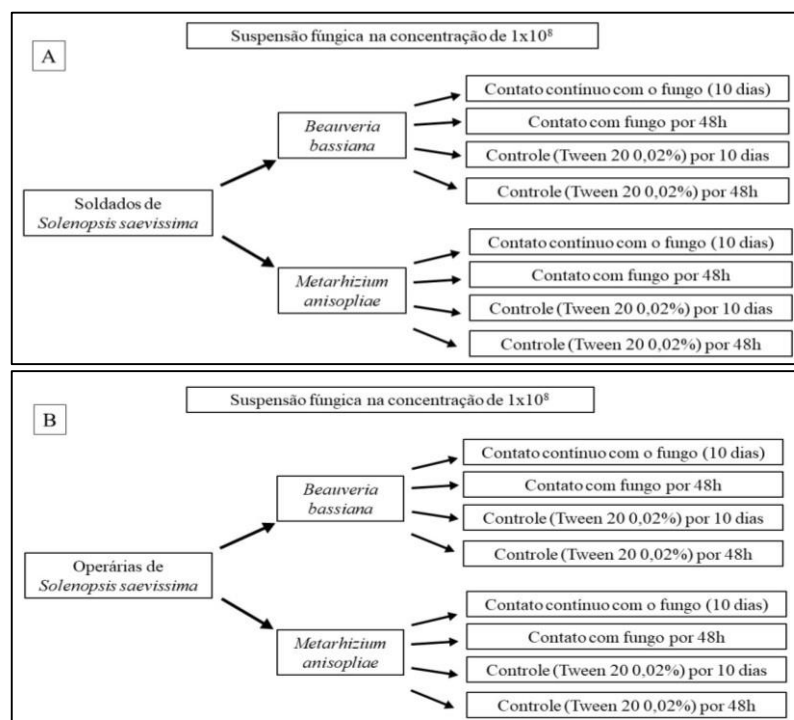


Figura 1. Tratamentos estabelecidos nos bioensaios de virulência de fungos entomopatogênicos (*B. bassiana* e *M. anisopliae*) em indivíduos de *S. saevissima* a partir do contato com papel impregnado com fungo.

O contato das formigas com a suspensão fúngica foi realizado de acordo com o procedimento a seguir: uma rodela de papel filtro impregnado com 1 mL de suspensão do fungo foi inserido na base de potes plásticos de 145 mL de volume, com furos na tampa para circulação de ar. Em cada pote com papel filtro + fungo foram inseridas 15 formigas, totalizando 120 formigas por tratamento. Para cada tratamento, foram estabelecidas 4 repetições.

As formigas de cada casta foram inseridas nos potes com auxílio de espetos de madeira, no qual as formigas subiam no espeto e eram assim transferidas para os potes. Caso fosse preciso, um pincel era utilizado como auxílio na transferência das formigas. Esse procedimento evitava qualquer injúria física que pudesse ser causada nas formigas, uma vez que são insetos pequenos e frágeis.

A avaliação da mortalidade das formigas foi realizada diariamente pelo período de 10 dias. Para os tratamentos com 48 horas de contato com o fungo, após este período inicial, as formigas foram transferidas para potes limpos para o prosseguimento da avaliação diária de mortalidade. Em todos os tratamentos, foi oferecido algodão embebido com sacarose a 20% para as formigas durante todo o período de avaliação. As formigas mortas foram transferidas para câmara úmida para avaliação de conidiogênese.

4.3. Teste de virulência em minicolônias no laboratório

Após verificar a eficiência da infecção fúngica por *M. anisopliae* e *B. bassiana* em indivíduos de *S. saevissima* após o contato com papel impregnado com fungo, foram realizados testes em minicolônias para averiguar a eficiência em ambiente simulando o campo.

Para isso, foram estabelecidas minicolônias com 100 gramas de terra e 30 indivíduos (15 soldados e 15 operárias) em potes de 350 mL. Após período de 5 dias de aclimatação dos indivíduos nas minicolônias, foram inoculados 50 mL de suspensão de *M. anisopliae* ou *B. bassiana* na concentração de 1×10^8 conídios/mL em cada minicolônias. O tratamento controle consistiu de Tween 20 a 0,02%. Cada

tratamento (*M. anisopliae*, *B. bassiana* e controle) consistiram em 4 repetições cada.

Para que, ao ser inoculado, o excesso de líquido pudesse escoar, foram feitos furos na base dos potes e os mesmos foram acomodados sobre uma tela suspensa. Ao longo de 10 dias, as minicolônias foram mantidas em temperatura ambiente e com oferta diária de sacarose 20% embebida em algodão. A avaliação da mortalidade foi realizada no décimo dia após a inoculação fúngica nas minicolônias. Para tanto, o conteúdo de cada pote com minicolônia foi cuidadosamente removido e disposto em uma bancada para que as formigas pudessem ser contabilizadas como vivas ou mortas. As formigas mortas que ainda não haviam apresentado conidiogênese foram transferidas para câmara úmida, para que as condições favorecessem a conidiogênese.

4.4. Controle em colônias no campo utilizando suspensões fúngicas.

Após observar os resultados obtidos nos testes anteriores, foi realizado teste de eficiência de controle biológico utilizando suspensões fúngicas em colônias no campo. Para este teste, foram selecionadas 12 colônias de *S. saevissima* no campus da UENF. Foram estabelecidos três tratamentos, com 4 repetições cada: suspensão com *M. anisopliae*, ou *B. bassiana* (ambos na concentração de 1×10^8 conídios/mL) e o tratamento controle, que consistiu de Tween 20 0,02%.

Para estabelecer o volume de suspensão para cada colônia, foi necessário estabelecer o volume do formigueiro. Para isso, foi utilizada a fórmula matemática de elipse ($x = \frac{2}{3} * \pi * a * b * c$, em que *a* é o comprimento [eixo longo] *b* é a largura [eixo curto] e *c* é a altura), que mede os eixos do formigueiro, encontrando seu volume em litros (Porter et al., 1992; Porter et al., 1997; Vogt, 2007). Em cada colônia, foi inoculado inundativamente a suspensão fúngica no mesmo volume da colônia (Tabela 1). Por exemplo, se a colônia possuía três litros de volume, era inoculado três litros de suspensão fúngica.

Como era inviável a contabilização do total de indivíduos na colônia para se avaliar a taxa de eficiência do fungo no controle do formigueiro, os parâmetros avaliados foram: tempo de início de reação após perturbação mecânica do formigueiro pelo período de 10 segundos, e o tempo de duração dessa reação após a perturbação do formigueiro. Esses dois parâmetros foram avaliados em dois

momentos: antes da inoculação inundativa da suspensão e 10 dias após a inoculação inundativa.

Tabela 1. Volume (em litros) das colônias *S. saevissima* no campo e das suspensões utilizadas nos tratamentos com *B. bassiana*, *M. anisopliae* e controle (Tween 20 0,02%) para inocular nas colônias. Valores referentes às quatro repetições realizadas para cada tratamento

Tratamento	Volume da colônia	Volume de suspensão
<i>B. bassiana</i>	3,768L	3,768L
	1,306L	1,306L
	1,036L	1,036L
	3,460L	3,460L
<i>M. anisopliae</i>	1,809L	1,809L
	2,308L	2,308L
	2,198L	2,198L
	1,583L	1,583L
Controle	2,940L	2,940L
	1,357L	1,357L
	1,758L	1,758L
	5,025L	5,025L

4.5. Análise dos dados

As curvas de sobrevivência dos indivíduos de *S. saevissima* expostas ao papel impregnado nos tratamentos contendo fungo e controle foram analisadas pelo teste de Kaplan-Meier e comparadas pelo teste de Log-Rank (5% de probabilidade de erro). As taxas de sobrevivência e o tempo médio de sobrevivência (S_{50}) dos indivíduos também foram estabelecidos. As análises foram realizadas no programa GraphPad v.7.

Para o teste de sobrevivência dos indivíduos no bioensaio inundativo das minicolônias, em condições de simulação de campo, utilizou-se o teste de Kruskal-Wallis para comparação dos tratamentos. A análise foi realizada no programa GraphPad v.7.

Para o teste de eficiência de controle em colônias no campo utilizando suspensão fúngica, utilizou-se ANOVA on Ranks para as diferenças de tempo de reação das colônias tratadas com *B. bassiana*, *M. anisopliae* e controle e teste post

hoc de Tukey ($\alpha=0,05$) para comparação das medianas. A análise foi realizada no programa Sigmaplot v.12.

5. RESULTADOS

5.1 Testes de virulência

Os ensaios de infecção com os fungos entomopatogênicos *Beauveria bassiana* e *Metarhizium anisopliae* em operárias e soldados de *Solenopsis saevissima* demonstraram que esses fungos foram eficientes em causar uma redução na sobrevivência desta espécie de formiga-de-fogo.

Os menores valores de S_{50} , de cinco dias, foram observados em operárias de *S. saevissima* expostas aos fungos *B. bassiana* ou *M. anisopliae* por 48h e em soldados expostos ao *B. bassiana* por 48h. O maior valor ($S_{50} = 7$) foi observado em soldados de *S. saevissima* expostos ao *M. anisopliae* por contato contínuo por 10 dias. As comparações dos valores de S_{50} e porcentagem de sobrevivência de todos os tratamentos podem ser observadas na Tabela 2.

Tabela 2. Valores de S_{50} e taxa de sobrevivência de operárias e soldados de *S. saevissima* infectadas com *B. bassiana* 1×10^8 e *M. anisopliae* 1×10^8 conídios/mL em contato contínuo ou por 48h de contato com fungo

Fungo entomopatogênico	Casta de <i>S. saevissima</i>	Tempo de contato	S_{50}	Sobrevivência
<i>B. bassiana</i>	Operárias	Contínuo	6 dias	9,2%
		48h	5 dias	13,5%
	Soldados	Contínuo	6 dias	0%
		48h	5 dias	3,3%
<i>M. anisopliae</i>	Operárias	Contínuo	6 dias	16,8%
		48h	5 dias	13,5%
	Soldados	Contínuo	7 dias	15,8%
		48h	5 dias	0%
Controle	Operárias	Contínuo	-	100%
		48h	-	96,2%
	Soldados	Contínuo	-	100%
		48h	-	93,9%

Operárias de *S. saevissima* expostas ao *B. bassiana* na forma contínuo, apresentaram sobrevivência de 9,2% (S_{50} de 6 dias), ilustrado na Figura 1 e Tabela 1. Já quando expostas ao *B. bassiana* durante um período de 48h, as operárias de *S. saevissima* apresentaram sobrevivência de 13,5% (S_{50} de 5 dias) (Figura 1; Tabela1). As curvas de sobrevivência de operárias de *S. saevissima* mostraram que os grupos tratados com *B. bassiana*, foram significativamente diferentes dos controles ($\chi^2=202,5$; gl=3; $p<0,0001$). E entre os tratamentos não houve diferença estatística ($\chi^2=0.01005$; gl=1; $p=0.9202$).

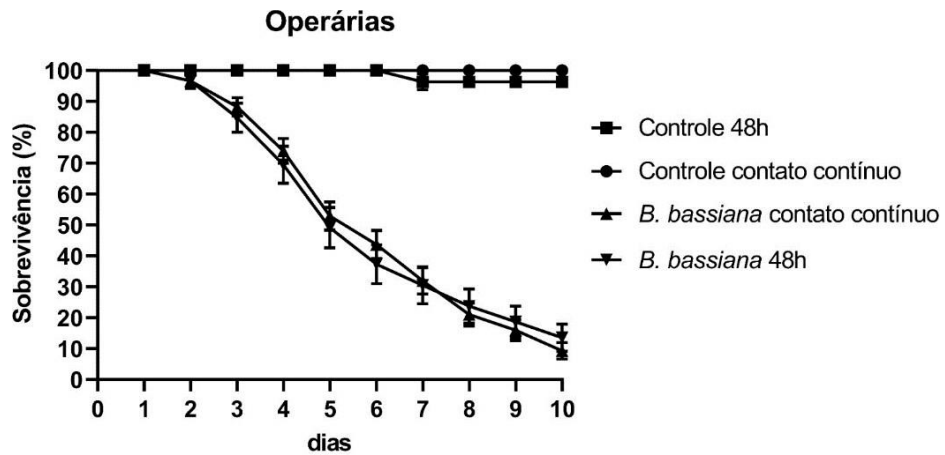


Figura 1. Taxa de sobrevivência de operárias de *S. saevissima* infectadas com *B. bassiana* a 1×10^8 conídios/mL em contato contínuo ou após 48h de contato com fungo.

Já em soldados de *S. saevissima* a infecção de *B. bassiana* foi mais eficiente que em operárias, apresentando sobrevivência de 0% em 7 dias (S_{50} de 6 dias) e 3,3% (S_{50} de 5 dias), quando expostas pelo período contínuo ou 48h ao fungo, respectivamente, apresentado na Figura 2 e Tabela 2. As curvas de sobrevivência de soldados de *S. saevissima* mostraram que os grupos tratados com *B. bassiana*, foram significativamente diferentes dos controles ($\chi^2=262,8$; $gl=3$; $p<0,0001$). E entre os tratamentos não houve diferença estatística ($\chi^2=3,743$; $gl=1$; $p=0,0530$).

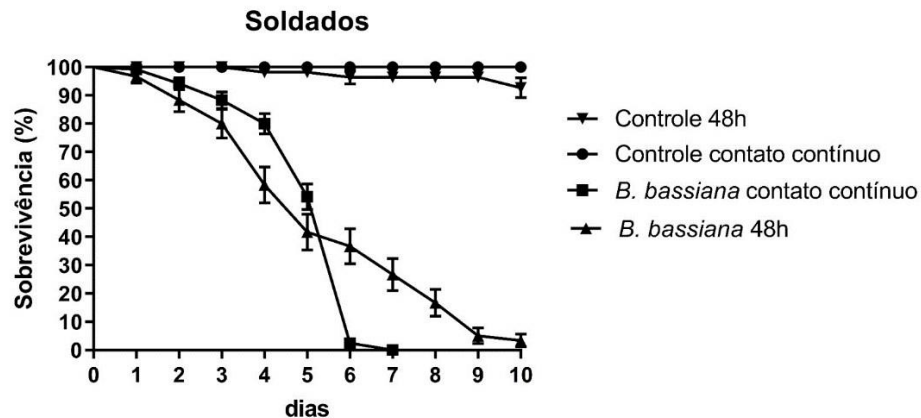


Figura 2. Taxa de sobrevivência de soldados de *S. saevissima* infectados com *B. bassiana* a 1×10^8 conídios/mL em contato contínuo ou após 48h de contato com fungo.

A infecção de *M. anisopliae* foi, em geral, menos eficiente que a de *B. bassiana*. Operárias de *S. saevissima* quando expostas ao *M. anisopliae* pelo período contínuo, apresentaram sobrevivência de 16,8% (S_{50} de 6 dias) (Figura 3) (Tabela 2). Já quando expostas pelo período de 48h, as operárias de *S. saevissima* apresentaram sobrevivência de 13,5% (S_{50} de 5 dias) (Figura 3; Tabela 2). As curvas de sobrevivência de operárias de *S. saevissima* mostraram que os grupos tratados com *M. anisopliae* foram significativamente diferentes dos controles ($\chi^2=178,3$; $gl=3$; $p<0,0001$). E que entre os tratamentos não houve diferença estatística ($\chi^2=2,034$; $gl=1$; $p=0,1540$).

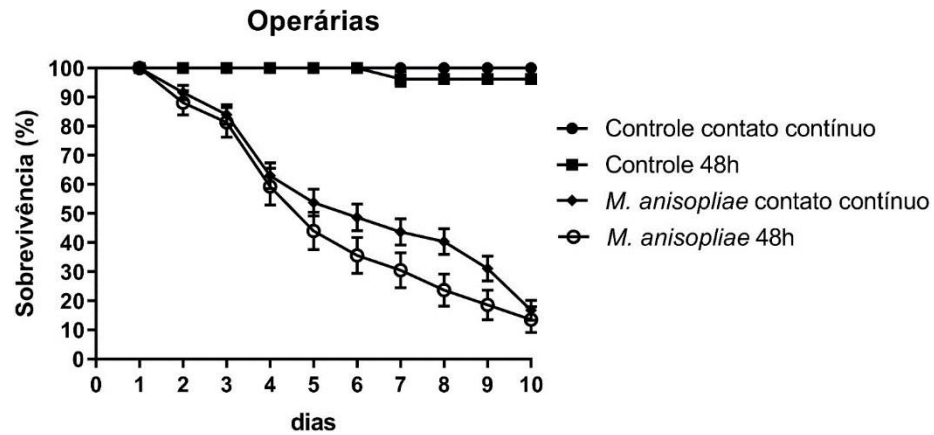


Figura 3. Taxa de sobrevivência de operárias de *S. saevissima* infectadas com *M. anisopliae* a 1×10^8 conídios/mL em contato contínuo ou após 48h de contato com fungo.

Soldados de *S. saevissima* foram mais suscetíveis à infecção fúngica que as operárias. Quando expostas ao *M. anisopliae* pelo período contínuo, soldados de *S. saevissima* apresentaram sobrevivência de 15,8% (S_{50} de 7 dias) (Figura 4; Tabela 2). Já quando expostas ao *M. anisopliae* pelo período de 48h, soldados de *S. saevissima* apresentaram sobrevivência de 0% (S_{50} de 5 dias) (Figura 4; Tabela 2). As curvas de sobrevivência de soldados de *S. saevissima* mostraram que os grupos tratados com *M. anisopliae*, foram significativamente diferentes dos controles ($\chi^2=282,7$; $gl= 3$; $p<0,0001$). E que entre os tratamentos também houve diferença estatística ($\chi^2=7,271$; $gl= 1$; $p=0,0070$), mostrando que a eficácia de infecção do fungo *M. anisopliae* quando exposto pelo período de 48h é maior em soldados de *S. saevissima* que quando exposto pelo período contínuo.

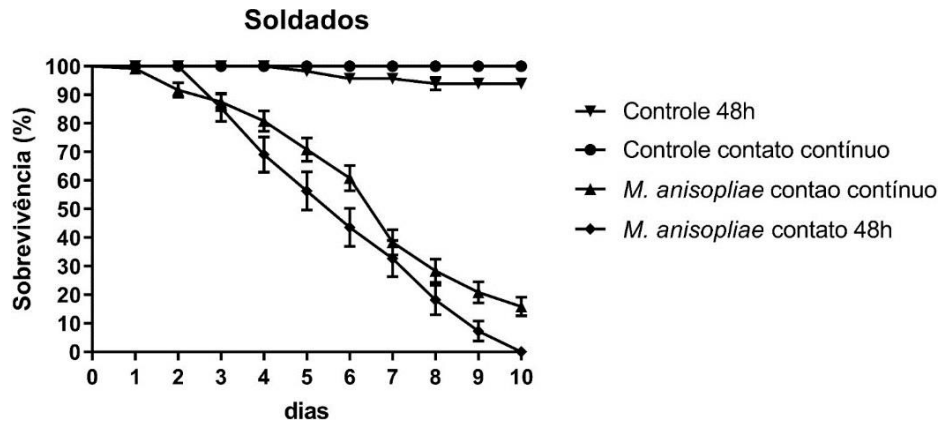


Figura 4. Taxa de sobrevivência de soldados de *S. saevissima* infectados com *M. anisopliae* a 1×10^8 conídios/mL em contato contínuo ou após 48h de contato com fungo.

As taxas de conidiogênese dos fungos entomopatogênicos nos cadáveres dos indivíduos mortos nos testes de virulência mostraram que tanto *B. bassiana* como *M. anisopliae* foram bem sucedidas ao infectar os insetos. A porcentagem de conidiogênese variou de 94,1% a 97,1%, confirmando a mortalidade pelos fungos (Tabela 3). As figuras 5 e 6 apresentam a conidiogênese nos cadáveres de *S. saevissima* tratadas com os fungos.

Tabela 3: Taxa de conidiogênese dos fungos *B. bassiana* e *M. anisopliae* em operárias e soldados de *S. saevissima* mortos nos testes de virulência com papel impregnado com fungo

Casta	Tempo de contato com o fungo	<i>B. bassiana</i>	<i>M. anisopliae</i>
Operárias	Contato contínuo	96,3%	96,9%
	48h	97,1%	94,2%
Soldados	Contato contínuo	95%	96%
	48h	94,8%	94,1%



Figura 5. Conidiogênese do fungo entomopatogênico *B. bassiana* em soldado de *S. saevissima* com 2,1 mm de comprimento, resultado do tratamento de contato contínuo.



Figura 6. Conidiogênese do fungo entomopatogênico *M. anisopliae* em soldado de *S. saevissima* com 2,4 mm de comprimento, resultado do tratamento de contato por 48h.

5.2 Testes inundativos em minicolônias de *S. saevissima*

A inoculação de *B. bassiana* e *M. anisopliae* na forma inundativa nos ninhos se mostrou eficiente pelo teste de Kruskal–Wallis ($H=336,956$, $gl=2$, $p<0,0001$) quando comparado com o grupo controle, sem fungo. Foi verificada redução significativa do número de formigas nas colônias dos tratamentos fúngicos no décimo dia, período estipulado para a avaliação da sobrevivência nos tratamentos.

As formigas das colônias tratadas com *B. bassiana* apresentaram 0% de sobrevivência no final do teste. No tratamento com *M. anisopliae* (Figura 7), ao final do ensaio houve apenas 1,6% de formigas sobreviventes. Já as formigas do grupo controle se mantiveram vivas ao final da avaliação, com 97,5% de sobrevivência (Tabela 4).

Tabela 4. Sobrevivência de *Solenopsis* expostas aos fungos *B. bassiana* e *M. anisopliae* de forma inundativa por 10 dias. Valores são referentes a % de sobrevivência das formigas calculado a partir de três repetições

Tratamento	Sobrevivência (%)
Controle	97,5
<i>B. bassiana</i>	0
<i>M. anisopliae</i>	1,6

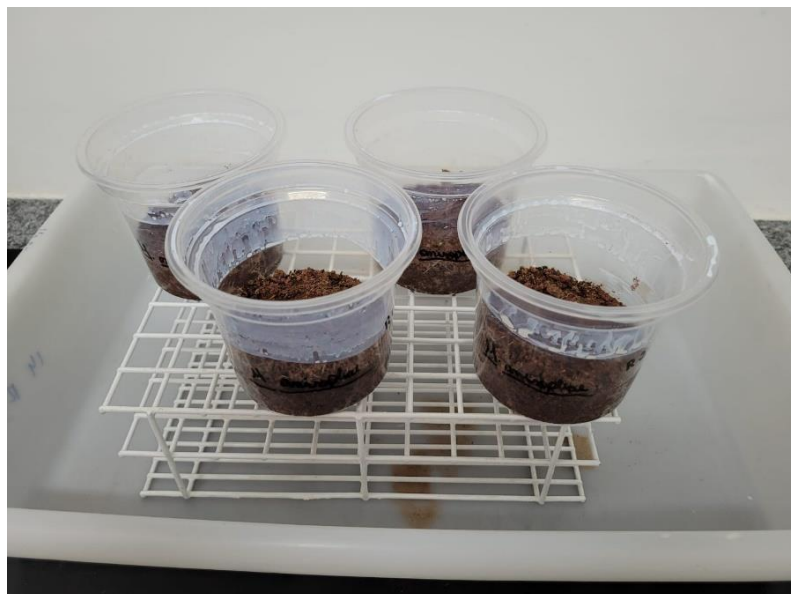


Figura 7. Minicolônias de *S. saevissima* em laboratório, com tratamento inundativo de suspensão fúngica de *M. anisopliae* com concentração de 1×10^8 conídios/mL.

5.3. Teste de inoculação inundativa no campo.

Os testes de inoculação inundativa das suspensões de fungo nas colônias no campo apresentaram resultados diferentes dos obtidos para a inoculação de apenas Tween 20 (0,02%) (Tabela 5). Antes da inoculação das suspensões fúngicas, o tempo para início da reação dos indivíduos da colônia quando ocorria a perturbação mecânica foi imediato, variando de 0 a 2 segundos. Quando foi realizada perturbação mecânica novamente após os 10 dias, nas colônias tratadas com *B. bassiana* (Figura 9) e *M. anisopliae*, não foi mais observada atividade de formigas, e, portanto, o tempo de reação foi nulo. Já para o tratamento controle, antes da inoculação de Tween 20 (0,02%), o tempo de início da reação após perturbação mecânica variou de 0 a 1 segundo. Após 10 dias, as colônias continuaram ativas, com tempo de início de reação variando entre 0 e 2 segundos.

A duração desta reação também foi observada. O tempo de permanência da reação variou de 46 segundos a 163 segundos nas colônias tratadas com *B. bassiana*. Esse tempo variou de 105 a 214 segundos nas colônias tratadas com *M. anisopliae*. Para o tratamento controle, esse tempo variou de 170 a 201 segundos. Contudo, quando novamente perturbado após 10 dias, apenas as colônias do tratamento controle apresentaram atividade de formigas. As colônias tratadas com fungo não apresentaram nenhuma atividade. Nas colônias do tratamento controle, o tempo de permanência da reação variou de 181 a 343 segundos. Resultado este até maior do que o observado no início dos testes, antes da inoculação do Tween 20.

Durante o período do bioensaio, o clima permaneceu ameno no campo, com temperaturas médias entre 23,6°C e 27,4°C. Os índices de precipitação permaneceram estáveis, choveu em maior intensidade em apenas um dia. A precipitação pluviométrica variou de 0 mm a 96,6 mm. (Figura 8).

Tabela 5. Tempo (em segundos) de início da reação de indivíduos da colônia quando a mesma sofre perturbação mecânica, e tempo (em segundos) de permanência dessa reação em dois momentos distintos: antes da inoculação de suspensão fúngica (inicial) e após 10 dias da inoculação (final). Valores referentes a quatro repetições por tratamento

Tratamento	Tempo de início de reação	Tempo de permanência da reação	Tempo de início de reação	Tempo de permanência da reação
	Inicial		Final	
<i>B. bassiana</i>	0	157	*	*
	2	56	*	*
	0	160	*	*
	0	163	*	*
<i>M. anisopliae</i>	0	147	*	*
	2	105	*	*
	0	186	*	*
	0	214	*	*
Controle	0	176	1	343
	0	170	2	181
	1	201	1	188
	0	200	0	205

*Colônia sem atividade observada de formigas.

A tabela 6 mostra a diferença dos tempos de duração da reação à perturbação mecânica antes da inoculação e após 10 dias de inoculação. Como observado na tabela 3, o tempo de duração da reação nas colônias do tratamento controle aumentou após 10 dias. Ao passo que nas colônias tratadas com ambos os fungos, os valores foram negativos, pois não foram detectadas atividades de indivíduos nas colônias após 10 dias. Os valores do teste de Tukey demonstram que o tratamento controle foi estatisticamente diferente dos tratamentos com fungo.

Tabela 6. Mediana e percentis da diferença do tempo (em segundos) de permanência da reação antes da inoculação do fungo e após 10 dias, nos tratamentos contendo *B. bassiana*, *M. anisopliae* e controle

Tratamentos	Mediana	25%	75%
<i>B. bassiana</i>	-158,5b	-162,25	-81,25
<i>M. anisopliae</i>	-166,5b	-207	-115,5
Controle	8a	-8,5	128

Medianas seguidas das mesmas letras não diferem pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade

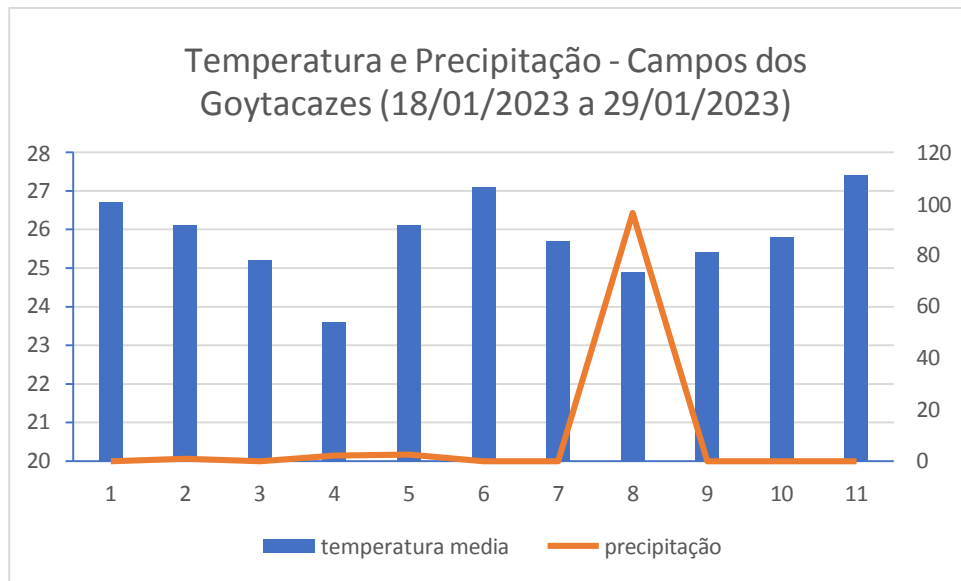


Figura 8. Temperatura média e precipitação pluviométrica diária da cidade de Campos dos Goytacazes/ RJ, durante o período de bioensaio das colônias de *S. saevissima* no campo.



Figura 9. Aplicação da suspensão fúngica de *B. bassiana* com concentração de 1×10^8 conídios/ mL, em colônias de *S. saevissima* no campo.

6. DISCUSSÃO

O presente trabalho mostrou pela primeira vez a comparação de infecções fúngicas causadas pelos fungos entomopatogênicos *B. bassiana* e *M. anisopliae* em formigas-de-fogo da espécie *S. saevissima*, e a suscetibilidade de castas (operária e soldado) a essa infecção. Foram realizados ensaios de virulência dos indivíduos em condição de laboratório, ensaios com mini-formigueiros em condição de simulação de campo, e por fim, ensaios de controle biológico no campo, utilizando suspensões fúngicas aplicadas inundativamente nas colônias. A partir destes ensaios, foi demonstrado experimentalmente que tanto o fungo entomopatogênico *B. bassiana* quanto *M. anisopliae* é eficaz como agente de controle biológico contra *S. saevissima*.

6.1 Testes de virulência

Os fungos entomopatogênicos testados, *B. bassiana* e *M. anisopliae* mostraram eficácia no controle de operárias e soldados de *S. saevissima*, apresentando taxas de até 100% de mortalidade das formigas. Porém *B. bassiana* demonstrou, de maneira geral, maior eficiência em infectar os insetos, uma vez que a menor taxa de mortalidade apresentada nos tratamentos com esse fungo foi de 86,5%. O tratamento com *B. bassiana* também apresentou elevada taxa de conidiogênese (97,1%) em formigas mortas no tratamento. Em um dos poucos trabalhos de infecção de *B. bassiana* em formigas-de-fogo da espécie *S.*

saevissima, Alves e colaboradores (1996), obtiveram taxas máximas de 80% de mortalidade das formigas ao aplicarem suspensão fúngica com a concentração de 1×10^8 conídios/mL. Rojas et al. (2018) ao utilizar um isolado de *B. bassiana* para infectar operárias de formiga-de-fogo da espécie *S. invicta*, alcançou taxas máximas de mortalidade de 89,06% das formigas. Dessa forma, observa-se que no presente trabalho foi obtido resultados mais promissores com este fungo em *S. saevissima* do que estudos anteriores com *S. invicta*.

Mesmo apresentando taxas de infecção, em geral, menores que de *B. bassiana*, o fungo *M. anisopliae* demonstrou alta capacidade de infectar ambas as castas de *S. saevissima*, com taxas mínimas de 83,2% e 84,2% mortalidade em operárias e soldados, respectivamente. Frequentemente, quando a infecção fúngica é bem sucedida, há a conidiogênese no tegumento do cadáver do inseto, processo de formação dos conídios a partir das hifas, permitindo um novo ciclo da infecção do fungo nos insetos remanescentes, possibilitando controlar maiores números de indivíduos-alvo. Segundo Melo e colaboradores (2007) o processo de infecção do *M. anisopliae* se completa em cerca de 3 a 10 dias, variando de acordo com fatores limitantes, como componentes nutricionais da cutícula, reações químicas e ação de toxinas. Nesse trabalho foi observado conidiogênese de *M. anisopliae* nos corpos de soldados de *S. saevissima* 4 dias após a infecção (observação pessoal), alcançando taxas de até 96,9% de formigas mortas no tratamento. Portanto mesmo com as taxas de mortalidade menos elevadas que de *B. bassiana*, *M. anisopliae* tem potencial para reinfestar outros indivíduos de *S. saevissima* em poucos dias após o primeiro contato.

Em quase todos os tratamentos, os soldados foram mais suscetíveis a infecção fúngica que as operárias. Os insetos sociais possuem um mecanismo de defesa muito bem estruturado, mas para que funcione, esse sistema necessita de uma correlação entre os indivíduos da colônia (Cremer et al., 2007). Um exemplo disso ocorre com formigas-cortadeiras. Para evitar ações de forídeos parasitoides, os membros de castas menores “pegam carona” na carga transportada pelas formigas de castas maiores, protegendo-as dos possíveis ataques aéreos, demonstrando uma correlação harmoniosa entre as castas da colônia para estruturar um sistema imune (Elizalde et al., 2012). Outro exemplo ocorre em formigas-de-fogo *S. invicta*, que apresentam diferença genética entre as castas, que afeta o sistema imunológico entre os indivíduos, tornando algumas dessas

castas, como a dos machos alados, que são mais suscetíveis a parasitas que outras castas, como das fêmeas operárias e reprodutoras (Hualong et al., 2019) É possível que ao separar as formigas *S. saevissima* em castas para execução dos testes, o sistema organizacional de imunidade das formigas soldados tenha apresentado falhas, tornando-as mais suscetíveis às infecções fúngicas que as operárias. Ou ainda que as formigas operárias apresentem características genéticas que as tornem mais resistentes aos fungos que os soldados.

6.2. Testes inundativo em minicolônias

Ao realizar testes inundativos com suspensão fúngica em minicolônias de *S. saevissima* em laboratório, simulando condições de campo, *B. bassiana* e *M. anisopliae* demonstraram alta capacidade de infecção, apresentando elevadas taxas de mortalidade das formigas. *B. bassiana* se destacou entre os dois fungos, pois alcançou 100% de mortalidade das formigas nos testes, apresentando conidiogênese nos cadáveres das formigas a partir do 3º dia após aplicação (observação pessoal). Muitos trabalhos avaliaram com êxito a capacidade de *B. bassiana* em controlar formigueiros de formiga-de-fogo em laboratório, com resultados variando de acordo com as condições e concentrações fúngicas. Stimac e colaboradores (1993), ao aplicar suspensão fúngica de *B. bassiana* com concentração de 1×10^8 e 10^9 conídios/mL em minicolônias de *S. invicta*, alcançaram taxa de mortalidade máxima de 70%, e ao aplicar em formigueiros íntegros alcançaram taxa de mortalidade entre 70% e 92%. Já Li e colaboradores (2016), ao avaliar a capacidade de infecção de isolados de *B. bassiana*, com uma concentração de 1×10^8 conídios/mL, em formigueiros de *S. invicta* em laboratório, atingiram taxas de mortalidade cumulativa de 93,4% em 21 dias. Com estas comparações em relação aos encontrados nos bioensaios do presente trabalho, se observou alto potencial de *B. bassiana* em controlar colônias de *S. saevissima*.

Trabalhos na literatura apontam diferenças significativas entre a eficácia de ambos os fungos em infectar colônias de formigas em laboratório. Caldwell (2015) ao comparar o efeito de dosagens fúngicas de 1×10^7 conídios/mg de material seco de *B. bassiana* e *M. anisopliae* em colônias de *S. invicta* em laboratório, alcançou diferenças significativas entre as taxas de mortalidade causadas pelos fungos, em que *B. bassiana* alcançou 100% de mortalidade e *M. anisopliae* apenas 53,7%. No

presente trabalho, *M. anisopliae* alcançou maiores taxas de mortalidade em relação as observadas por Caldwell (2015). Mesmo que não tenha obtido 100% de mortalidade das formigas, como ocorrido por *B. bassiana*, *M. anisopliae* matou 118 das 120 formigas utilizadas no teste após os 10 dias de avaliação. Em condições edafoclimáticas ideais, o fungo entomopatogênico *M. anisopliae* pode persistir no solo por mais de 120 dias (Guerra et al., 2009). Fato que reforça o potencial do fungo em reinfestar os indivíduos remanescentes do formigueiro, proporcionando um controle ainda mais definitivo.

6.3. Teste de inoculação inundativa de suspensão fúngica em colônias no campo.

Todas as colônias tratadas com *B. bassiana* ou com *M. anisopliae* se mostraram inativas, sem atividade de indivíduos, 10 dias após da inoculação das suspensões, enquanto as colônias controle permaneceram ativas, e em alguns casos, se mostraram ainda mais ativa do previamente observado ao início do ensaio.

Dois dias após a aplicação das suspensões, as colônias tratadas com *B. bassiana* apresentaram significativa redução de número das formigas ativas, e a partir do 7º dia já não havia movimentação (observação pessoal). Em contrapartida, as colônias tratadas com *M. anisopliae* apresentaram redução no número de indivíduos no 4º dia após aplicação, e a partir do 9º dia já não havia mais movimentação de formigas (observação pessoal).

Diferentemente do observado neste trabalho, alguns estudos anteriores apresentaram limitações no controle efetivo de colônias de formigas-de-fogo no campo utilizando fungos entomopatogênicos. Stimac e colaboradores (1990) aplicaram 200 g de arroz com 5% de concentração de conídios de *B. bassiana* em 50 formigueiros de *S. invicta* na Flórida, e observaram que a infecção fúngica se iniciou a partir do 3º dia após aplicação. Porém, apenas 9 semanas após aplicação foi observada redução dos formigueiros, em que 76% das colônias mostraram movimentação intermediária, menor do que foi observado antes do teste. Kaffle e colaboradores (2011) aplicaram duas concentrações de *B. bassiana* ($6,4 \times 10^6$ e $6,4 \times 10^7$ conídios/mL) com diferentes volumes em colônias de *S. invicta* em Taiwan, e observaram que o número de colônias inativas tratadas com $6,4 \times 10^7$ conídios/mL

foi significativamente maior que o apresentado nas colônias tratadas com $6,4 \times 10^6$ conídios/mL, evidenciando que o controle das formigas deve ser realizado com a concentração fúngica e volume de suspensão adequada para cada colônia. Em outro trabalho, Oi e colaboradores (1994) adotaram diferentes formas de aplicação de *B. bassiana* para controlar *S. invicta* na Flórida, e observaram que a técnica que apresentou melhores resultados foi a injeção do isolado do fungo, formulado com sílica, para melhor dispersão dos conídios na colônia e aderência no tegumento, obtendo redução máxima de 52% dos ninhos ativos. Estes trabalhos destacam a importância das técnicas corretas de aplicação dos fungos para o controle das colônias.

O solo das colônias de formigas-de-fogo apresenta características antagonicas aos fungos entomopatogênicos, que reduz sua capacidade de infecção, necessitando de concentrações fúngicas mais elevadas para infectar as formigas, do que as concentrações aplicadas em testes laboratoriais (Pereira et al., 1993). O presente trabalho não enfrentou limitações similares, possivelmente, pelo volume de suspensão fúngica que foi aplicado nas colônias terem sido os mesmos volumes das colônias em si. Este volume foi estipulado a partir da fórmula matemática de elipse, que fornece o volume total do formigueiro. Vogt, (2007) através da digitalização da superfície do formigueiro de *S. invicta* com scanner portátil 3D, observou que os resultados obtidos a partir dessa fórmula matemática eram mais confiáveis do que outras técnicas de medição de volume do ninho de formigas-de-fogo, sendo mais condizentes com a realidade.

A medição do volume da colônia para se estabelecer o volume relativo apropriado de suspensão fúngica é essencial para o sucesso no controle da colônia. Em pré-teste realizado para este presente trabalho, foi aplicado um volume inferior ao ideal (estipulado pela fórmula da elipse) de suspensão fúngica para se controlar as colônias. Neste pré-teste houve redução de formigas nas colônias, porém as colônias continuaram ativas (dados não publicados). Ademais, a concentração fúngica adotada (1×10^8 conídios/mL) foi selecionada a partir dos pré-testes realizados com intuito de encontrar a concentração mais adequada para infectar *S. saevissima*. Concentrações menores, como 1×10^7 conídios/mL, foram utilizadas em testes fúngicos em formigas-de-fogo e não obtiveram sucesso na infecção dos indivíduos (dados não publicados). Para o atual estudo, ainda foi

averiguado, previamente e ao longo dos testes, os índices pluviométricos e de temperatura, a fim de evitar influências edafoclimáticas desfavoráveis.

7. CONCLUSÃO

Os fungos entomopatogênicos *B. bassiana* e *M. anisopliae* apresentam a capacidade de infectar e matar operárias e soldados de *S. saevissima*. De maneira geral, *B. bassiana* demonstrou maior capacidade de infecção em formigas *S. saevissima* em laboratório, com menores valores de S_{50} e maiores taxas de mortalidade, ainda que *M. anisopliae* também tenha apresentado potencial satisfatório de controle das formigas. Os indivíduos de *S. saevissima* pertencentes à casta soldado apresentaram maior suscetibilidade à infecção de *B. bassiana* e *M. anisopliae*. No entanto, a casta operária também demonstrou alta suscetibilidade à infecção. As altas taxas de conidiogênese apresentadas nos corpos das formigas mortas nos tratamentos com os fungos confirmaram a eficiência da infecção por *B. bassiana* e *M. anisopliae*.

No campo, em ambiente natural, ambos os fungos também apresentaram capacidade de controlar colônias íntegras de *S. saevissima*, ao provocar queda brusca da atividade observada de indivíduos nas colônias tratadas com fungos; diferentemente do observado em colônias do tratamento controle, onde não houve influência na atividade da colônia. Dessa forma, conclui-se que os fungos entomopatogênicos *B. bassiana* e *M. anisopliae* apresentam alto potencial para serem utilizados como agentes de controle biológico das formigas-de-fogo da espécie *S. saevissima*.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ALENCAR, C. L. D. S. (2021) Variação interespecífica dos nectários extraflorais: como o mutualismo de proteção com formigas é regulado em três espécies de *Chamaecrista* na caatinga. Mestrado em Ecologia e Recursos Naturais, Universidade Federal do Ceará, p. 61.
- ALENCAR, E. S.; ARAÚJO, M. H. S.; DE CARVALHO, A. V. (2019) Acidentes por animais peçonhentos no município de Guaraí (TO) no período de 2015-2017. *Medicus*, v. 1, n. 1, p. 10-21.
- ALI, B. G. BIN, W.; NA, C. & HUA, L. (2018) Pathogenicity of *Beauveria bassiana* strain 202 against sap-sucking insect pests. *Plant Protection Science*, v. 54, n. 2, p. 111-117.
- ALVES, S. B. PEREIRA, R. M. STIMAC J. L. & VIEIRA, S. A. (1996) Delayed Germination of *Beauveria bassiana* Conidia after Prolonged Storage at Low, Above-freezing Temperatures. *Biocontrol Science and Technology*, 6:4, 575-582. DOI: 10.1080/09583159631217
- AMOBONYE, A.; BHAGWAT, P.; PANDEY, A.; SINGH, S. & PILLAI, S. (2020) Biotechnological potential of *Beauveria bassiana* as a source of novel biocatalysts and metabolites. *Critical Reviews in Biotechnology*, v. 40, n. 7, p. 1019-1034.
- BHATTACHARYYA, P. N.; SARMAH, S. R.; ROY, S.; SARMA, B.; NATH, B. C. & BHATTACHARYYA, L. H. (2022) Perspectives of *Beauveria bassiana*, an entomopathogenic fungus for the control of insect-pests in tea [*Camellia*

- sinensis* (L.) O. Kuntze]: opportunities and challenges. *International Journal of Tropical Insect Science*, v. 43 p. 1-19.
- BILLEN, J.; ITO, F.; TSUJI, K.; SCHOETERS, E.; MAILE, R.; MORGAN, D. (2000) Structure and chemistry of the Dufour gland in *Pristomyrmex* ants (Hymenoptera, Formicidae). *Acta Zoologica*, v. 81, p. 159-166.
- BRANCINI, G. T. P.; TONANI, L.; RANGEL, D. E. N.; ROBERTS, D. W.; BRAGA, G. U. L. (2018) Species of the *Metarhizium anisopliae* complex with diverse ecological niches display different susceptibilities to antifungal agents. *Fungal Biology*, v. 122, n. 6, p. 563-569.
- BROOME, J. R.; SIKOROWSKI, P. P.; NORMENT, A. (1976) A mechanism of pathogenicity of *Beauveria bassiana* on larvae of the imported fire ant, *Solenopsis richteri*. *Journal Invertebrate Pathology*, v. 28, p. 87-91.
- CALABI, P.; PORTER, S. (1989) Worker longevity in the fire ant *Solenopsis invicta*: ergonomic considerations of correlations between temperature, size and metabolic rates. *Journal of Insect Physiology*, v. 35, n. 8, p. 643-649.
- CALDWELL, N. D. (2015) Investigating Biopesticides for Red Imported Fire Ant (*Solenopsis invicta* Buren): Efficacy and Behavioral Modifications Associated with Entomopathogens. Doctorate Thesis (Entomology) - North Carolina State University, Raleigh.
- COLOMBO, F. C.; MACIEL, R. M. A.; ABATI, A.; PAULINO-DOMANSKI, F.; LONGHI, S. J.; COSTA-MAIA, F. M. (2020) Do *Beauveria bassiana* and *Metarhizium anisopliae* affect worker survival and the production of Africanized *Apis mellifera* queens?. *Journal of Apicultural Research*, v. 60, n. 2, p. 260-269, 2020.
- COSTA, S. D. V. (2019) Camuflagem química de *Attacobius lavape* (Araneae: Corinnidae) parasita social de *Solenopsis saevissima* (Hymenoptera: Myrmicinae). Universidade Estadual de Goiás, Campus Morrinhos. *Teses e Dissertações*.
- CREMER, S.; ARMITAGE, S. A. O.; SCHMID-HEMPEL, P. (2007) Social immunity. *Current Biology*, v. 17, n. 16, p. 693-702.
- DANNON, H. F.; DANNON, A. E.; DOURO-KPINDOU, O. K.; ZINSOU, A. V.; HOUNDETE, A. T.; TOFFA-MEHINTO, J.; ELEGBEDE, I. A. T. M.; OLOU, B. D. & TAMÒ, M. (2020) Toward the efficient use of *Beauveria bassiana* in

- integrated cotton insect pest management. *Journal of Cotton Research*, v. 3, n. 24.
- DE JONG, G. (2020) Roles and interaction of blow flies (Diptera: Calliphoridae) and introduced fire ants (Hymenoptera: Formicidae: *Solenopsis invicta* and *S. invicta x richteri*) in carrion decomposition in the southeastern United States. Doctor Dissertation (Department of Biochemistry, Molecular Biology, Entomology, and Plant Pathology) - Mississippi State University, Mississippi.
- DE SOUZA, F. M. SILVA, R. A. D.; MAGALHÃES, L. D. S.; LOUREIRO, E. D. S. (2022) Fungos entomopatogênicos associados ao controle da mosca-branca: Uma revisão. *Research Society and Development*, v. 11, n. 11, p. e252111133536-e252111133536.
- ELIZALDE, L.; FOLGARAIT, P. J. (2012) Behavioral strategies of phorid parasitoids and responses of their hosts, the leaf-cutting ants. *Journal of Insect Science*, v. 12, n. 1, p. 135.
- FERNANDES, E. F. (2016) Hábitos de nidificação e distribuição da formiga lava-pés *Solenopsis saevissima* (Smith, 1855) em área urbana. Dissertação de Mestrado (Ciências Biológicas: Comportamento e Biologia Animal). Universidade Federal de Juiz de Fora, Juiz de Fora.
- FERNANDES, E. F.; SANTOS-PREZOTO, H. H.; MENDONÇA, R.; MONTEIRO, M.M.; PREZOTO, F. (2020) Comparisons between different of ants control methods in urban environments. *Environments Science and Toxicology*, v. 4, p. 45-49.
- FOX, E. G. P. (2010) Biologia, morfologia e bioquímica de veneno da formiga lava-pés *Solenopsis saevissima* Smith (Insecta, Hymenoptera, Formicidae). Tese de Doutorado (Ciências Biológicas: Zoologia) - Universidade Estadual Paulista, Instituto de Biociências de Rio Claro, Rio Claro.
- FU, J. T.; TANG, L.; LI, W. S.; WANG, K.; CHENG, D. M.; ZHANG, Z. X. (2015) Fumigant toxicity and repellence activity of camphor essential oil from *Cinnamomum camphora* Siebold against *Solenopsis invicta* workers (Hymenoptera: Formicidae). *Journal of Insect Science*, v. 15, n. 1, p. 129.
- GAMA, D. C.; OLIVEIRA, F. F. D.; GARCIA, C. T.; NASCIMENTO JÚNIOR, J. M. D. (2019) Dispersão de sementes de *Copaifera arenicola* (Caesalpinioideae-

- Fabaceae) por formigas cortadeiras em remanescentes de Caatinga. *Advances in Forestry Science*, v. 6, n. 4, p. 843-846.
- GARRIDO-JURADO, I. RESQUÍN-ROMERO, G.; AMARILLA, S. P.; RÍOS-MORENO, A.; CARRASCO, L.; QUESADA-MORAGA, E. (2017) Transient endophytic colonization of melon plants by entomopathogenic fungi after foliar application for the control of *Bemisia tabaci* Gennadius (Hemiptera: Aleyrodidae). *Journal of Pest Science*, v. 90, p. 319-330.
- GUERRA, D. M. S.; PIRES, A. P. D.; LIMA, E. Á. D. L. A. (2009) Persistência de *Metarhizium anisopliae* spp. no solo sob diferentes condições de temperatura e umidade. *Revista Caatinga*, v. 22, n. 2, p. 50-54.
- GUO, N.; QIAN, Y.; ZHANG, Q.; CHEN, X.; ZENG, G.; ZHANG, X.; MI, W.; XU, C.; ST LEGER, R. J.; FANG, W. (2017) Alternative transcription start site selection in Mr-OPY2 controls lifestyle transitions in the fungus *Metarhizium robertsii*. *Nature Communications*, v. 8, n. 1, p. 1565.
- HAYS, S. B.; HAYS, K. L. (1959) Food habits of *Solenopsis saevissima richteri* Forel. *Journal of Economic Entomology*, v. 52, n. 3, p. 455-457.
- HEIMPEL, G. E.; MILLS, N. J. (2017) *Biological control*. Cambridge University Press.
- HETJENS, B. T.; TEWES, T. J.; PLATTE, F.; WICHERN, F. (2022) The application of Raman spectroscopy in identifying *Metarhizium brunneum*, *Metarhizium pemphigi* and *Beauveria bassiana*. *Biocontrol Science and Technology*, v. 32, n. 3, p. 329-340.
- HÖLLDOBLER, B.; WILSON, E. O. (1990). *The Ants*. Cambridge, Harvard University Press, p. 732.
- HUALONG, Q. et al. (2019) Susceptibility of male fire ants (*Solenopsis invicta*) to *Metarhizium anisopliae*. *Forestry and Environmental Science*, v. 35, n. 5.
- ISMAN, M. B. (2020) Bioinsecticides based on plant essential oils: A short overview. *Zeitschrift für Naturforschung C*, v. 75, n. 7-8, p. 179-182.
- KAFLE, L.; WU, W.; KAO, S.; SHIH, C. (2011) Efficacy of *Beauveria bassiana* against the red imported fire ant, *Solenopsis invicta* (Hymenoptera: Formicidae), in Taiwan. *Pest Management Science*, v. 67, n. 11, p. 1434-1438.
- KISHOR, R.; PURCHASE, D.; SARATELE, G. D.; SARATALE, R. G.; FERREIRA, L. F. R.; BILAL, M.; CHANDRA, R.; BHARAGAVA, R. N. (2021)

- Ecotoxicological and health concerns of persistent coloring pollutants of textile industry wastewater and treatment approaches for environmental safety. *Journal of Environmental Chemical Engineering*, v. 9, n. 2, p. 105012.
- KÖHL, J.; KOLNAAR, R.; RAVENSBERG, W.J. (2019) Mode of Action of Microbial Biological Control Agents Against Plant Diseases: Relevance Beyond Efficacy. *Frontier in Plant Science* v. 19, n.10 p. 845.
- KUNIMI, Y. (2007) Current status and prospects on microbial control in Japan. *Journal of Invertebrate Pathology*, v. 95, n. 3, p. 181-186.
- LI, J.; GUO, Q.; LIN, M.; JIANG, L.; YE, J.; CHEN, D.; LI, Z.; DAI, J.; HAN, S. (2016) Evaluation of a new entomopathogenic strain of *Beauveria bassiana* and a new field delivery method against *Solenopsis invicta*. *Plos One*, v. 11, n. 6, p. e0158325.
- LI, Z.; ALVES, S. B.; ROBERTS, D. W.; FAN, M.; DELALIBERA JR, I.; TANG, J.; LOPES, R. B.; FARIA, M.; RANGEL, D. E. N. (2010) Biological control of insects in Brazil and China: history, current programs and reasons for their successes using entomopathogenic fungi. *Biocontrol Science and Technology*, v. 20, n. 2, p. 117-136.
- LIU, H.; SKINNER, M.; BROWNBRIDGE, M.; PARKER, B. L. (2003) Characterization of *Beauveria bassiana* and *Metarhizium anisopliae* isolates for management of tarnished plant bug, *Lygus lineolaris* (Hemiptera: Miridae). *Journal of Invertebrate Pathology*, v. 82, n. 3, p. 139-147.
- LOFGREN, C. S.; VANDER MEER, R. K.; WILLIAMS, D. F. (1985) Fluoroaliphatic sulfones: a new class of delayed-action insecticides for control of *Solenopsis invicta* (Hymenoptera: Formicidae). *Journal of Economic Entomology*, v. 78, n. 6, p. 1190-1197.
- LUNZ, A. M.; YOSHI, A. H.; SILVA, A. T. D.; SOARES, A. C. (2007) *Solenopsis saevissima* F. Smith. (Hymenoptera: Formicidae) -um novo inseto-praga para a cultura de paricá (*Schizolobium amazonicum*). *Neotropical Entomology*, v. 38, n. 196. p. 285-288
- LUNZ, Alexandre M. HARADA, A. Y.; AGUIAR, T. D. S.; CARDOSO, A. S. (2009) Danos de *Solenopsis saevissima* F Smith (Hymenoptera: Formicidae) em Paricá, *Schizolobium amazonicum*. *Neotropical Entomology*, v. 38, p. 285-288.

- MACEDO, L. P. M.; BERTI FILHO, E.; DELABIE, J. H. C. (2011) Epigeal ant communities in Atlantic Forest remnants of São Paulo: a comparative study using the guild concept. *Revista Brasileira de Entomologia*, v. 55, p. 75-78.
- MALASPINA, O.; CINTRA, P.; BUENO, F. C.; BUENO, O. C.; PETACCI, F.; FERNANDES, J. B. (2005) Astilbin toxicity to leaf-cutting ant *Atta sexdens rubropilosa* (Hymenoptera: Formicidae). *Sociobiology*, v. 45, n. 2, p. 347-353.
- MANNINO, M. C.; HUARTE-BONNET, C.; DAVYT-COLO, B.; PEDRINI, N. (2019) Is the insect cuticle the only entry gate for fungal infection? Insights into alternative modes of action of entomopathogenic fungi. *Journal of Fungi*, v. 5, n. 2, p. 33-38.
- MARIA BELTRAME, J.; ANGNESE, R. A.; CHIAVELLIB, L. U. R.; COSTA, W. F. D.; ROSA, M. F. D.; LOBO, V. D. S.; POMINI, A. M. (2013) Photodegradation of essential oil from marjoram (*Origanum majorana* L.) studied by GC-MS and UV-VIS spectroscopy. *Revista Latino-Americana de Química*, v. 41, n. 2, p. 81-88.
- MARTINS, C. RAMALHO, M. D. O.; RODRIGUES SILVA, L. M.; SOUZA, R. F. D.; BUENO, O. C. (2021) New strains of *Wolbachia* unveiling the complexity of this symbiotic interaction in *Solenopsis* (Hymenoptera: Formicidae). *Microbiology Research*, v. 12, n. 3, p. 567-579.
- MCFREDERICK, Q. S.; CANNONE, J. J.; GUTELL, R. R.; KELLNER, K.; PLOWES, R. M.; MUELLER, U. G. (2013) Specificity between lactobacilli and hymenopteran hosts is the exception rather than the rule. *Applied Environmental Microbiology*. 79(6):1803-12.
- MCGUIRE, A. V.; NORTHFIELD, D. T. (2020) Tropical occurrence and agricultural importance of *Beauveria bassiana* and *Metarhizium anisopliae*. *Frontiers in Sustainable Food Systems*, v. 4, p. 6.
- MELO, G. A. R.; AGUIAR, A. P.; GARCETE-BARRETT, B. Hymenoptera Linnaeus, 1758. In: RAFAEL, J. A.; MELO, G. A. R.; CARVALHO, C. J. B. de; CASARI, S. A.; CONSTANTINO, R. (Ed.). (2012) *Insetos do Brasil: diversidade e taxonomia*. Ribeirão Preto: Holos Editora, p. 553-612.
- MONDAL, S.; BAKSI, S.; VATAI, G. (2016) Journey of enzymes in entomopathogenic fungi. *Pacific Science Review A: Natural Science and Engineering*, v. 18, n. 2, p. 85-99.

- MOREIRA, D.; MORAIS, V. D.; VIEIRA-DA-MOTTA, O.; CAMPOS-FARINHA, A. E. D. C. (2005) Ants as carriers of antibiotic-resistant bacteria in hospitals. *Neotropical Entomology*, v. 34, p. 999-1006.
- NALINI, T.; SASINATHAN, S. (2020) Evaluation of efficacy of entomopathogens against *Solenopsis geminata* (Fabricius) (Hymenoptera: Formicidae). *Ecology Environment & Conservation*, v. 26; p.193-197.
- OI, D. H.; PEREIRA, R. M.; STIMAC, J. L.; WOOD, L. A. (1994) Field applications of *Beauveria bassiana* for control of the red imported fire ant (Hymenoptera: Formicidae). *Journal of Economic Entomology*, v. 87, n. 3, p. 623-630.
- OI, D. H.; WILLIAMS, D. F.; PEREIRA, R. M.; DAVIS, P. H. T. S.; HYDER, A. H.; BOLTON, H. T.; ZEICHNER, B. C.; PORTER, S. D.; HOCH, L. A.; BOSWELL, M. L.; WILLIAMS, G. (2008) Combining Biological and Chemical Controls for the Management of Red Imported Fire Ants (Hymenoptera: Formicidae), *American Entomologist*, Volume 54, Issue 1, 7. Pages 46–55.
- ORTIZ-URQUIZA, A.; KEYHANI, N. O. (2016) Molecular genetics of *Beauveria bassiana* infection of insects. *Advances in Genetics*, v. 94, p. 165-249.
- PALMA, A. M. C. (2016) Iscas biológicas para controle de formigas cortadeiras (hymenoptera: formicidae). Monografia (Engenharia Florestal). Universidade Federal do Recôncavo da Bahia, Cruz das Almas.
- PAMPFILE, J. A. (1992) Estudos genéticos no fungo entomopatogênico *Metarhizium anisopliae* var. *anisopliae* (Metsch.) Sorokin. 1992. Tese de Doutorado. Universidade de São Paulo, São Paulo.
- PARK, Y.; VATANPARAST, M.; SAJJADIAN, S. M. (2022) Pathogenicity of *Beauveria bassiana* ANU1 to the red imported fire ant, *Solenopsis invicta* workers in Korea. *Journal of Asia-Pacific Entomology*, v. 25, n. 2, p. 101913.
- PARRA, J.R.P. (2019) Controle Biológico na Agricultura Brasileira. *Entomological Communications*, v. 1, p.01002.
- PAULINO CÓRDOVA, M. R. (2021) Formigas no ambiente hospitalar: espécies prevalentes e bactérias carreadas. Monografia (Ciências Biológicas - Biologia). Universidade Federal de Santa Catarina, Joinville.
- PENG, G.; XIE, J.; GUO, R. et al. (2021) Long-term field evaluation and large-scale application of a *Metarhizium anisopliae* strain for controlling major rice pests. *Journal Pest Science*, v. 94, p. 969–980.

- PEREIRA, E. K. C. Andrade-Silva, J., Silva, O., Santos, C. L. C., Moraes, L. S.,
Bandeira, M. C. A., Silva, C. R. R., & Rebêlo, J. M. M. (2017) *Solenopsis
saevissima* (Smith) (Hymenoptera: Formicidae) activity delays vertebrate
carcass decomposition. *Sociobiology*, v. 64, n. 3, p. 369-372.
- PEREIRA, R. M. (1991) Evaluation of the entomopathogenic fungus, *Beauveria
bassiana* on the red imported fire ant, *Solenopsis invicta*. Ph.D. dissertation,
University of Florida, Gainesville.
- PEREIRA, R. M.; STIMAC, J. L.; ALVES, S. B. (1993) Soil antagonism affecting the
dose—Response of workers of the red imported fire ant, *Solenopsis invicta*, to
Beauveria bassiana conidia. *Journal of Invertebrate Pathology*, v. 61, n. 2, p.
156-161.
- PINTO, L. M.; FERNANDES, E.F.; PREZOTO, F. (2019) Controle de formigas lava-
pés: Onde encontro informações? *Rev Bras Zootecias*, v. 20, p. 1-9.
- PITTS, J. P.; CAMACHO, G. P.; GOTZEK, D.; MCHUGH, J. V.; ROSS, K. G. (2018)
Revision of the fire ants of the *Solenopsis saevissima* species-group
(Hymenoptera: Formicidae). *Proceedings of the Entomological Society of
Washington*, v. 120, n. 2, p. 308-411.
- PITTS, J. P.; MCHUGH, J. V.; ROSS, K. G. (2005) Cladistic analysis of the fire ants
of the *Solenopsis saevissima* species-group (Hymenoptera:
Formicidae). *Zoologica Scripta*, v. 34, n. 5, p. 493-505.
- PORTER, S. D.; WILLIAMS, D. F.; PATTERSON, R. S.; FOWLER, H. G. (1997)
Intercontinental differences in the abundance of *Solenopsis* fire ants
(Hymenoptera: Formicidae): escape from natural enemies? *Environmental
Entomology*, v. 26, n. 2, p. 373-384.
- PORTER, S. D.; FOWLER, H. G.; MACKAY, W. P. (1992) Fire ant mound densities
in the United States and Brazil (Hymenoptera: Formicidae). *Journal of
Economic Entomology*, v. 85, n. 4, p. 1154-1161.
- POTIWAT, R.; SITCHARUNGSU, R. (2015) Ant allergens and hypersensitivity
reactions in response to ant stings. *Asian Pacific Journal of Allergy and
Immunology*, v. 33, n. 4.
- PRATISSOLI, D. (2018) Caracterização química e avaliação do potencial inseticida
de óleos essenciais de *Tephrosia vogelii* e *Piper aduncum* no manejo de
Solenopsis saevissima (Hymenoptera: Formicidae) e *Cerosipha forbesi*

- (Hemiptera: Aphididae). Tese de Doutorado. Instituto Federal do Espírito Santo, Vitória.
- QIN, W.; LIN, S.; CHEN, X.; CHEN, J.; WANG, L.; XIONG, H.; XIE, Q.; SUN, Z.; WEN, X. & WANG, C. (2019) Food Transport of Red Imported Fire Ants (Hymenoptera: Formicidae) on Vertical Surfaces. *Scientific Reports* v. 9, p. 3283.
- RIBEIRO, L. M. (2011) Revisão bibliográfica: Controle biológico de pragas por meio de *Beauveria bassiana*. Monografia (Licenciatura em Biologia a Distância) – Consórcio Setentrional de Educação a Distância, Universidade de Brasília, Universidade Estadual de Goiás, Brasília.
- ROJAS, M. G.; ELLIOTT, R. B.; MORALES-RAMOS, J. A. (2018) Mortality of *Solenopsis invicta* workers (Hymenoptera: Formicidae) after indirect exposure to spores of three entomopathogenic fungi. *Journal of Insect Science*, v. 18, n. 3, p. 20, 2018.
- SAMUELS, R.; PAULA, A.; CAROLINO, A.; GOMES, S.; PAULA, C.; CYPRIANO, M.; SILVA, L.; RIBEIRO, A.; BASTOS, J.; PERES, C. (2016) Entomopathogenic organisms: conceptual advances and real-world applications for mosquito biological control. *Open Access Insect Physiology*. V 6: p 25-31. <https://doi.org/10.2147/OAIP.S68850>
- SANTOS, Í. C. S.; CASTRO, I. A. D.; PORTELA, V. O.; SIQUEIRA, E. L. S. D.; ANTONIOLLI, Z. I. (2020) Biocontrole de formiga cortadeira do gênero *Acromyrmex* por fungos entomopatogênicos. *Research Society and Development*, v. 9, n. 10, p. e3089108494-e3089108494.
- SANTOS, R. S.; DA SILVA, E. N. (2021) Associação de formigas e abelhas-sem-ferrão com *Aetalion reticulatum* (L.) (Hemiptera: Aethalionidae) em plantio de açazeiro-de-touceira. *Entomology Beginners*. v. 2, p. e004.
- SHAPIRO ILAN, D. I.; BRUCK, D. J.; LACEY, L. A. (2012) Principles of epizootiology and microbial control. In: Vega, F., Kaya, H.K., editors. *Insect Pathology*. 2nd edition. San Diego, CA; Elsevier. p. 29-72.
- SOUZA, P. D. O. (2020) Formigas lava-pés (*Solenopsis* sp.) Em área urbana e risco de acidentes. *ANALECTA-Centro Universitário Academia, Juiz de Fora*, v. 5, n. 5

- ST. LEGER, R. J.; WANG, J. B. (ANO) *Metarhizium*: jack of all trades, master of many. *Open Biology*, v. 10, n. 2, p. 200307. <https://doi.org/10.1098/rsob.200307>
- STIMAC, J. L.; PEREIRA, R. M.; ALVES, S. B. (1993) *Beauveria bassiana* (Balsamo) Vuillemin (Deuteromycetes) applied to laboratory colonies of *Solenopsis invicta* Buren (Hymenoptera: Formicidae) in soil. *Journal of Economic Entomology*, v. 86, n. 2, p. 348-352.
- STIMAC, J. L. PEREIRA, R. M.; ALVES, S. B. (1990) Field evaluation of a Brazilian strain of *Beauveria bassiana* for control of the red imported fire ant, *Solenopsis invicta*, in Florida. In: Proceedings and abstracts, Vth International Colloquium on Invertebrate Pathology and Microbial Control, Adelaide, Australia, 20-24 August. Department of Entomology, University of Adelaide.
- STIMAC, J. L.; ALVES, S. B. & CAMARGO. M.T.V. (1987) Suscetibilidade de *Solenopsis* spp. a diferentes espécies de fungos entomopatogênicos. *Anais da Sociedade Entomológica do Brasil*, v. 16, p. 377-387.
- TOLEDO, A. V.; LENICOV, A. M. M.; LASTRA, C. C. (2010) Histopathology caused by the entomopathogenic fungi, *Beauveria bassiana* and *Metarhizium anisopliae*, in the adult planthopper, *Peregrinus maidis*, a maize virus vector. *Journal of Insect Science*, v. 10, n. 1, p. 1-10.
- TSCHINKEL, W. R. (2006) *The Fire Ants*. Harvard University Press, Cambridge, ed. The Belknap Press, p.752.
- VALERO-JIMÉNEZ, C. A.; WIEGERS, H.; ZWAAN, B. J.; KOENRAADT, C. J. M.; KAN, J. A. L. (2016) Genes involved in virulence of the entomopathogenic fungus *Beauveria bassiana*. *Journal of Invertebrate Pathology*, v. 133, p. 41-49.
- VALLES, S. M.; OI, D. O.; WEEKS, R. D.; ADDESSO, K. M.; OLIVER, J. B. (2022) Field evaluation of *Solenopsis invicta* virus 3 against its host *Solenopsis invicta*. *Journal of Invertebrate Pathology*, v. 191, p. 107767.
- VOGT, J. T. (2007) Three-dimensional sampling method for characterizing ant mounds. *Florida Entomologist*, v. 90, n. 3, p. 553-558.
- WANG, K.; TANG, L.; ZHANG, N.; ZHOU, Y.; WEISHENG, L.; HONG, L.; CHENG, D.; ZHANG, Z. (2014) Repellent and fumigant activities of *Eucalyptus globulus* and *Artemisia carvifolia* essential oils against *Solenopsis invicta*. *Bulletin of Insectology*, v. 67, n. 2, p. 207-211.

- WANG, L.; ZENG, L.; XU, Y.; LU, Y. (2019) Compatibility of *Metarhizium* spp. with eight pesticides used in the control of *Solenopsis invicta*. *Chinese Journal of Biological Control*, v. 32, n. 2, p. 172.
- WAZEMA, C. T.; DE CASTRO MORINI, M. S.; DE SOUZA-CAMPANA, D. R. (2019) Diversidade de formigas (Hymenoptera: Formicidae) em um fragmento de Mata Atlântica no município de Mogi das Cruzes (SP). *Revista Científica UMC*, v. 4, n. 2, p. 12.
- WILSON, E. O. (1952) O complexo *Solenopsis saevissima* na América do Sul (Hymenoptera: Formicidae). *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, v. 50, p. 49-68.
- ZERINGÓTA, V.; CASTRO, M. M. D.; DELLA LUCIA, T. M. C.; PREZOTO, F. (2014) Nesting of the fire ant *Solenopsis saevissima* (Hymenoptera: Formicidae) in an urban environment. *Florida Entomologist*, v. 97, n. 2, p. 668-673.
- ZIMMERMANN, G.; PAPIEROK, B.; GLARE, T. (1995) Elias Metschnikoff, Elie Metchnikoff or Ilya Ilich Mechnikov (1845-1916): a pioneer in insect pathology, the first describer of the entomopathogenic fungus *Metarhizium anisopliae* and how to translate a Russian name. *Biocontrol Science and Technology*, v. 5, n. 4, p. 527-530.