

Universidade Federal da Grande Dourados (UFGD)  
Programa de Pós-Graduação em Entomologia e Conservação da Biodiversidade

**AVALIAÇÃO DA PATOGENICIDADE DE *Beauveria bassiana* (BALS.)  
VUILL E *Metarhizium anisopliae* (METSCH.) SOROKIN PARA O  
CONTROLE DE *Atta sexdens rubropilosa* (FOREL, 1908)  
(HYMENOPTERA: FORMICIDAE) EM CONDIÇÕES DE LABORATÓRIO.**

Giovana Daniela Busarello

Dourados-MS  
Fevereiro/2008

Universidade Federal da Grande Dourados (UFGD)  
Programa de Pós-Graduação em Entomologia e Conservação da Biodiversidade

**AVALIAÇÃO DA PATOGENICIDADE DE *Beauveria bassiana* (BALS.)  
VUILL E *Metarhizium anisopliae* (METSCH.) SOROKIN PARA O  
CONTROLE DE *Atta sexdens rubropilosa* (FOREL, 1908)  
(HYMENOPTERA: FORMICIDAE) EM CONDIÇÕES DE LABORATÓRIO.**

Giovana Daniela Busarello

Orientadora  
Elisângela de Souza Loureiro

Dourados-MS  
Fevereiro/2008

Universidade Federal da Grande Dourados (UFGD)  
Programa de Pós-Graduação em Entomologia e Conservação da Biodiversidade

**AVALIAÇÃO DA PATOGENICIDADE DE *Beauveria bassiana* (BALS.)  
VUILL E *Metarhizium anisopliae* (METSCH.) SOROKIN PARA O  
CONTROLE DE *Atta sexdens rubropilosa* (FOREL, 1908)  
(HYMENOPTERA: FORMICIDAE) EM CONDIÇÕES DE LABORATÓRIO.**

Giovana Daniela Busarello

Orientadora

Elisângela de Souza Loureiro

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Entomologia e Conservação da Biodiversidade, Universidade Federal da Grande Dourados (UFGD), como parte das exigências para a obtenção do título de Mestre em Entomologia e Conservação da Biodiversidade.

Dourados-MS  
Fevereiro/2008

Ficha catalográfica elaborada pela Biblioteca Central - UFGD

574.2326 Busarello, Giovana Daniela.  
B976a

Avaliação da patogenicidade de *Beauveria Bassiana* (Bals.) Vuill e *Metarhizium anisopliae* (Metsch.) Sorokin para o controle de *Atta sexdens rubropilosa* (Forel, 1908) (Hymenoptera: Formicidae) em condições de laboratório. / Giovana Daniela Busarello. – Dourados, MS : UFGD, 2008. 63p.

Orientadora: Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Elisângela de Souza Loureiro  
Dissertação (Mestrado em Entomologia e Conservação da Biodiversidade) – Universidade Federal da Grande Dourados.

1. Controle microbiano. 2. Fungos entomopatogênicos. 3. Formigas cortadeiras. 4. Fisiopatologia – Imunidade – Resistência. I. Título.

## **AGRADECIMENTOS**

À Universidade Federal da Grande Dourados (UFGD) pela oportunidade de realização do curso.

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) pela concessão de bolsa.

À minha família, pelo incentivo e apoio recebido em todas as minhas decisões.

À professora e orientadora Dra. Elisângela de Souza Loureiro, pela dedicação, aprendizado e amizade.

Ao professor Dr. Luis Gustavo Amorim Pessoa pelas sugestões e auxílio na análise estatística.

Aos professores do Programa de Pós-Graduação em Entomologia e Conservação da Biodiversidade, pelos ensinamentos e contribuição para a minha formação, em especial aos professores Manoel Araújo Uchôa-Fernandes, Honório Roberto dos Santos e Wédson Desidério Fernandes pela valiosa contribuição neste trabalho.

Aos colegas de curso, especialmente aos amigos Oldimar e Marcos, pelo auxílio nas coletas em campo e pelo companheirismo nos bons e maus momentos.

A todos aqueles que, de alguma forma, contribuíram para a realização deste trabalho.

## SUMÁRIO

### 1. CAPÍTULO 1

Patogenicidade de *Beauveria bassiana* sobre *Atta sexdens rubropilosa* (Hymenoptera: Formicidae) em condições de laboratório

|                             |    |
|-----------------------------|----|
| Resumo.....                 | 1  |
| Abstract.....               | 2  |
| Introdução.....             | 2  |
| Material e Métodos.....     | 5  |
| Resultados e Discussão..... | 7  |
| Conclusões.....             | 21 |
| Agradecimento.....          | 22 |
| Referências.....            | 22 |

### 2. CAPÍTULO 2

Suscetibilidade de *Atta sexdens rubropilosa* (Forel, 1908) (Hymenoptera: Formicidae) a *Metarhizium anisopliae* (Metsch.) Sorokin em condições de laboratório

|                             |    |
|-----------------------------|----|
| Abstract.....               | 26 |
| Resumo.....                 | 27 |
| Introdução.....             | 27 |
| Material e Métodos.....     | 29 |
| Resultados e Discussão..... | 31 |
| Conclusão.....              | 44 |
| Agradecimento.....          | 44 |
| Referências.....            | 44 |

### 3. ANEXOS

Instruções aos autores

|  |    |
|--|----|
| Anexo A - Pesquisa Agropecuária Brasileira.....  |    |
| Anexo B - Revista Brasileira de Entomologia..... | 49 |
|  | 60 |

## 1. CAPÍTULO 1

### **Patogenicidade de *Beauveria bassiana* sobre *Atta sexdens rubropilosa* (Hymenoptera: Formicidae) em condições de laboratório**

**Giovana Daniela Busarello<sup>(1)</sup>, Elisângela de Souza Loureiro<sup>(1)</sup>**

<sup>(1)</sup> Programa de Pós-Graduação em Entomologia e Conservação da Biodiversidade, Universidade Federal da Grande Dourados (UFGD). Rodovia Dourados – Itahum, km 12, Cidade Universitária. Caixa Postal 533, CEP: 79804-970, Dourados – MS. E-mail: gdbusarello@terra.com.br, lis\_loureiro@yahoo.com.br.

Resumo - Este trabalho avaliou a eficiência de diferentes isolados do fungo entomopatogênico *Beauveria bassiana* no controle de formigas cortadeiras *Atta sexdens rubropilosa*, em condições de laboratório. Suspensões contendo  $1,0 \times 10^7$ ,  $1,0 \times 10^8$ ,  $1,0 \times 10^9$  e  $1,0 \times 10^{10}$  conídios/mL foram inoculadas em soldados e operárias, mantidos em câmara B.O.D., a  $25 \pm 1^\circ\text{C}$ , 70% UR e fotofase de 12 horas, sem alimentação. A mortalidade foi verificada diariamente, até 15 dias após a inoculação. O delineamento experimental utilizado foi o inteiramente casualizado. Os dados referentes à esporulação foram submetidos à análise de variância e os valores de  $TL_{50}$  (em dias) foram obtidos através da análise de Probit. Todos os isolados de *B. bassiana* foram patogênicos ao inseto, sendo as operárias mais suscetíveis que os soldados. Os isolados IBCB 21 e IBCB 07 foram os mais virulentos para operárias e soldados, respectivamente. O isolado IBCB 21 também causou altas porcentagens de mortalidade confirmada, apresentando potencial para utilização no controle de *A. sexdens rubropilosa*.

Termos para indexação: formigas cortadeiras, *Atta sexdens rubropilosa*, fungo entomopatogênico, controle microbiano.

**Pathogenicity of *Beauveria bassiana* to *Atta sexdens rubropilosa* (Hymenoptera:  
Formicidae) in laboratory conditions**

Abstract - This research evaluated, under laboratory conditions, the efficiency of different isolates of entomopathogenic fungus *Beauveria bassiana* to control leaf-cutting ant *Atta sexdens rubropilosa*. Soldiers and workers were inoculated with suspensions containing  $1,0 \times 10^7$ ,  $1,0 \times 10^8$ ,  $1,0 \times 10^9$  e  $1,0 \times 10^{10}$  conidia/mL, maintained in B.O.D., at  $25 \pm 1^\circ\text{C}$ , 70% RH and 12 hours of photophase, without food. The mortality was evaluated daily, until 15 days after inoculation. The experimental delineation used was entirely randomly. The sporulation data were submitted to the analysis of variance and the  $TL_{50}$  values (in days) were obtained through the Probit analysis. All isolates of *B. bassiana* were pathogenic to insect, being workers more susceptible than soldiers. The isolates IBCB 21 and IBCB 07 were the most virulent for workers and soldiers, respectively. The isolate IBCB 21 also caused high percentages of confirmed mortality, showing potential for use in the control of *A. sexdens rubropilosa*.

Index terms: leaf-cutting ants, *Atta sexdens rubropilosa*, entomopathogenic fungi, microbial control.

### **Introdução**

As espécies de formigas cortadeiras pertencentes aos gêneros *Atta*, tribo Attini (Hymenoptera: Formicidae), mais conhecidas como saúvas, são consideradas herbívoros dominantes na região Neotropical (Hölldobler & Wilson, 1990), sendo responsáveis por grandes danos na produção vegetal (Specht et al., 1994; Hernández & Jaffé, 1995).



A distribuição geográfica da tribo Attini encontra-se restrita ao Continente Americano, desde o sul dos Estados Unidos, até o centro da Argentina, não sendo constatadas no Chile, na costa do Peru e em algumas ilhas das Antilhas e Canadá (Mariconi, 1970).

Amplamente distribuídas por todo o território nacional e com intensa atividade durante o ano todo, as formigas cortadeiras atacam praticamente todas as culturas, pastagens, e em particular os reflorestamentos, atuando sobre qualquer espécie vegetal (Diehl-Fleig et al., 1993; Hernández & Jaffé, 1995; Boaretto & Forti, 1997), a qual corta e transporta para seus ninhos, onde cultiva um fungo simbiote, do qual se alimenta.

As formigas cortadeiras possuem várias características biológicas e comportamentais complexas que dificultam o seu controle, tais como arquitetura, tamanho e localização dos ninhos, sistema de proteção à rainha, produção de substâncias anti-microbianas e “grooming” (limpeza) (Marinho et al., 2006).

Dentre as formas de controle utilizadas, a maioria baseia-se na aplicação de grandes quantidades de produtos fitossanitários químicos. No entanto, esses produtos, além de serem dispendiosos, geralmente não são efetivos, pois levam ao aparente extermínio da colônia de formigas ou à mudança de seu saueiro, e conduzem à seleção de populações cada vez mais resistentes. Ainda, causam graves danos ao ambiente e à saúde humana, por serem produtos altamente tóxicos (Silva & Diehl-Fleig, 1988; Diehl-Fleig et al., 1988; Diehl-Fleig et al., 1993).

Alguns estudos têm sido desenvolvidos com o objetivo de se obter métodos alternativos de controle para o uso em programas de manejo integrado de pragas. O controle biológico através da utilização de fungos entomopatogênicos pode ser empregado como um método alternativo, oferecendo um controle mais efetivo, específico, econômico e duradouro das formigas cortadeiras (Silva & Diehl-Fleig, 1988). Esse método de controle é adequado

para o manejo da resistência, não representa risco a saúde dos usuários, consumidores e ao ambiente e pode associar-se com outros métodos de controle (Alves, 1998).

Os fungos entomopatogênicos são importantes agentes que atuam no controle microbiano natural de insetos. A ocorrência desses entomopatógenos pode ser constatada através de epizootias e enzootias nas populações de insetos, as quais representam um importante fator de supressão de pragas (Stimac et al., 1989; Jaccoud et al., 1999). Em condições naturais, linhagens de *Beauveria bassiana* já foram isoladas de rainhas e operárias do gênero *Atta* (Alves & Sosa-Gomes, 1983; Diehl-Fleig et al., 1992).

A eficiência de *B. bassiana* para o controle de formigas cortadeiras tem sido demonstrada em vários trabalhos, trazendo perspectivas animadoras para o problema (Alves & Sosa-Gomes, 1983; Wilcken & Berti Filho, 1994; Boaretto & Forti, 1997). No entanto, estes estudos demonstram que os resultados variam de acordo com o tipo de casta estudada e a forma de aplicação destes agentes (Diehl-Fleig & Silva, 1986; Diehl-Fleig et al., 1988; Specht et al., 1994; Loureiro & Monteiro, 2004, 2005). Por outro lado, o complexo comportamento social e a estrutura de colônias de formigas podem influenciar a ação dos fungos entomopatogênicos, reduzindo a disseminação de agentes de doenças nos formigueiros e conseqüentemente a eficiência do controle (Silva & Diehl-Fleig, 1988; Oi & Pereira, 1993).

Desta forma, é necessário determinar isolados mais específicos e concentrações mais efetivas, assim como, desenvolver técnicas que viabilizem sua produção e aplicação (Diehl-Fleig et al., 1993; Specht et al., 1994), para a obtenção de um controle alternativo eficaz, visando diminuir a utilização de produtos fitossanitários químicos.

O presente trabalho teve como objetivo avaliar a patogenicidade de diferentes isolados do fungo entomopatogênico *B. bassiana* sobre soldados e operárias de *Atta sexdens rubropilosa* em condições de laboratório.

## Material e Métodos

Os isolados de *B. bassiana* utilizados nos bioensaios foram provenientes da Coleção de Entomopatógenos da Universidade Federal da Grande Dourados (UFGD) - Faculdade de Ciências Biológicas e Ambientais (Tabela 1).

Tabela 1. Origem dos isolados do fungo entomopatogênico *Beauveria bassiana* utilizados nos bioensaios com *Atta sexdens rubropilosa*, Dourados - MS, 2007.

| Isolado   | Hospedeiro original ou substrato | Local da coleta            |
|-----------|----------------------------------|----------------------------|
| IBCB 07   | Amostra de solo                  | Cascavel - PR              |
| IBCB 21   | Amostra de solo                  | Cascavel - PR              |
| IBCB 66   | <i>Hypothenemus hampei</i>       | São José do Rio Pardo – SP |
| ESALQ 447 | <i>Solenopsis invicta</i>        | Cuiabá - MT                |
| UFGD 02   | Chrysomelidae                    | Dourados – MS              |
| UFGD 11   | <i>Hypothenemus hampei</i>       | Nova Santa Helena – MT     |

Os exemplares de soldados e operárias de *Atta sexdens rubropilosa*, coletados em saueiros existentes no *campus* da UFGD foram colocadas em recipientes com tampa telada, separados por castas e conduzidos até o laboratório, sendo levados ao freezer por alguns segundos para sua contenção.

As culturas dos fungos foram obtidas por multiplicação em placas de Petri contendo meio de cultura BDA (batata-dextrose-ágar) sólido esterilizado. Após semeadura, pelo método de três pontos, as placas foram incubadas em câmara B.O.D., a  $25 \pm 1^\circ\text{C}$ , 70% UR e fotofase de 12 horas por um período de 7 a 15 dias, para crescimento vegetativo e conidiogênese e posteriormente armazenadas em geladeira ( $4^\circ\text{C}$ ) até a utilização nos experimentos.

Os conídios formados na superfície da colônia foram coletados com o auxílio de uma alça de níquel-cromo previamente flambada e transferidos para tubos de ensaio contendo 10 mL de água destilada esterilizada e 0,1 mL de Tween 80, para a preparação das diluições. Após vigorosa agitação, foi realizada a contagem do número de conídios contidos na suspensão original em microscópio ótico, utilizando-se câmara de Neubauer. A partir dos tubos contendo 10 mL de suspensão de conídios, foram preparadas diluições seriadas padronizadas nas concentrações de  $1,0 \times 10^7$ ,  $1,0 \times 10^8$ ,  $1,0 \times 10^9$  e  $1,0 \times 10^{10}$  conídios/mL.

Foi realizada a aplicação de 1 mL das suspensões contendo as diferentes concentrações de conídios em cada placa de Petri e em seguida, grupos de 10 formigas foram colocados no interior das placas. Além do grupo controle, no qual as formigas foram inoculadas em solução de água destilada esterilizada + espalhante adesivo Tween 80, foi efetuado outro tratamento testemunha, apenas com água destilada esterilizada.

Os insetos foram mantidos em placas de Petri contendo um chumaço de algodão umedecido com água destilada esterilizada, sem alimentação, em câmara B.O.D a  $25 \pm 1^\circ\text{C}$ , 70% UR e fotofase de 12 horas, por até 15 dias. Neste período, a água foi repostada, quando necessário, para a manutenção da umidade.

As placas foram observadas diariamente para a verificação da mortalidade, sendo os cadáveres imersos em solução de álcool 70% e água destilada esterilizada e transferidos para novas câmaras, mantidas em iguais condições descritas anteriormente para a confirmação da mortalidade pelo patógeno.

O delineamento experimental utilizado foi o inteiramente casualizado, utilizando-se cinco repetições para cada concentração nos diferentes tratamentos, sendo cada repetição constituída por 10 formigas (soldados e operárias). Foram calculados os dados de mortalidade confirmada (porcentagem de insetos nos quais ocorreu a esporulação do fungo) e mortalidade total acumulada (porcentagem de mortalidade independente da causa).

Os dados referentes à esporulação foram submetidos à análise de variância e as médias comparadas entre si pelo teste de Scott-Knott, a 5% de probabilidade, utilizando-se o programa estatístico Sisvar® (Ferreira, 2000). Para obtenção dos valores de TL<sub>50</sub> (em dias) foi realizada análise de Probit para os diferentes tratamentos, utilizando-se o programa estatístico Mobae.

## **Resultados e Discussão**

A patogenicidade dos isolados do fungo *B. bassiana* sobre operárias e soldados de *A. sexdens rubropilosa* foi observada através dos tempos letais medianos (TL<sub>50</sub>) (Tabelas 2 e 3), sendo que todos os isolados testados foram patogênicos ao inseto.

De acordo com a análise de Probit, ocorreu diferença significativa entre as concentrações testadas para o isolado IBCB 66 nas duas castas estudadas. Observou-se ainda variação entre as concentrações mais eficientes para os diferentes isolados. Em alguns casos, os isolados não se adequaram ao modelo de Probit, por ter ocorrido um  $\chi^2$  significativo e elevada heterogeneidade dos dados (Tabelas 2 e 3).

De modo geral, todos os isolados testados foram mais virulentos para operárias do que para os soldados. O isolado IBCB 21 foi o mais virulento para operárias de *A. sexdens rubropilosa*, com TL<sub>50</sub> variando entre 1,57 e 1,74 dias para as diferentes concentrações, não havendo diferença significativa entre as mesmas, com base na sobreposição dos intervalos de confiança obtidos (Tabela 2). Já para os soldados, o isolado mais virulento foi IBCB 07, com valores de TL<sub>50</sub> variando entre 2,15 e 2,68 dias, não ocorrendo diferença significativa entre as concentrações (Tabela 3).

**Tabela 2.** Tempos letais medianos (TL<sub>50</sub>) em dias, intervalos de confiança (IC) (P < 0,05), equações de regressão linear e valores de  $\chi^2$  obtidos pela análise de Probit para a atividade patogênica de *B. bassiana* sobre operárias de *A. sexdens rubropilosa*.

| Isolado/Concentração   | TL <sub>50</sub><br>(dias) | Intervalo de<br>Confiança (IC) | Equação             | $\chi^2$ |
|------------------------|----------------------------|--------------------------------|---------------------|----------|
| <b>IBCB 07</b>         |                            |                                |                     |          |
| 1,0 x 10 <sup>10</sup> | 1,86                       | (0,99; 3,49)                   | Y= 4,04 + 3,52.logx | 9,12*    |
| 1,0 x 10 <sup>9</sup>  | 1,72                       | (1,33; 2,22)                   | Y= 4,35 + 2,72.logx | 2,47     |
| 1,0 x 10 <sup>8</sup>  | 2,19                       | (1,63; 2,96)                   | Y= 3,83 + 3,39.logx | 6,40     |
| 1,0 x 10 <sup>7</sup>  | 2,54                       | (1,94; 3,32)                   | Y= 3,41 + 3,91.logx | 6,95     |
| <b>IBCB 21</b>         |                            |                                |                     |          |
| 1,0 x 10 <sup>10</sup> | 1,70                       | (1,02; 2,83)                   | Y= 4,17 + 3,56.logx | 5,51     |
| 1,0 x 10 <sup>9</sup>  | 1,57                       | (1,17; 2,10)                   | Y= 4,42 + 2,92.logx | 3,24     |
| 1,0 x 10 <sup>8</sup>  | 1,74                       | (1,27; 2,40)                   | Y= 4,24 + 3,10.logx | 4,90     |
| 1,0 x 10 <sup>7</sup>  | 1,73                       | (1,19; 2,51)                   | Y= 4,00 + 4,16.logx | 3,82     |
| <b>IBCB 66</b>         |                            |                                |                     |          |
| 1,0 x 10 <sup>10</sup> | 3,22                       | (3,02; 3,43)                   | Y= 2,63 + 4,64.logx | 3,72     |
| 1,0 x 10 <sup>9</sup>  | 3,80                       | (3,37; 4,28)                   | Y= 2,90 + 3,61.logx | 9,80     |
| 1,0 x 10 <sup>8</sup>  | 2,68                       | (2,48; 2,91)                   | Y= 3,00 + 4,64.logx | 1,46     |
| 1,0 x 10 <sup>7</sup>  | 2,95                       | (2,86; 3,04)                   | Y= 2,87 + 4,52.logx | 0,11     |
| <b>ESALQ 447</b>       |                            |                                |                     |          |
| 1,0 x 10 <sup>10</sup> | 2,52                       | (2,02; 3,13)                   | Y= 3,41 + 3,94.logx | 8,37     |
| 1,0 x 10 <sup>9</sup>  | 1,93                       | (1,35; 2,74)                   | Y= 4,03 + 3,37.logx | 7,76     |
| 1,0 x 10 <sup>8</sup>  | 2,69                       | (2,07; 3,50)                   | Y= 3,36 + 3,79.logx | 6,49     |
| 1,0 x 10 <sup>7</sup>  | 2,21                       | (1,80; 2,72)                   | Y= 3,69 + 3,76.logx | 6,25     |
| <b>UFGD 02</b>         |                            |                                |                     |          |
| 1,0 x 10 <sup>10</sup> | 3,09                       | (2,92; 3,26)                   | Y= 2,86 + 4,35.logx | 0,38     |
| 1,0 x 10 <sup>9</sup>  | 2,92                       | (2,19; 3,88)                   | Y= 3,17 + 3,91.logx | 16,02*   |
| 1,0 x 10 <sup>8</sup>  | 2,93                       | (2,34; 3,66)                   | Y= 3,19 + 3,85.logx | 9,46     |
| 1,0 x 10 <sup>7</sup>  | 2,06                       | (1,85; 2,30)                   | Y= 4,00 + 3,14.logx | 2,45     |
| <b>UFGD 11</b>         |                            |                                |                     |          |
| 1,0 x 10 <sup>10</sup> | 3,02                       | (2,53; 3,59)                   | Y= 2,88 + 4,41.logx | 10,57    |
| 1,0 x 10 <sup>9</sup>  | 3,89                       | (3,20; 4,73)                   | Y= 1,84 + 5,34.logx | 28,21*   |
| 1,0 x 10 <sup>8</sup>  | 3,66                       | (3,05; 4,39)                   | Y= 1,99 + 5,33.logx | 17,08*   |
| 1,0 x 10 <sup>7</sup>  | 3,70                       | (3,12; 4,38)                   | Y= 2,63 + 4,16.logx | 22,76*   |

\*  $\chi^2$  significativo (P < 0,05)

n = 50

Alves & Sosa-Gomes (1983) também comprovaram a maior suscetibilidade de operárias em relação aos soldados de *A. sexdens rubropilosa* a isolados de *B. bassiana* e *Metarhizium anisopliae*. No entanto, verificaram tempos letais mais elevados. Para *B. bassiana* foi obtido TL<sub>50</sub> de 3,56 e 3,93 dias para cortadeiras e soldados, respectivamente, enquanto que para *M. anisopliae*, os valores foram de 2,8 e 4,05 dias, respectivamente.

**Tabela 3.** Tempos letais medianos (TL<sub>50</sub>) em dias, intervalos de confiança (IC) (P < 0,05), equações de regressão linear e valores de  $\chi^2$  obtidos pela análise de Probit para a atividade patogênica de *B. bassiana* sobre soldados de *A. sexdens rubropilosa*.

| Isolado/Concentração   | TL <sub>50</sub><br>(dias) | Intervalo de<br>Confiança (IC) | Equação             | $\chi^2$ |
|------------------------|----------------------------|--------------------------------|---------------------|----------|
| <b>IBCB 07</b>         |                            |                                |                     |          |
| 1,0 x 10 <sup>10</sup> | 2,15                       | (1,62; 2,86)                   | Y= 4,01 + 2,96.logx | 4,62     |
| 1,0 x 10 <sup>9</sup>  | 2,46                       | (2,00; 3,04)                   | Y= 3,91 + 2,75.logx | 6,74     |
| 1,0 x 10 <sup>8</sup>  | 2,68                       | (2,19; 3,28)                   | Y= 3,54 + 3,39.logx | 12,35    |
| 1,0 x 10 <sup>7</sup>  | 2,50                       | (2,18; 2,88)                   | Y= 3,85 + 2,85.logx | 4,27     |
| <b>IBCB 21</b>         |                            |                                |                     |          |
| 1,0 x 10 <sup>10</sup> | 2,78                       | (2,53; 3,06)                   | Y= 3,17 + 4,09.logx | 2,73     |
| 1,0 x 10 <sup>9</sup>  | 3,48                       | (2,96; 4,10)                   | Y= 2,61 + 4,38.logx | 10,23    |
| 1,0 x 10 <sup>8</sup>  | 3,06                       | (2,75; 3,39)                   | Y= 2,31 + 5,53.logx | 4,96     |
| 1,0 x 10 <sup>7</sup>  | 3,84                       | (3,27; 4,52)                   | Y= 2,11 + 4,92.logx | 12,64*   |
| <b>IBCB 66</b>         |                            |                                |                     |          |
| 1,0 x 10 <sup>10</sup> | 4,10                       | (3,52; 4,78)                   | Y= 2,07 + 4,77.logx | 19,85*   |
| 1,0 x 10 <sup>9</sup>  | 6,77                       | (5,72; 8,01)                   | Y= 1,65 + 4,02.logx | 63,41*   |
| 1,0 x 10 <sup>8</sup>  | 4,30                       | (4,05; 4,55)                   | Y= 2,61 + 3,76.logx | 4,18     |
| 1,0 x 10 <sup>7</sup>  | 3,09                       | (2,63; 3,63)                   | Y= 2,17 + 5,76.logx | 8,42     |
| <b>ESALQ 447</b>       |                            |                                |                     |          |
| 1,0 x 10 <sup>10</sup> | 3,27                       | (2,39; 4,48)                   | Y= 2,83 + 4,20.logx | 22,71*   |
| 1,0 x 10 <sup>9</sup>  | 3,13                       | (2,76; 3,56)                   | Y= 3,49 + 3,03.logx | 4,85     |
| 1,0 x 10 <sup>8</sup>  | 4,08                       | (3,35; 4,96)                   | Y= 2,80 + 3,58.logx | 22,52*   |
| 1,0 x 10 <sup>7</sup>  | 2,29                       | (2,00; 2,63)                   | Y= 3,92 + 2,98.logx | 5,87     |
| <b>UFGD 02</b>         |                            |                                |                     |          |
| 1,0 x 10 <sup>10</sup> | 3,72                       | (2,41; 5,75)                   | Y= 2,97 + 3,53.logx | 33,69*   |
| 1,0 x 10 <sup>9</sup>  | 3,09                       | (2,69; 3,56)                   | Y= 3,10 + 3,85.logx | 8,00     |
| 1,0 x 10 <sup>8</sup>  | 3,79                       | (3,42; 4,21)                   | Y= 3,21 + 3,08.logx | 4,85     |
| 1,0 x 10 <sup>7</sup>  | 3,71                       | (3,06; 4,48)                   | Y= 3,27 + 3,02.logx | 15,67*   |
| <b>UFGD 11</b>         |                            |                                |                     |          |
| 1,0 x 10 <sup>10</sup> | 3,95                       | (3,15; 4,97)                   | Y= 1,88 + 5,20.logx | 27,49*   |
| 1,0 x 10 <sup>9</sup>  | 4,03                       | (3,30; 4,94)                   | Y= 2,44 + 4,20.logx | 35,40*   |
| 1,0 x 10 <sup>8</sup>  | 5,51                       | (4,90; 6,20)                   | Y= 2,03 + 3,99.logx | 20,17*   |
| 1,0 x 10 <sup>7</sup>  | 5,51                       | (4,29; 7,07)                   | Y= 2,02 + 4,01.logx | 63,16*   |

\*  $\chi^2$  significativo (P < 0,05)

n = 50

Silva & Diehl-Fleig (1988) testaram diferentes isolados de *B. bassiana* e *M. anisopliae* para o controle de *A. sexdens piriventris*, espécie de grande ocorrência no Rio Grande do Sul. Através de bioensaios em laboratório e testes em campo, comprovaram a patogenicidade dos fungos ao inseto. Os autores obtiveram TL<sub>50</sub> de 2,72 e 3,33 dias para os dois isolados de *B. bassiana*. No entanto, neste estudo não foi observada diferença significativa na mortalidade

de soldados e operárias. Em campo, colônias inoculadas com os fungos apresentaram redução total da atividade externa 60 dias após a aplicação.

Segundo Bass & Cherret (1994) as operárias desempenham um papel fundamental na manutenção da esponja fúngica, contribuindo para assegurar o desenvolvimento do fungo simbiote e garantindo assim, que o ninho mantenha-se saudável. Desta forma, esta casta pode ser considerada um alvo potencial para o controle de ninhos.

Para os isolados IBCB 07 e IBCB 21, ocorreu 100% de mortalidade acumulada de operárias, cinco dias após a inoculação, utilizando-se a concentração de  $1,0 \times 10^{10}$  conídios/mL (Figuras 1 e 2). O isolado IBCB 07, quando inoculado em soldados, na maior concentração ( $1,0 \times 10^{10}$  conídios/mL), também causou 100% de mortalidade, seis dias após a inoculação (Figura 1). A rapidez com que o patógeno mata seu hospedeiro é uma característica desejável para o controle de muitas pragas, porém não deve ser considerada como única. O isolado deve ser capaz de proporcionar elevada mortalidade final, exigindo desta maneira, pulverizações menos freqüentes, quando aplicados em campo, com a possibilidade de reduzir os custos de controle (Tamai, 2002). Para insetos sociais como as formigas, o efeito rápido do inseticida (químico ou biológico) não é uma característica única desejável, pois estes insetos apresentam comportamento de proteção à colônia que envolve o isolamento dos indivíduos doentes do restante da colônia, impedindo a transmissão e/ou disseminação do fungo entre os indivíduos sadios.

Os menores valores de  $TL_{50}$  nem sempre foram atribuídos à maior concentração. Para os isolados IBCB 66 e ESALQ 447, aplicando-se a menor concentração de conídios em soldados ( $1,0 \times 10^7$  conídios/mL), foi obtida a maior taxa de mortalidade, sendo que ao sexto e sétimo dias após a inoculação foi obtido 100% de mortalidade acumulada para operárias e soldados, respectivamente (Figura 3). Isto indica uma característica interessante, uma vez que quanto menor a necessidade de propágulos infectivos do patógeno aderidos ao corpo do inseto



para que ocorra o desenvolvimento da doença, maior é a virulência de um isolado. Por outro lado, quando se utiliza um elevado potencial de inóculo, os resultados podem ser inesperados, pois um grande número de conídios de fungo sobre o tegumento do inseto pode ter influência negativa na germinação dos mesmos ou ainda, favorecer a penetração de bactérias contaminantes, gerando septicemia e resultando na morte rápida do inseto (Alves & Lecuona, 1998).

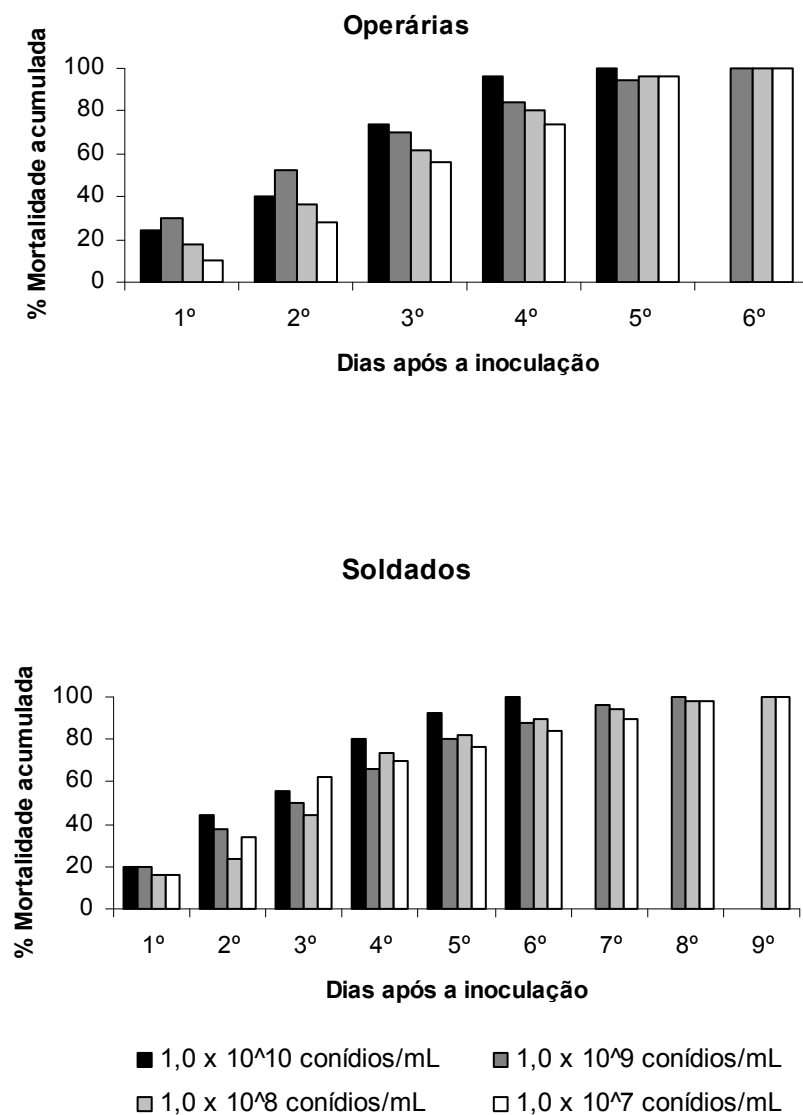


Figura 1. Mortalidade acumulada (%) de operárias e soldados de *A. sexdens rubropilosa* após a inoculação com *B. bassiana* isolado IBCB 07 (25 ± 1°C; 70 ± 10% UR; fotofase de 12 horas).

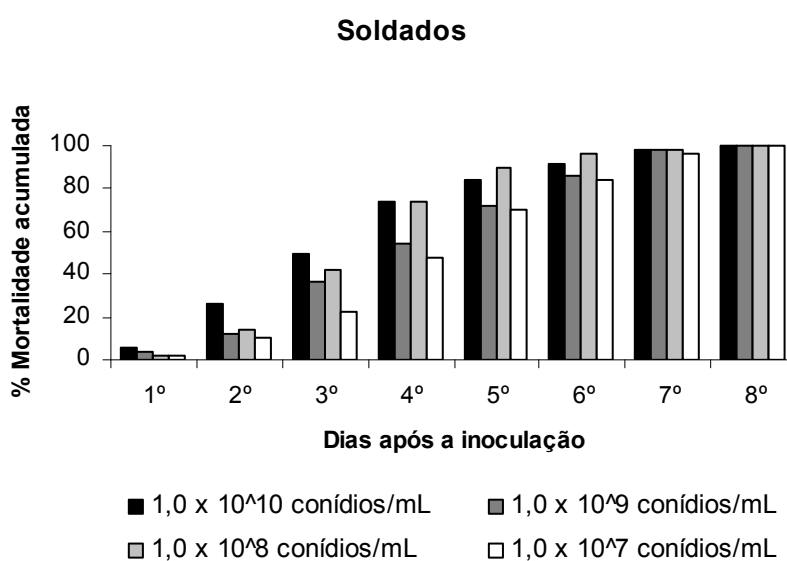
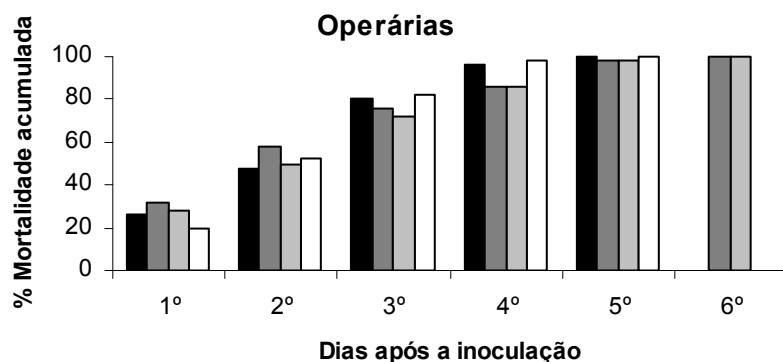


Figura 2. Mortalidade acumulada (%) de operárias e soldados de *A. sexdens rubropilosa* após a inoculação com *B. bassiana* isolado IBCB 21 ( $25 \pm 1^\circ\text{C}$ ;  $70 \pm 10\%$  UR; fotofase de 12 horas).

A mortalidade confirmada, representada pelo número de cadáveres nos quais se observou a emergência e reprodução do entomopatógeno, variou entre 20 a 98% para operárias e 26 a 94% para soldados, ocorrendo diferença significativa entre as concentrações (Tabela 4). De modo geral, não houve diferenças significativas entre os valores de esporulação para operárias e soldados. A baixa porcentagem de mortalidade confirmada

apresentada por alguns isolados não descarta totalmente a possibilidade destes insetos terem sido mortos pelo fungo. Em alguns casos, o álcool utilizado na desinfestação externa pode ter inviabilizado o fungo após sua entrada no interior do cadáver por eventuais fissuras no tegumento, provocadas no manuseio dos mesmos (Tamai, 2002). A contaminação externa dos insetos também pode ter ocorrido durante a manipulação para a instalação dos bioensaios.

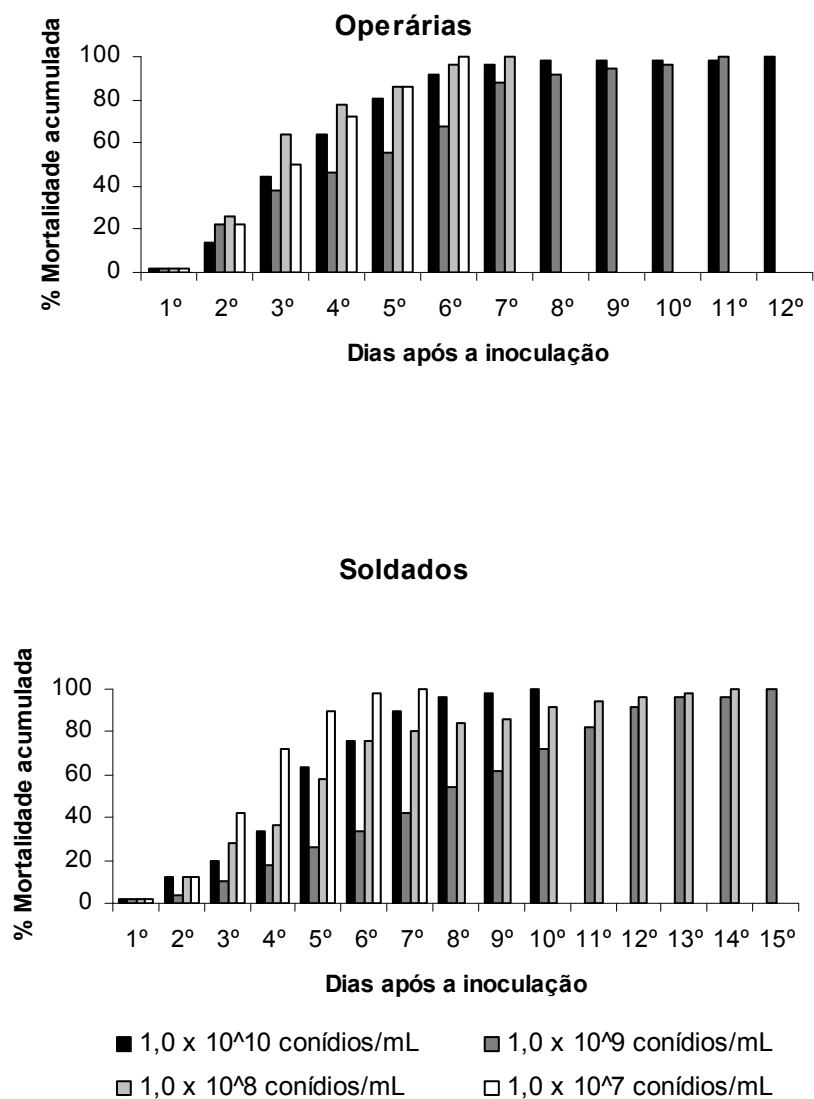


Figura 3. Mortalidade acumulada (%) de operárias e soldados de *A. sexdens rubropilosa* após a inoculação com *B. bassiana* isolado IBCB 66 (25 ± 1°C; 70 ± 10% UR; fotofase de 12 horas).

Para o controle de insetos sociais, é muito importante considerar a capacidade de esporulação do isolado sobre os cadáveres. Assim, quanto mais rápido ocorrer a esporulação, maiores chances o fungo terá de atingir um elevado potencial de inóculo dentro dos ninhos, antes que o inseto consiga retirar todos os cadáveres (Stimac et al., 1987).

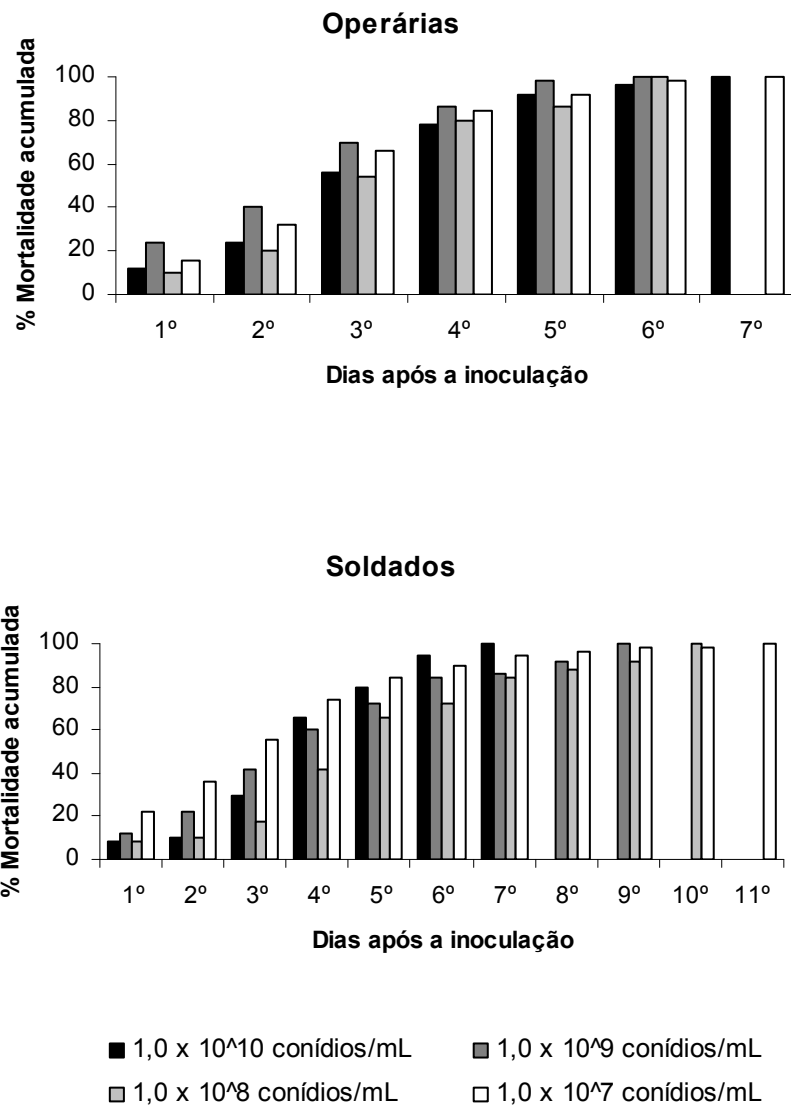


Figura 4. Mortalidade acumulada (%) de operárias e soldados de *A. sexdens rubropilosa* após a inoculação com *B. bassiana* isolado ESALQ 447 (25 ± 1°C; 70 ± 10% UR; fotofase de 12 horas).

Nos tratamentos testemunha, nos quais foi aplicada apenas água destilada ou água destilada + espalhante adesivo, não ocorreu esporulação do fungo sobre os cadáveres, indicando que a mortalidade ocorrida nesse grupo não foi resultado da infecção pelo fungo entomopatogênico *B. bassiana* (Tabela 4).

Busarello et al. (2007) testaram dois isolados de *B. bassiana* (IBCB 66 e UFGD 02) em soldados de *Atta laevigatta*, utilizando suspensões contendo  $1,0 \times 10^7$ ,  $1,0 \times 10^8$  e  $1,0 \times 10^9$  conídios/mL. Os valores de  $TL_{50}$  variaram entre 2,28 e 2,60 para IBCB 66, e entre 2,35 e 2,96 dias para UFGD 02, não havendo diferença significativa entre as concentrações testadas. A mortalidade confirmada variou entre 84 e 92% para o isolado IBCB 66 e 84 a 94% para UFGD 02. No presente trabalho, testando-se os mesmos isolados sobre soldados, obteve-se valor de  $TL_{50}$  de 3,09 dias (Tabela 3), nas concentrações de  $1,0 \times 10^7$  conídios/mL e  $1,0 \times 10^9$  conídios/mL para IBCB 66 e UFGD 02, respectivamente, o que pode indicar que soldados de *A. sexdens rubropilosa* são mais resistentes a estes isolados do que *A. laevigatta*. Ainda, a mortalidade confirmada obtida para *A. sexdens rubropilosa* foi inferior, variando de 44 a 88% e 74 a 88%, para IBCB 66 e UFGD 02, respectivamente (Tabela 4). Para o isolado UFGD 02, utilizando-se a maior concentração ( $1,0 \times 10^{10}$  conídios/mL) foi obtido 100% de mortalidade acumulada para operárias e soldados, aos seis e sete dias após a inoculação, respectivamente (Figura 5).

Segundo Alves (1998), a variação na patogenicidade pode estar relacionada à fatores como a baixa virulência do isolado, especificidade, tolerância do hospedeiro, entre outros. A variabilidade entre isolados é resultado das diferenças na produção de enzimas (amilase, protease, lípase) e toxinas, na velocidade de germinação dos conídios, na atividade mecânica de penetração na cutícula e na capacidade de colonização dos isolados (Paccola-Meirelles & Azevedo, 1990).

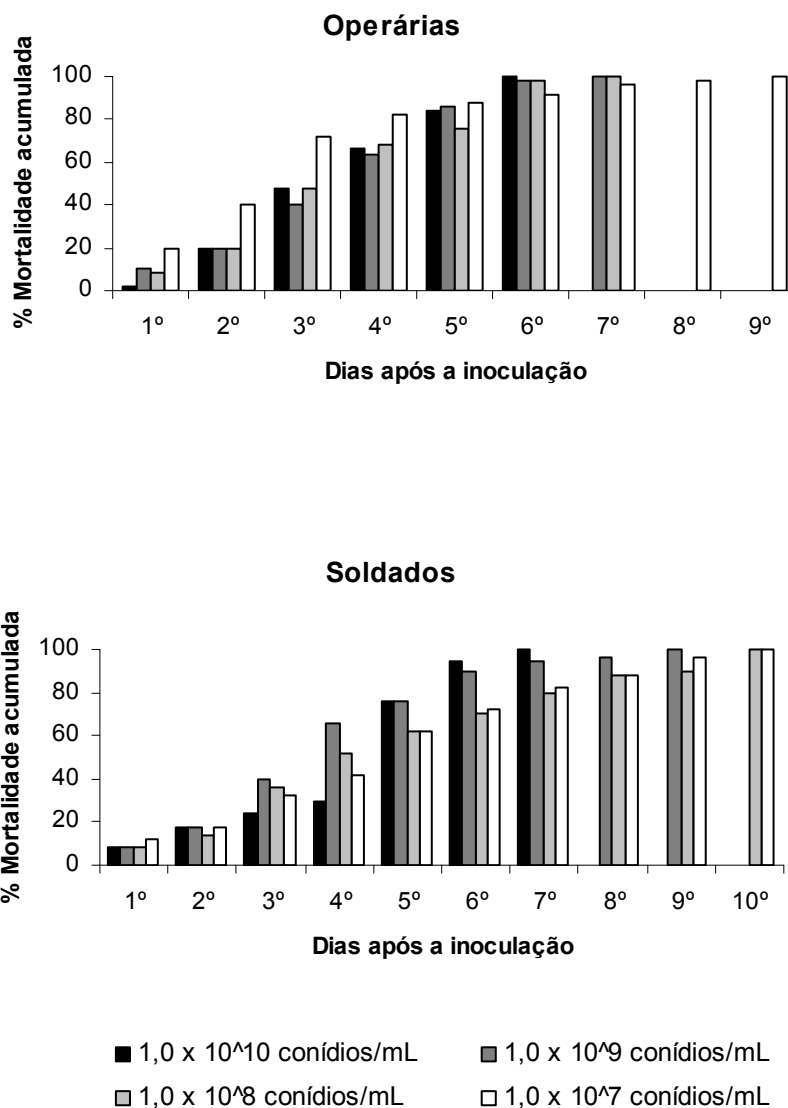


Figura 5. Mortalidade acumulada (%) de operárias e soldados de *A. sexdens rubropilosa* após a inoculação com *B. bassiana* isolado UFGD 02 (25 ± 1°C; 70 ± 10% UR; fotofase de 12 horas).

Em relação ao isolado ESALQ 447, a concentração de 1,0 x 10<sup>9</sup> conídios/mL foi a mais eficiente, com TL<sub>50</sub> de 1,93 dias para operárias. Já para soldados, a melhor concentração foi a de 1,0 x 10<sup>7</sup> conídios/mL, com TL<sub>50</sub> de 2,29 dias. Foi obtido 100% de mortalidade acumulada em operárias, sete dias após a inoculação, para todas as concentrações e, em soldados, para a maior concentração (1,0 x 10<sup>10</sup> conídios/mL) (Figura 4). Pereira et al. (1993),

testaram este mesmo isolado em operárias de *Solenopsis* sp. No experimento com pulverização direta nas formigas, verificaram TL<sub>50</sub> de 5 a 6 dias, obtidos no tratamento com 1,0 x 10<sup>8</sup> conídios/mL e 88% de esporulação sobre os cadáveres, dado superior ao obtido no presente trabalho (80 e 84% de esporulação, para operárias e soldados, respectivamente), na concentração de 1 x 10<sup>10</sup> conídios/mL (Tabela 4). Stimac et al. (1989) testaram a eficiência do isolado ESALQ 447 no controle de *Solenopsis* spp. em campo, obtendo mortalidade entre 67 e 100%, sendo que os valores máximos de mortalidade ocorreram com a menor concentração utilizada (12,5 g de fungo).

Para o isolado UFGD 11, apesar do mesmo apresentar valores de TL<sub>50</sub> mais elevados quando comparado aos outros isolados, obteve-se alta porcentagem de mortalidade confirmada (84 a 96% para operárias e 82 a 90% para soldados) (Tabela 4). Na concentração 1,0 x 10<sup>10</sup> conídios/mL, foi obtido 100% de mortalidade acumulada de soldados e operárias, oito dias após a inoculação (Figura 6).

Loureiro & Monteiro (2004) avaliaram a eficiência de diferentes isolados de *B. bassiana*, *M. anisopliae* e *Paecilomyces farinosus* para o controle de *A. sexdens sexdens*, comprovando a patogenicidade dos fungos a operárias da espécie.

Em outro trabalho realizado por Loureiro & Monteiro (2005), foi avaliada a patogenicidade de diferentes isolados de *B. bassiana*, *M. anisopliae* e *Paecilomyces farinosus* sobre soldados de *A. sexdens sexdens*, sendo verificado que o isolado JAB 06 de *B. bassiana* foi o mais eficaz dentre aqueles avaliados, provocando alta mortalidade na concentração de 1 x 10<sup>9</sup> conídios/mL, menor TL<sub>50</sub> (2,6 dias) e alta porcentagem de esporulação sobre os cadáveres.

A mortalidade confirmada elevada é uma característica importante, pois a capacidade de produzir propágulos do patógeno pode levar ao desencadeamento de epizootias em campo, através da disseminação dos mesmos no ambiente e contaminação de indivíduos sadios

(Alves & Lecuona, 1998). Além disso, a mortalidade confirmada pode ser escolhida como parâmetro para se estudar o comportamento da melhor concentração, pois os fungos, como agentes de controle biológico, diferem fundamentalmente dos produtos químicos, pela capacidade de aumento da densidade do patógeno por meio da dispersão do inoculo secundário, repetindo o ciclo através da população hospedeira (Hajek & St. Legar, 1994).

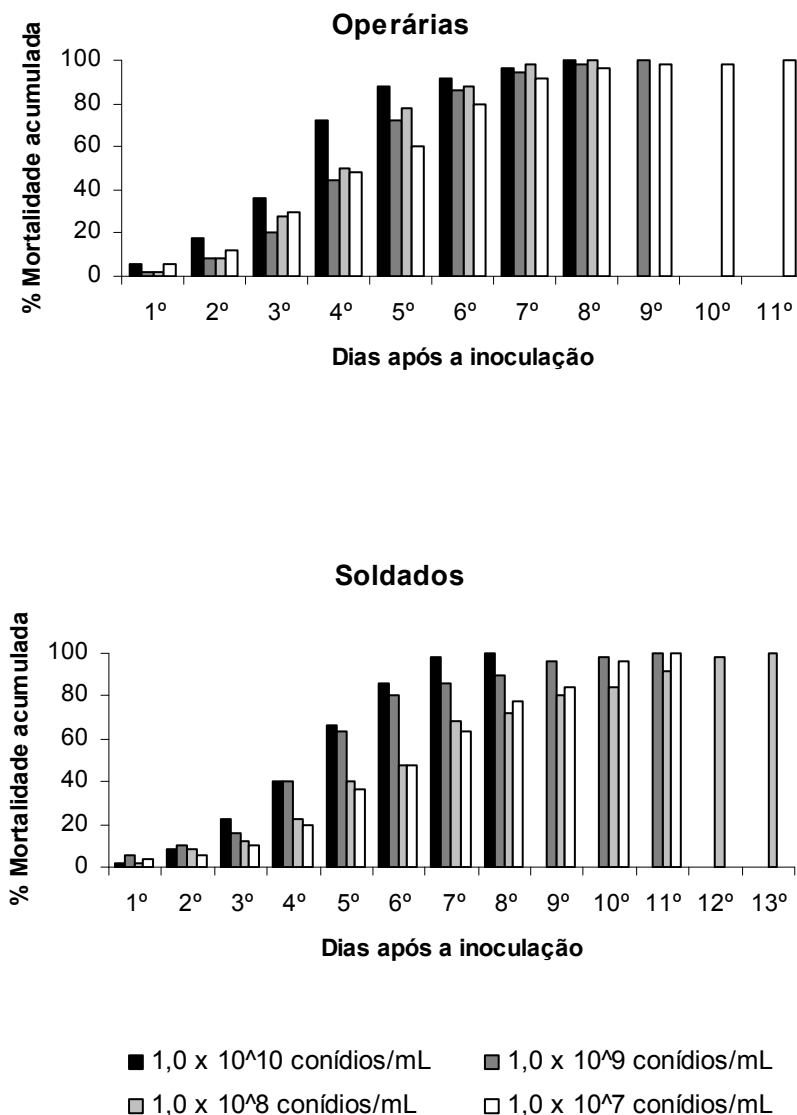


Figura 6. Mortalidade acumulada (%) de operárias e soldados de *A. sexdens rubropilosa* após a inoculação com *B. bassiana* isolado UFGD 11 ( $25 \pm 1^\circ\text{C}$ ;  $70 \pm 10\%$  UR; fotofase de 12 horas).



**Tabela 4.** Mortalidade confirmada (%) ( $\pm$  EP) de operárias e soldados de *A. sexdens rubropilosa* após inoculação com *B. bassiana* ( $25 \pm 1^\circ\text{C}$ ;  $70 \pm 10\%$  UR; fotofase de 12 horas), Dourados - MS, 2007.

| Tratamentos |              | <i>Beauveria bassiana</i> |                      |        |
|-------------|--------------|---------------------------|----------------------|--------|
| Isolado     | Concentração | Soldados                  | Operárias            | CV (%) |
| Testemunha  | Sem Tween    | 0,00 $\pm$ 0,00 fA        | 0,00 $\pm$ 0,00 eA   | 0,00   |
| Testemunha  | Com Tween    | 0,00 $\pm$ 0,00 fA        | 0,00 $\pm$ 0,00 eA   | 0,00   |
| IBCB 07     | $10^7$       | 38,00 $\pm$ 6,63 eA       | 34,00 $\pm$ 6,78 dA  | 41,67  |
|             | $10^8$       | 70,00 $\pm$ 10,95 bA      | 56,00 $\pm$ 11,66 cA | 40,16  |
|             | $10^9$       | 26,00 $\pm$ 6,00 eA       | 28,00 $\pm$ 5,83 dA  | 49,00  |
|             | $10^{10}$    | 58,00 $\pm$ 5,83 cA       | 20,00 $\pm$ 5,47 dB  | 32,43  |
| IBCB 21     | $10^7$       | 94,00 $\pm$ 4,00 aA       | 98,00 $\pm$ 2,00 aA  | 7,37   |
|             | $10^8$       | 92,00 $\pm$ 3,74 aA       | 84,00 $\pm$ 6,78 bA  | 13,92  |
|             | $10^9$       | 58,00 $\pm$ 7,34 cB       | 88,00 $\pm$ 7,34 bA  | 22,51  |
|             | $10^{10}$    | 88,00 $\pm$ 3,74 aA       | 96,00 $\pm$ 2,44 aA  | 7,69   |
| IBCB 66     | $10^7$       | 64,00 $\pm$ 10,29 bB      | 92,00 $\pm$ 5,83 aA  | 23,98  |
|             | $10^8$       | 88,00 $\pm$ 3,74 aB       | 98,00 $\pm$ 2,00 aA  | 7,21   |
|             | $10^9$       | 44,00 $\pm$ 5,09 dA       | 56,00 $\pm$ 9,27 cA  | 33,47  |
|             | $10^{10}$    | 60,00 $\pm$ 7,07 cA       | 78,00 $\pm$ 10,19 bA | 28,44  |
| ESALQ 447   | $10^7$       | 62,00 $\pm$ 6,63 bA       | 68,00 $\pm$ 5,83 cA  | 21,48  |
|             | $10^8$       | 68,00 $\pm$ 3,74 bA       | 68,00 $\pm$ 5,83 cA  | 16,11  |
|             | $10^9$       | 68,00 $\pm$ 3,74 bA       | 78,00 $\pm$ 3,74 bA  | 11,46  |
|             | $10^{10}$    | 84,00 $\pm$ 2,44 aA       | 80,00 $\pm$ 3,16 bA  | 7,71   |
| UFGD 02     | $10^7$       | 86,00 $\pm$ 5,09 aA       | 82,00 $\pm$ 3,74 bA  | 11,90  |
|             | $10^8$       | 88,00 $\pm$ 3,74 aA       | 84,00 $\pm$ 2,44 bA  | 8,22   |
|             | $10^9$       | 74,00 $\pm$ 4,00 bB       | 86,00 $\pm$ 2,44 bA  | 9,27   |
|             | $10^{10}$    | 88,00 $\pm$ 2,00 aA       | 90,00 $\pm$ 3,16 aA  | 6,65   |
| UFGD 11     | $10^7$       | 82,00 $\pm$ 5,83 aA       | 84,00 $\pm$ 5,09 bA  | 14,76  |
|             | $10^8$       | 90,00 $\pm$ 5,47 aA       | 88,00 $\pm$ 3,74 bA  | 11,78  |
|             | $10^9$       | 86,00 $\pm$ 5,09 aA       | 94,00 $\pm$ 2,44 aA  | 9,94   |
|             | $10^{10}$    | 82,00 $\pm$ 3,74 aB       | 96,00 $\pm$ 2,44 aA  | 7,95   |
| CV (%)      |              | 20,20                     | 19,15                |        |

Valores seguidos pela mesma letra minúscula na coluna e maiúscula na linha, não diferem significativamente entre si, pelo teste de Scott-Knott ao nível de 5% de probabilidade. Para análise dados transformados para  $\arcsen(x/100)^{1/2}$ .

A concentração das suspensões afetou a mortalidade confirmada, havendo diferenças significativas entre as mesmas para a maioria dos isolados (Tabela 4). Quando uma maior quantidade de conídios germina, a invasão e a colonização do corpo do inseto é mais rápida e eficiente, dificultando a proliferação de outros microrganismos competidores que poderiam

prejudicar a esporulação do fungo (Neves & Hirose, 2005). No entanto, as concentrações com maiores quantidades de conídios nem sempre foram aquelas que apresentaram maior porcentagem de esporulação. A penetração dos fungos, principalmente quando utilizados em concentrações elevadas, causa o aparecimento de “orifícios” no tegumento dos insetos, os quais ficam, assim, sujeitos ao ataque de outros microrganismos. Nesse caso, devido ao fato de bactérias crescerem muito mais rapidamente que fungos, elas acabam por colonizar o corpo do hospedeiro, causando septicemia, caracterizada pelo aspecto e odor, e impedindo o crescimento do patógeno primário, ou seja, o entomopatógeno com capacidade de penetração e interferindo nos resultados de confirmação da morte do inseto pelo fungo (Alves & Pereira, 1998), sendo este fato observado no presente trabalho.

As secreções das glândulas mandibular e metapleurais têm sido apontadas como responsáveis pela assepsia das formigas e manutenção dos ninhos livre de microrganismos (Brough, 1983). As saúvas produzem mirmecacina através da glândula metatorácica, sendo que um de seus componentes, o ácido  $\beta$ -hidróxido decanóico, possui ação fungicida, que pode atuar contra os principais fungos entomopatogênicos (Alves & Lecuona, 1998). Porém, estudo realizado por Diehl & Junqueira (2001) demonstraram que a secreção metapleurais de operárias de *A. sexdens piriventris* não possui atividade fungicida e/ou fungistática sobre *B. bassiana*.

Segundo Alves & Lecuona (1998), para cada praga é possível selecionar um entomopatógeno eficiente para seu controle. É necessário, porém, ter em mente que o emprego dos entomopatógenos difere dos inseticidas químicos normalmente utilizados. Enquanto os métodos químicos conseguem redução rápida e temporária dos prejuízos econômicos, os produtos microbianos conseguem mais lentamente resultados semelhantes e mais duradouros.

Para que seja possível a obtenção de novos isolados de fungos promissores no combate a *A. sexdens rubropilosa* é preciso dar continuidade a programas de seleção, efetuando-se novos testes, com um maior número de isolados. Neste trabalho foram utilizados isolados nunca antes testados pra o controle de formigas cortadeiras e os resultados obtidos indicam o potencial dos mesmos como agentes de controle. A seleção dos melhores isolados deve levar em conta alguns fatores como alto índice de mortalidade, em curto período de tempo e elevada esporulação nos cadáveres.

Uma vez que as formigas cortadeiras têm alta capacidade de reconhecer elementos entomopatogênicos e de apresentar comportamentos de defesa e assepsia, torna-se necessário a obtenção de linhagens com características de alta virulência e grande capacidade de dispersão.

### **Conclusões**

1. Todos os isolados de *B. bassiana* testados foram patogênicos a *A. sexdens rubropilosa*, sendo que operárias foram mais suscetíveis que soldados.
2. O isolado IBCB 21 foi o mais virulento para operárias, apresentando TL<sub>50</sub> de 1,57 dias, não havendo diferença significativa entre as concentrações testadas.
3. Para os soldados, o isolado mais virulento foi IBCB 07, com TL<sub>50</sub> de 2,15 dias, não ocorrendo diferença significativa entre as concentrações.
4. O isolado IBCB 21 também causou altas porcentagens de mortalidade confirmada, apresentando potencial para utilização como agente de controle de *A. sexdens rubropilosa*.

## Agradecimento

Ao CNPq – Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico pela concessão de bolsa de mestrado.

## Referências

ALVES, S.B. Fungos entomopatogênicos. In: ALVES, S.B. (Ed.) **Controle microbiano de insetos**. Piracicaba: Fealq, 1998. p.289-381.

ALVES, S.B.; LECUONA, R.E. Epizootiologia aplicada ao controle microbiano de insetos. In: ALVES, S. B. (Ed.) **Controle microbiano de insetos**. Piracicaba: Fealq, 1998. p.97-170.

ALVES, S.B.; PEREIRA, R.M. Distúrbios fisiológicos provocados por entomopatógenos. In: ALVES, S.B. (Ed.) **Controle microbiano de insetos**. Piracicaba: Fealq, 1998. p.39-54.

ALVES, S.B.; SOSA-GOMES, D.R. Virulência de *Metarhizium anisopliae* (Metsch.) Sorokin e *Beauveria bassiana* (Balsamo) Vuill. para duas castas de *Atta sexdens rubropilosa* (Forel, 1908). **Poliagro**, v.5, p.1-9, 1983.

BASS, M.; CHERRET, J.M. (1994), The role of leaf-cutting ant workers (Hymenoptera: Formicidae) in fungus garden maintenance. **Ecological Entomology**, v.19, p.215-220.

BOARETTO, M.A.C.; FORTI, L.C. **Perspectivas no controle de formigas cortadeiras**. Série Técnica, IPEF, v.11, p.31-46, 1997.

BROUGH, E.J. The antimicrobial activity of the mandibular gland secretion of a formiciane ant, *Calomyrmex* sp. (Hymenoptera – Formicidae). **Journal of Invertebrate Pathology**, v.42, p.306-311, 1983.

BUSARELLO, G.D.; FREITAS, A.F.; LOUREIRO, E.S.; MATSUMOTO, M.Y.; PESSOA, L.G.A. Suscetibilidade de *Atta laevigata* (F. Smith, 1858) (Hymenoptera: Formicidae) ao

fungo *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuill. **X Siconbiol – Simpósio de Controle Biológico**, Brasília – Distrito Federal, 2007.

DIEHL E.; JUNQUEIRA, L.K. Seasonal variations of metapleural secretion in the leaf-cutting ant *Atta sexdens piriventris* Santschi (Myrmicinae: Attini), and lack of fungicide effect on *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuillemin. **Neotropical Entomology**, v.30, p.517-522, 2001.

DIEHL-FLEIG, E.; SILVA, M.E. Patogenicidade de *Beauveria bassiana* e *Metarhizium anisopliae* à formiga saúva *Atta sexdens piriventris*. **Boletim do Grupo de Pesquisadores de Controle Biológico**, v.6, p.15, 1986.

DIEHL-FLEIG, E.; SILVA, M. E.; PACHECO, M. R. M. Testes de patogenicidade dos fungos entomopatogênicos *Beauveria bassiana* e *Metarhizium anisopliae* em *Atta sexdens periventris* (Santschi, 1919) em diferentes temperaturas. **Ciência e Cultura**, v.40, p.1103-1105, 1988.

DIEHL-FLEIG, E.; SILVA, M.E.; VALIM-LABRES, M.E.;SPECHT, A. Ocorrência natural de *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuill. no Rio Grande do Sul. **Acta Biologica Leopoldensia**, v.14, p.99-104, 1992.

DIEHL-FLEIG, E.; SILVA, M.E.; SPECHT, A.; VALIM-LABRES, M.E. Efficiency of *Beauveria bassiana* for *Acromyrmex* spp. Control (Hymenoptera: Formicidae). **Anais da Sociedade Entomológica do Brasil**, v.22, p.281-285, 1993.

FERREIRA, D.F. Análises estatísticas por meio do Sisvar para Windows versão 4.0. In: **45ª Reunião Anual da Região Brasileira da Sociedade internacional de Biometria**. UFSCar, São Carlos, SP, p.255-258, 2000.

HAJEK, A.E.; ST. LEGER, R.J. Interactions between fungal pathogens and insect hosts. **Annual Review of Entomology**, v.39, p.293-322, 1994.

HERNÁNDEZ, J.V.; JAFFÉ, K. Dano econômico causado por populações de formigas *Atta laevigata* (F. Smith) em plantações de *Pinus caribaea* Mor. e elementos para o manejo da praga. **Anais da Sociedade Entomológica do Brasil**, v.24, p.287-298, 1995.

HÖLLDOBLER, B.; WILSON, E.O. *The Ants*. Harvard University Press, Cambridge, Mass., 1990, 732p.

JACCOUD, D.B.; HUGHES, W.O.H.; JACKSON, C.W. The epizootiology of a *Metarhizium* infection in mini-nests of the leaf-cutting ant *Atta sexdens rubropilosa*. **Entomologia Experimentalis et Applicata**, v.93, p.51-61, 1999.

LOUREIRO, E.S.; MONTEIRO, A.C. Seleção de isolados de *Beauveria bassiana*, *Metarhizium anisopliae* e *Paecilomyces farinosus*, patogênicos para operárias de *Atta sexdens sexdens* (Linnaeus, 1758) (Hymenoptera: Formicidae). **Arquivos do Instituto Biológico**, v.71, p.35-40, 2004.

LOUREIRO, E.S.; MONTEIRO, A.C. Patogenicidade de isolados de três fungos entomopatogênicos a soldados de *Atta sexdens* (Linnaeus, 1758) (Hymenoptera: Formicidae). **Revista Árvore**, v.29, p.553-561, 2005.

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

MARINHO, C.G.S.; DELLA LUCIA, T.M.C.; PICANÇO, M.C. Fatores que dificultam o controle das formigas cortadeiras. **Bahia Agrícola**, v.7, p.18-21, 2006.

NEVES, P.M.O.J.; HIROSE, E. Seleção de isolados de *Beauveria bassiana* para o controle biológico da broca-do-café, *Hypothenemus hampei* (Ferrari) (Coleoptera: Scolytidae). **Neotropical Entomology**, v.34, p.77-82, 2005.

OI, D.H.; PEREIRA, R.M. Ant behavior and microbiol pathogens (Hymenoptera: Formicidae). **Florida Entomologist**, v.76, p.63-74, 1993.

PACCOLA-MEIRELLES, L.D.; AZEVEDO, J.L. Variabilidade natural do fungo entomopatogênico *Beauveria bassiana*. **Brazilian Archives of Biology and Technology**, v.33, p.657-672, 1990.

PEREIRA, R.M.; STIMAC, J.L.; ALVES, S.B. Soil antagonism affecting the dose-response of workers and of the red imported fire ant, *Solenopsis invicta*, to *Beauveria bassiana* conidia. **Journal of Invertebrate Pathology**, v.61, p.156-161, 1993.

SILVA, M.E.; DIEHL-FLEIG, E. Avaliação de diferentes linhagens de fungos entomopatogênicos para controle da formiga *Atta sexdens piriventris* (Santschi, 1919) (Hymenoptera: formicidae). **Anais da Sociedade Entomológica do Brasil**, v.17, p.263-269, 1988.

SPECHT, A.; DIEHL-FLEIG, E.; SILVA, M.E. Atratividade de iscas de *B. bassiana* (Bals) Vuill. a formiga do Gênero *Acromyrmex* (Hymenoptera: Formicidae). **Anais da Sociedade Entomológica do Brasil**, v.23, p.99-104, 1994.

STIMAC, J.L.; ALVES, S.B.; CAMARGO, M.T.V. Suscetibilidade de *Solenopsis* spp. a diferentes espécies de fungos entomopatogênicos. **Anais da Sociedade Entomológica do Brasil**, v.16, p.377-387, 1987.

STIMAC, J.L.; ALVES, S.B.; CAMARGO, M.T.V. Controle de *Solenopsis* spp. (Hymenoptera: Formicidae) com *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuill. em condições de laboratório e campo. **Anais da Sociedade Entomológica do Brasil**, v.18, p.95-103, 1989.

TAMAI, M.A.; ALVES, S.B.; ALMEIDA, J.E.M.; FAION, M. Avaliação de fungos entomopatogênicos para o controle de *Tetranychus urticae* Koch (Acari: Tetranychidae), **Arquivos do Instituto Biológico**, v.69, p.77-84, 2002.

WILCKEN, C.F.; BERTI FILHO, E. Controle biológico de formigas cortadeiras. **Anais do III Curso de Atualização no Controle de Formigas Cortadeiras**. PCMIP/IPEF, p.1-5, 1994.

## 2. CAPÍTULO 2

### Suscetibilidade de *Atta sexdens rubropilosa* (Forel, 1908) (Hymenoptera: Formicidae) a *Metarhizium anisopliae* (Metsch.) Sorokin em condições de laboratório

Giovana Daniela Busarello<sup>1</sup>, Elisângela de Souza Loureiro<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Programa de Pós-Graduação em Entomologia e Conservação da Biodiversidade, Universidade Federal da Grande Dourados (UFGD). Rodovia Dourados – Itahum, km 12, Cidade Universitária. Caixa Postal 533, CEP: 79804-970, Dourados – MS. E-mail: gdbusarello@terra.com.br; lis\_loureiro@yahoo.com.br.

**ABSTRACT.** Susceptibility of *Atta sexdens rubropilosa* (Forel, 1908) (Hymenoptera: Formicidae) to *Metarhizium anisopliae* (Metsch.) Sorokin in laboratory conditions. The aim of this study was to evaluate the pathogenicity of the entomopathogenic fungus *Metarhizium anisopliae* on leaf-cutting ants *Atta sexdens rubropilosa*, under laboratory conditions. It was inoculated suspensions containing different concentrations of conidia in specimens of soldiers and workers, kept under controlled conditions. The mortality was verified daily until 15 days after inoculation. The experimental delineation was entirely randomly. Sporulation data were submitted to the analysis of variance and the average of the treatments compared each other by Scott-Knott test. Probit analysis was performed, to obtain the values of TL<sub>50</sub> (in days). All isolates were pathogenic to *A. Sexdens rubropilosa*, being more virulent for workers than soldiers. Isolates IBCB 348, IBCB 410 and 425 were the most efficient in mortality of the ants. IBCB 425 and UFGD 03 caused high percentages of confirmed mortality. Thus, isolates tested have potential for use as control agents of *A. sexdens rubropilosa*.

**KEY WORDS.** Entomopathogenic fungi; leaf-cutting ant; microbial control.



RESUMO. Suscetibilidade de *Atta sexdens rubropilosa* (Forel, 1908) (Hymenoptera: Formicidae) a *Metarhizium anisopliae* (Metsch.) Sorokin em condições de laboratório. O objetivo deste trabalho foi avaliar a patogenicidade do fungo entomopatogênico *Metarhizium anisopliae* sobre formigas cortadeiras *Atta sexdens rubropilosa*, em condições de laboratório. Foi realizada a inoculação de suspensões contendo diferentes concentrações de conídios em exemplares de soldados e operárias, mantidos sob condições controladas. A mortalidade foi verificada diariamente até 15 dias após a inoculação. O delineamento experimental utilizado foi o inteiramente casualizado. Os dados de esporulação foram submetidos à análise de variância e as médias de tratamentos comparadas pelo teste de Scott-Knott. Foi realizada análise de Probit para obtenção dos valores de TL<sub>50</sub> (em dias). Todos os isolados foram patogênicos a *A. sexdens rubropilosa*, sendo mais virulentos para operárias do que para soldados. Os isolados IBCB 348, IBCB 410 e 425 foram os mais eficientes na mortalidade das formigas. IBCB 425 e UFGD 03 causaram altas porcentagens de mortalidade confirmada. Portanto, os isolados testados apresentam potencial para utilização como agentes de controle de *A. sexdens rubropilosa*.

PALAVRAS-CHAVE. Controle microbiano; formigas cortadeiras; fungos entomopatogênicos.

## INTRODUÇÃO

As formigas cortadeiras pertencentes ao gênero *Atta*, tribo Attini (Hymenoptera: Formicidae) estão entre os principais insetos praga das regiões neotropicais, sendo responsáveis por grandes perdas nos sistemas agropecuário e florestal (Specht et al. 1994; Hernández & Jaffé 1995). A espécie *Atta sexdens rubropilosa* (Forel, 1908), popularmente

conhecida como saúva-limão e amplamente distribuída pelo Brasil (Mariconi 1970), ataca várias culturas, pastagens e reflorestamentos, atuando praticamente sobre qualquer material vegetal (Hernández & Jaffé 1995; Boaretto & Forti 1997), o qual corta e transporta para os ninhos, onde cultiva um fungo simbiote, utilizado como alimento.

As saúvas apresentam alta complexidade social, com colônias populosas e alto grau de polimorfismo, o que permite um forrageamento eficiente de grandes quantidades de material vegetal, sendo consideradas herbívoros dominantes da região Neotropical (Hölldobler & Wilson 1990).

Estas características complexas apresentadas por esses insetos, aliadas a um sistema de proteção à rainha, produção de substâncias anti-microbianas, “grooming” (limpeza) e reconhecimento e remoção de materiais contaminados (Marinho et al. 2006), dificultam o seu controle.

Atualmente, o controle das formigas cortadeiras é realizado através do uso de grandes quantidades de produtos fitossanitários químicos, principalmente com a utilização de iscas granuladas. Porém, esses produtos são altamente tóxicos, dispendiosos e possuem eficiência reduzida, pois levam ao aparente extermínio da colônia de formigas ou à mudança de local do saúveiro, além de conduzir à seleção de populações resistentes (Silva & Diehl-Fleig 1988; Diehl-Fleig et al. 1988; Diehl-Fleig et al. 1993).

O controle biológico através da utilização de fungos entomopatogênicos têm sido estudado como uma possível alternativa, pois trata-se de um controle mais específico, econômico e duradouro (Silva & Diehl-Fleig, 1988). Ainda, o uso de fungos entomopatogênicos não representa risco a saúde dos usuários, consumidores e ao ambiente, é adequado para o manejo da resistência e pode associar-se com outros métodos de controle (Alves 1998).

Os fungos entomopatogênicos atuam no controle microbiano natural de insetos, constituindo um importante fator de supressão de pragas. A ocorrência desses patógenos pode ser constatada através de epizootias e enzootias nas populações de insetos, em condições naturais (Jaccoud et al. 1999; Leite et al. 2003). *Beauveria bassiana* e *Metarhizium anisopliae* têm sido encontrados infectando rainhas de *A. sexdens rubropilosa* e *A. bisphaerica* (Alves & Sosa Gómez 1983; Diehl-Fleig et al. 1992; Jaccoud et al. 1999).

Apesar dos mecanismos de reconhecimento e defesa contra agentes patogênicos apresentados pelas formigas cortadeiras, resultados promissores têm sido obtidos no controle microbiano desses insetos (Alves & Sosa Gómez 1983; Wilcken & Berti Filho 1994; Boaretto & Forti 1997). Porém, os resultados variam de acordo com o tipo de casta estudada e a forma de aplicação destes agentes (Diehl-Fleig & Silva 1986; Diehl-Fleig et al. 1988; Specht et al. 1994; Loureiro & Monteiro 2004, 2005).

Este trabalho objetivou avaliar a eficiência de isolados do fungo entomopatogênico *Metarhizium anisopliae* para o controle de soldados e operárias de *Atta sexdens rubropilosa* em condições de laboratório.

## MATERIAL E MÉTODOS

Os isolados de *M. anisopliae* utilizados nos bioensaios foram obtidos da Coleção de Entomopatógenos da Universidade Federal da Grande Dourados (UFGD) - Faculdade de Ciências Biológicas e Ambientais (Tabela 1).

Soldados e operárias de formigas *Atta sexdens rubropilosa* foram coletadas em saueiros existentes no *campus* da UFGD e colocadas em recipientes com tampa telada, separadas por castas e conduzidas até o laboratório, onde foram levadas ao freezer por alguns segundos para a contenção das mesmas.

Tabela I. Origem dos isolados do fungo entomopatogênico *Metarhizium anisopliae* utilizados nos bioensaios com *Atta sexdens rubropilosa*, em Dourados - MS, 2007.

| Isolado  | Hospedeiro original ou substrato | Local da coleta  |
|----------|----------------------------------|------------------|
| CG 423   | <i>Schistocerca pallens</i>      | ?                |
| IBCB 348 | <i>Mahanarva fimbriolata</i>     | Sertãozinho – SP |
| IBCB 410 | Amostra de solo                  | Iporanga – SP    |
| IBCB 425 | Amostra de solo                  | Iporanga – SP    |
| UFGD 03  | <i>Mahanarva fimbriolata</i>     | Dourados - MS    |

As culturas fúngicas foram obtidas por multiplicação em placas de Petri contendo meio de cultura BDA (batata-dextrose-ágar) sólido e esterilizado. Após semeadura pelo método de três pontos, as placas foram incubadas em câmara B.O.D. a  $25 \pm 1^\circ\text{C}$ , 70% UR e fotofase de 12 horas por um período de 7 a 15 dias, para crescimento vegetativo e conidiogênese e posteriormente armazenadas em geladeira ( $4^\circ\text{C}$ ) até a utilização nos experimentos.

Os conídios foram coletados, raspando-se a superfície do meio de cultura com o auxílio de uma alça de níquel-cromo e transferidos para tubos de ensaio contendo 10 mL de água destilada esterilizada e 0,1 mL de Tween 80 para a preparação das diluições. Após vigorosa agitação, o número de conídios contidos na suspensão original foi quantificado em câmara de Neubauer. A partir da suspensão original, foram preparadas diluições seriadas padronizadas nas concentrações de  $1,0 \times 10^7$ ,  $1,0 \times 10^8$ ,  $1,0 \times 10^9$  e  $1,0 \times 10^{10}$  conídios/mL.

Foi realizada a aplicação de 1 mL das suspensões contendo as diferentes concentrações de conídios nas placas de Petri e em seguida, grupos de 10 formigas foram colocados no interior das placas. Foram utilizados dois tratamentos testemunha, sendo um formado por solução de água destilada esterilizada + espalhante adesivo Tween 80, e outro, apenas por água destilada esterilizada.

Os insetos foram mantidos nas placas contendo um chumaço de algodão umedecido com água destilada esterilizada, sem alimentação, e condições controladas em câmara B.O.D

a  $25 \pm 1^\circ\text{C}$ , 70% UR e fotofase de 12 horas. Neste período, a água foi reposta, quando necessário, para a manutenção da umidade. O experimento foi avaliado diariamente por até 15 dias, sendo os insetos mortos imersos em solução de álcool 70% e água destilada esterilizada para desinfestação superficial e acondicionados em novas placas, mantidas em iguais condições descritas anteriormente para permitir o crescimento micelial e conidiogênese na superfície do inseto e confirmar o agente causal da morte.

Para cada tratamento foram preparadas cinco repetições, sendo calculados os dados de mortalidade confirmada (porcentagem de insetos nos quais ocorreu a esporulação do fungo) e mortalidade total acumulada (porcentagem de mortalidade independente da causa). Os dados referentes à esporulação foram submetidos à análise de variância e as médias comparadas entre si pelo teste de Scott-Knott, a 5% de probabilidade, utilizando-se o programa estatístico Sisvar<sup>®</sup> (Ferreira 2000), segundo o delineamento experimental inteiramente casualizado. Para obtenção dos valores de  $TL_{50}$  (em dias) foi realizada análise de Probit para os diferentes tratamentos, utilizando-se o programa estatístico Mobae.

## **RESULTADOS E DISCUSSÃO**

Todos os isolados testados do fungo *M. anisopliae* foram patogênicos a operárias e soldados de *A. sexdens rubropilosa*. Nas tabelas 2 e 3 estão apresentados os tempos letais medianos ( $TL_{50}$ ). Silva & Diehl-Fleig (1988) testaram diferentes isolados de *B. bassiana* e *M. anisopliae* para o controle de soldados e cortadeiras de *A. sexdens piriventris*. Através de bioensaios em laboratório e testes em campo, comprovaram a patogenicidade dos fungos ao inseto, obtendo  $TL_{50}$  de 2,00 e 3,00 dias para os dois isolados de *M. anisopliae* testados. Os resultados obtidos em campo, segundo os autores, indicam que existem reais possibilidades de empregar estes fungos para o controle do inseto.

De acordo com a análise de Probit, não ocorreu diferença significativa entre as concentrações para a maioria dos isolados testados. De modo geral, os menores valores de tempos letais medianos foram obtidos com as concentrações contendo as maiores quantidades de conídios. Em alguns casos, os isolados não se adequaram ao modelo de Probit, por ter ocorrido um  $\chi^2$  significativo e elevada heterogeneidade dos dados (Tabelas 2 e 3).

Os isolados IBCB 348 e IBCB 410 foram os mais virulentos para operárias de *A. sexdens rubropilosa*, com TL<sub>50</sub> de 1,28 e 1,29 dias, respectivamente, para a concentração 1,0 x 10<sup>10</sup> conídios/mL (Tabela 3). Com relação aos soldados, o isolado mais virulento foi IBCB 410, com valores de TL<sub>50</sub> variando entre 1,87 e 2,99 dias, seguido por IBCB 425 (2,15 a 2,75 dias) (Tabela 2).

Os isolados testados foram mais virulentos para operárias do que para os soldados. Estes resultados concordam com os obtidos por Alves & Sosa-Gomes (1983), que também comprovaram maior suscetibilidade de operárias em relação aos soldados de *A. sexdens rubropilosa* a isolados de *B. bassiana* e *M. anisopliae*. No entanto, verificaram tempos letais medianos mais elevados (2,8 e 4,05 dias, para cortadeiras e soldados, respectivamente), utilizando o fungo *M. anisopliae*.

As operárias desempenham um papel fundamental na manutenção da esponja fúngica, contribuindo para assegurar o desenvolvimento do fungo simbiote e garantindo assim, que o ninho mantenha-se saudável (Bass & Cherret 1994). Desta forma, esta casta pode ser considerada um alvo potencial para o controle de ninhos.

Jaccoud et al. (1999) investigaram os efeitos de *M. anisopliae*, aplicando esporos do fungo em arenas de forrageamento de mini-ninhos de *A. sexdens rubropilosa*. Todos os ninhos tratados sofreram aumento na mortalidade de formigas durante os primeiros dez dias após a aplicação. Além disso, foi verificada diminuição da atividade de forrageamento, bem como efeito sobre a saúde do jardim de fungo. A mortalidade das formigas foi particularmente

elevada para a casta de operárias médias, as quais desempenharam um grande papel na tentativa de limpar os esporos. Portanto, por ser um grupo mais exposto, conseqüentemente espera-se que esta casta sofra os mais elevados índices de mortalidade.

Tabela II. Tempos letais medianos (TL<sub>50</sub>) em dias, intervalos de confiança (IC) (P < 0,05), equações de regressão linear e valores de  $\chi^2$  obtidos pela análise de Probit para a atividade patogênica de *M. anisopliae* sobre soldados de *Atta sexdens rubropilosa*.

| Isolado/Concentração   | TL <sub>50</sub><br>(em dias) | Intervalo de<br>Confiança (IC) | Equação             | $\chi^2$ |
|------------------------|-------------------------------|--------------------------------|---------------------|----------|
| CG 423                 |                               |                                |                     |          |
| 1,0 x 10 <sup>10</sup> | 7,24                          | (5,56; 9,43)                   | Y= 1,92 + 3,57.logx | 93,79*   |
| 1,0 x 10 <sup>9</sup>  | 5,98                          | (4,65; 7,68)                   | Y= 2,36 + 3,39.logx | 63,10*   |
| 1,0 x 10 <sup>8</sup>  | 6,42                          | (5,51; 7,49)                   | Y= 2,01 + 3,69.logx | 27,24*   |
| 1,0 x 10 <sup>7</sup>  | 4,25                          | (3,42; 5,28)                   | Y= 3,63 + 2,17.logx | 13,18    |
| IBCB 348               |                               |                                |                     |          |
| 1,0 x 10 <sup>10</sup> | 2,28                          | (1,75; 2,96)                   | Y= 3,71 + 3,57.logx | 9,63*    |
| 1,0 x 10 <sup>9</sup>  | 2,97                          | (2,53; 3,48)                   | Y= 3,35 + 3,47.logx | 8,50     |
| 1,0 x 10 <sup>8</sup>  | 2,48                          | (2,11; 2,92)                   | Y= 3,70 + 3,28.logx | 6,92     |
| 1,0 x 10 <sup>7</sup>  | 2,71                          | (2,16; 3,41)                   | Y= 3,69 + 3,00.logx | 16,75*   |
| IBCB 410               |                               |                                |                     |          |
| 1,0 x 10 <sup>10</sup> | 1,87                          | (1,33; 2,62)                   | Y= 4,12 + 3,20.logx | 11,11*   |
| 1,0 x 10 <sup>9</sup>  | 2,30                          | (2,05; 2,59)                   | Y= 3,89 + 3,03.logx | 2,92     |
| 1,0 x 10 <sup>8</sup>  | 2,08                          | (1,68; 2,56)                   | Y= 4,01 + 3,07.logx | 6,66     |
| 1,0 x 10 <sup>7</sup>  | 2,99                          | (2,45; 3,63)                   | Y= 3,67 + 2,78.logx | 12,38    |
| IBCB 425               |                               |                                |                     |          |
| 1,0 x 10 <sup>10</sup> | 2,15                          | (1,61; 2,88)                   | Y= 3,77 + 3,66.logx | 11,74*   |
| 1,0 x 10 <sup>9</sup>  | 2,39                          | (1,93; 2,96)                   | Y= 3,56 + 3,79.logx | 7,31     |
| 1,0 x 10 <sup>8</sup>  | 2,75                          | (1,99; 3,80)                   | Y= 3,74 + 2,85.logx | 25,27*   |
| 1,0 x 10 <sup>7</sup>  | 2,29                          | (1,90; 2,75)                   | Y= 3,86 + 3,14.logx | 5,83     |
| UFGD 03                |                               |                                |                     |          |
| 1,0 x 10 <sup>10</sup> | 5,59                          | (4,58; 6,82)                   | Y= 2,26 + 3,66.logx | 51,90*   |
| 1,0 x 10 <sup>9</sup>  | 5,29                          | (4,28; 6,53)                   | Y= 2,53 + 3,41.logx | 17,79*   |
| 1,0 x 10 <sup>8</sup>  | 6,01                          | (4,62; 7,81)                   | Y= 2,34 + 3,40.logx | 38,09*   |
| 1,0 x 10 <sup>7</sup>  | 6,55                          | (5,51; 7,79)                   | Y= 1,88 + 3,81.logx | 45,02*   |

\*  $\chi^2$  significativo (P < 0,05)  
n = 50

Tabela III. Tempos letais medianos (TL<sub>50</sub>) em dias, intervalos de confiança (IC) (P < 0,05), equações de regressão linear e valores de  $\chi^2$  obtidos pela análise de Probit para a atividade patogênica de *M. anisopliae* sobre operárias de *Atta sexdens rubropilosa*.

| Isolado/Concentração   | TL <sub>50</sub><br>(em dias) | Intervalo de<br>Confiança (IC) | Equação             | $\chi^2$ |
|------------------------|-------------------------------|--------------------------------|---------------------|----------|
| CG 423                 |                               |                                |                     |          |
| 1,0 x 10 <sup>10</sup> | 2,27                          | (1,88; 2,75)                   | Y= 3,91 + 3,02.logx | 2,21     |
| 1,0 x 10 <sup>9</sup>  | 2,44                          | (1,92; 3,10)                   | Y= 3,54 + 3,75.logx | 9,22     |
| 1,0 x 10 <sup>8</sup>  | 3,31                          | (3,00; 3,66)                   | Y= 3,16 + 3,52.logx | 5,83     |
| 1,0 x 10 <sup>7</sup>  | 2,97                          | (2,59; 3,41)                   | Y= 3,10 + 3,99.logx | 3,84     |
| IBCB 348               |                               |                                |                     |          |
| 1,0 x 10 <sup>10</sup> | 1,28                          | (0,77; 2,11)                   | Y= 4,66 + 3,10.logx | 2,80     |
| 1,0 x 10 <sup>9</sup>  | 1,62                          | (1,07; 2,44)                   | Y= 4,30 + 3,28.logx | 8,17*    |
| 1,0 x 10 <sup>8</sup>  | 2,16                          | (1,33; 3,50)                   | Y= 4,02 + 2,90.logx | 13,01*   |
| 1,0 x 10 <sup>7</sup>  | 2,08                          | (1,68; 2,58)                   | Y= 3,79 + 3,76.logx | 6,44     |
| IBCB 410               |                               |                                |                     |          |
| 1,0 x 10 <sup>10</sup> | 1,29                          | (0,84; 2,01)                   | Y= 4,63 + 3,22.logx | 2,33     |
| 1,0 x 10 <sup>9</sup>  | 1,74                          | (0,89; 3,39)                   | Y= 4,25 + 3,07.logx | 7,66*    |
| 1,0 x 10 <sup>8</sup>  | 1,59                          | (1,16; 2,17)                   | Y= 4,19 + 3,98.logx | 2,32     |
| 1,0 x 10 <sup>7</sup>  | 2,03                          | (1,56; 2,64)                   | Y= 3,85 + 3,72.logx | 5,29     |
| IBCB 425               |                               |                                |                     |          |
| 1,0 x 10 <sup>10</sup> | 1,77                          | (1,15; 2,70)                   | Y= 4,30 + 2,78.logx | 12,89*   |
| 1,0 x 10 <sup>9</sup>  | 2,58                          | (1,96; 3,39)                   | Y= 3,78 + 2,94.logx | 13,53*   |
| 1,0 x 10 <sup>8</sup>  | 2,49                          | (2,14; 2,89)                   | Y= 3,65 + 3,38.logx | 1,75     |
| 1,0 x 10 <sup>7</sup>  | 2,78                          | (2,43; 3,17)                   | Y= 3,23 + 3,97.logx | 1,79     |
| UFGD 03                |                               |                                |                     |          |
| 1,0 x 10 <sup>10</sup> | 4,08                          | (3,63; 4,60)                   | Y= 2,55 + 4,00.logx | 15,71    |
| 1,0 x 10 <sup>9</sup>  | 3,46                          | (3,04; 3,95)                   | Y= 3,00 + 3,68.logx | 7,29     |
| 1,0 x 10 <sup>8</sup>  | 3,62                          | (3,22; 4,08)                   | Y= 3,12 + 3,34.logx | 11,18    |
| 1,0 x 10 <sup>7</sup>  | 3,77                          | (3,56; 3,99)                   | Y= 2,85 + 3,71.logx | 1,84     |

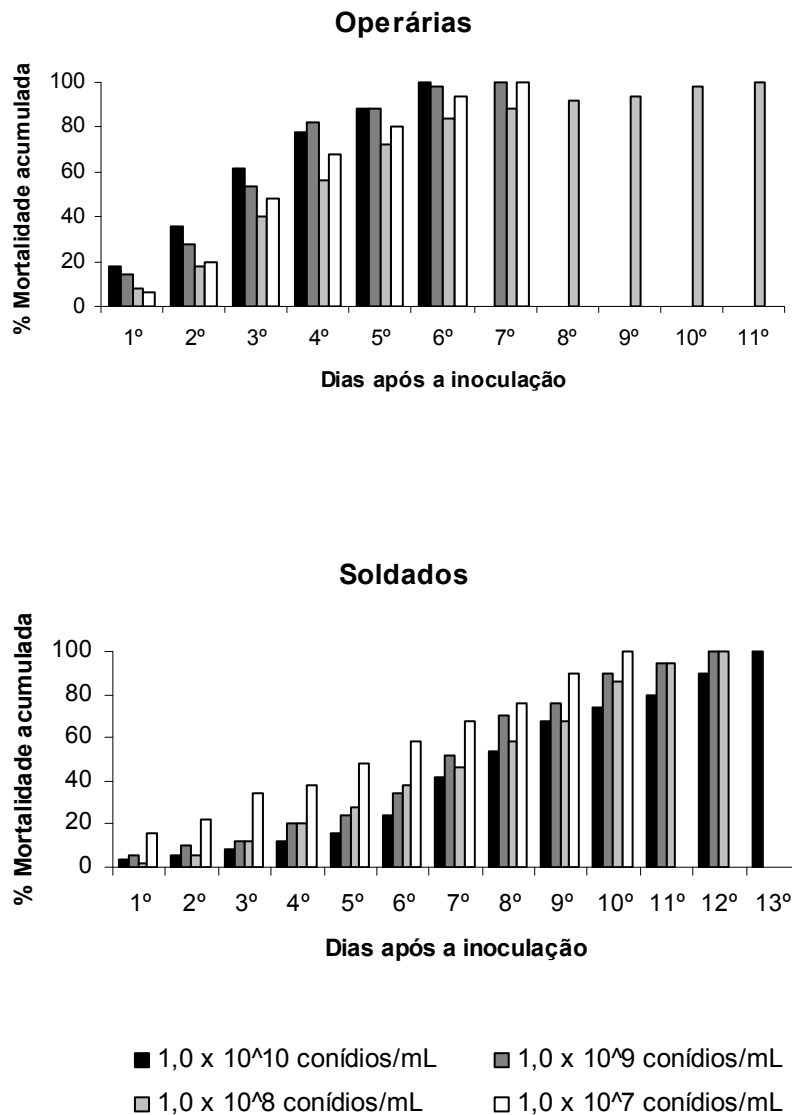
\*  $\chi^2$  significativo (P < 0,05)

n = 50

Para os isolados IBCB 348 e IBCB 410, ocorreu 100% de mortalidade acumulada de operárias e soldados, cinco e sete dias após a inoculação, respectivamente, utilizando-se a concentração de 1,0 x 10<sup>10</sup> conídios/mL (Figuras 2 e 3). A rapidez com que o patógeno mata seu hospedeiro é uma característica desejável para o controle de muitas pragas, porém não deve ser considerada como única. O isolado deve ser capaz de proporcionar elevada mortalidade final (Tamai 2002). Para insetos sociais como as formigas, o efeito rápido do inseticida não é uma característica desejável, pois estes insetos apresentam comportamento de



proteção à colônia que envolve o isolamento dos indivíduos doentes do restante da colônia, impedindo a transmissão e/ou disseminação do fungo entre os indivíduos sadios.

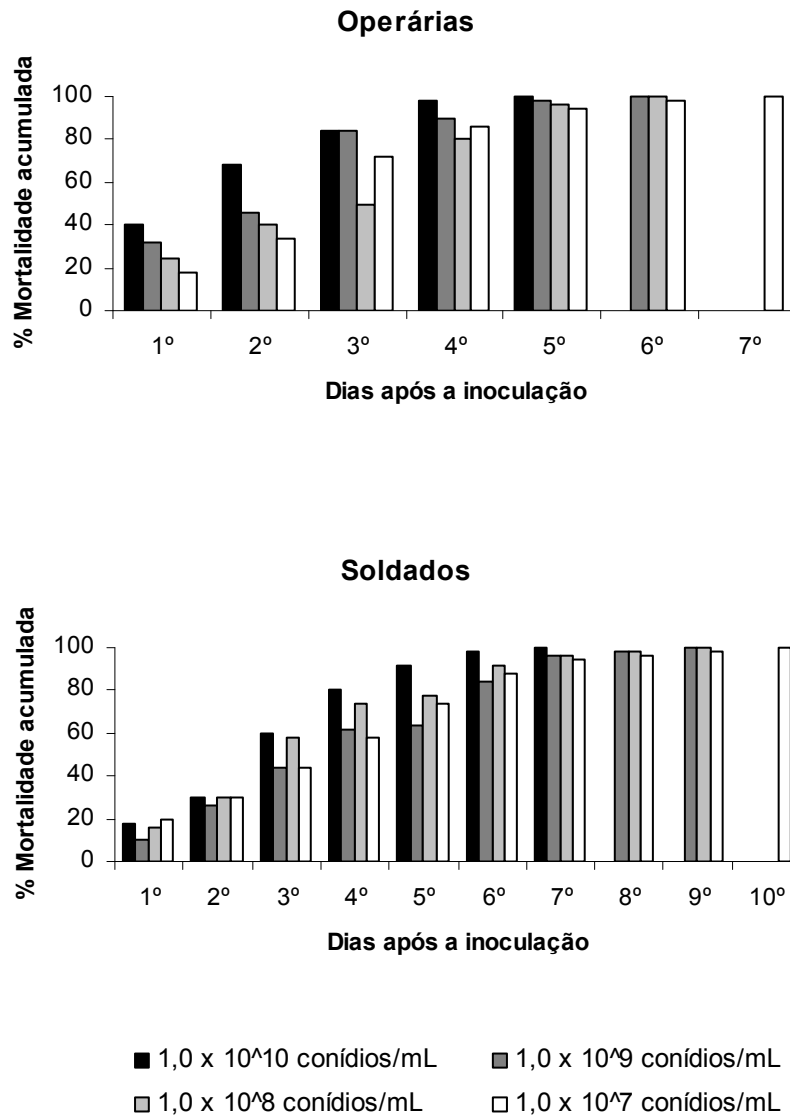


**Figura 1** - Mortalidade acumulada (%) de operárias e soldados de *A. sexdens rubropilosa* após a inoculação com *M. anisopliae* isolado CG 423 ( $25 \pm 1^\circ\text{C}$ ;  $70 \pm 10\%$  UR; fotofase de 12 horas).

Para o isolado CG 423, aplicando-se a menor concentração de conídios em soldados ( $1,0 \times 10^7$  conídios/mL), ocorreu a maior taxa de mortalidade, sendo que ao décimo dia após a inoculação foi obtido 100% de mortalidade acumulada, enquanto que para a maior

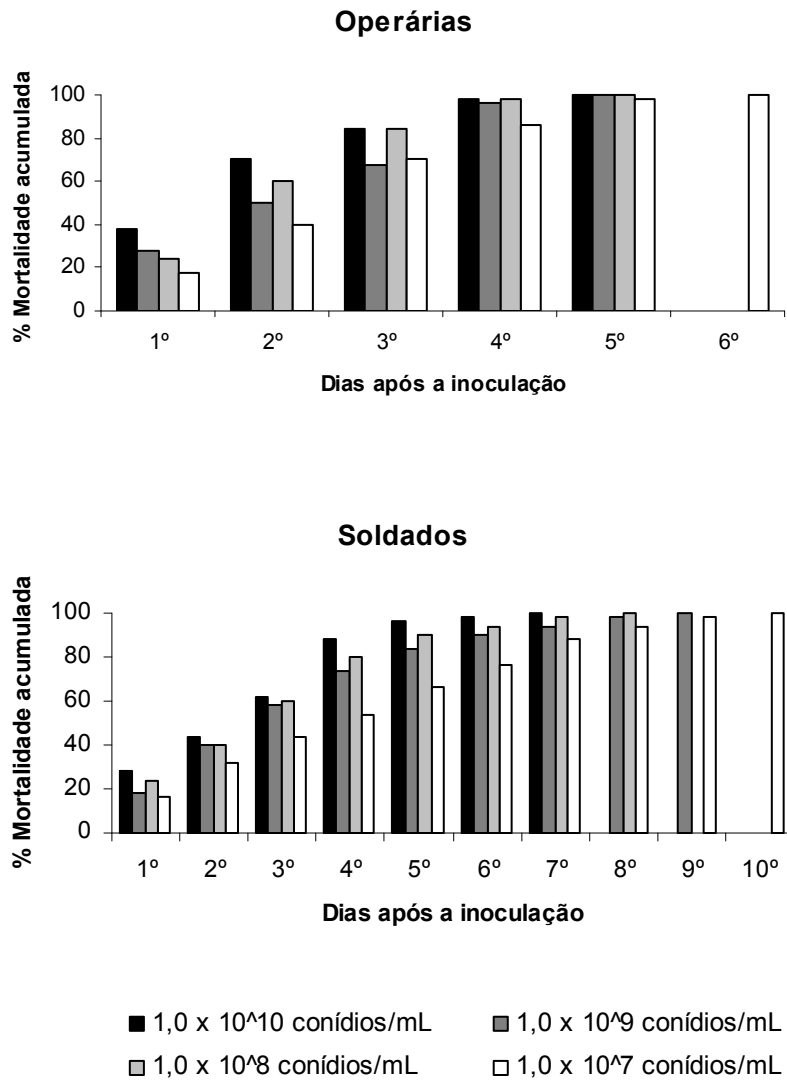
concentração ( $1,0 \times 10^{10}$  conídios/mL), a mortalidade total dos soldados foi obtida ao décimo terceiro dia (Figura 1). Isto indica uma característica interessante, uma vez que se torna mais interessante utilizar uma menor quantidade de propágulos para que ocorra o desenvolvimento da doença. Por outro lado, quando se utiliza um elevado potencial de inóculo, os resultados podem ser inesperados, pois um grande número de conídios de fungo sobre o tegumento do inseto pode ter influência negativa na germinação dos mesmos ou ainda, favorecer a penetração de bactérias contaminantes, gerando septicemia e resultando na morte rápida do inseto (Alves & Lecuona 1998).

Busarello et al. (2007) testaram a eficiência dos isolados IBCB 425 e UFGD 03 de *M. anisopliae* para o controle de soldados de *Atta laevigatta*, utilizando suspensões contendo  $1,0 \times 10^7$ ,  $1,0 \times 10^8$  e  $1,0 \times 10^9$  conídios/mL. Os valores de  $TL_{50}$  variaram entre 1,77 e 3,45 para IBCB 425, e entre 2,33 e 3,14 dias para UFGD 03, sendo que o isolado IBCB 425 foi o mais virulento, na concentração de  $1,0 \times 10^9$  conídios/mL, apresentando  $TL_{50}$  de 1,77 dias. O mesmo isolado (IBCB 425) também demonstrou maior capacidade de esporulação nos cadáveres das formigas, apresentando 100% de mortalidade confirmada. No presente trabalho, testando-se os mesmos isolados sobre soldados, obteve-se valores maiores de  $TL_{50}$  para a mesma concentração, 2,29 dias e 6,55 dias, para os isolados IBCB 425 e UFGD 03, respectivamente (Tabela 2), o que pode indicar que soldados de *A. sexdens rubropilosa* são mais resistentes a estes isolados do que *A. laevigatta*. Ainda, neste trabalho, também foram obtidas altas porcentagens de mortalidade confirmada em soldados de *A. sexdens rubropilosa* utilizando-se o isolado IBCB 425 (92 a 98%) (Tabela 4). Para o isolado UFGD 03 foi obtido 100% de mortalidade acumulada de soldados e operárias, nove dias após a inoculação, utilizando a concentração  $1,0 \times 10^9$  conídios/mL (Figura 5). Em relação ao isolado IBCB 425, obteve-se 100% de mortalidade acumulada, sete e oito dias após a inoculação, para soldados e operárias, respectivamente, utilizando-se a mesma concentração (Figura 4).



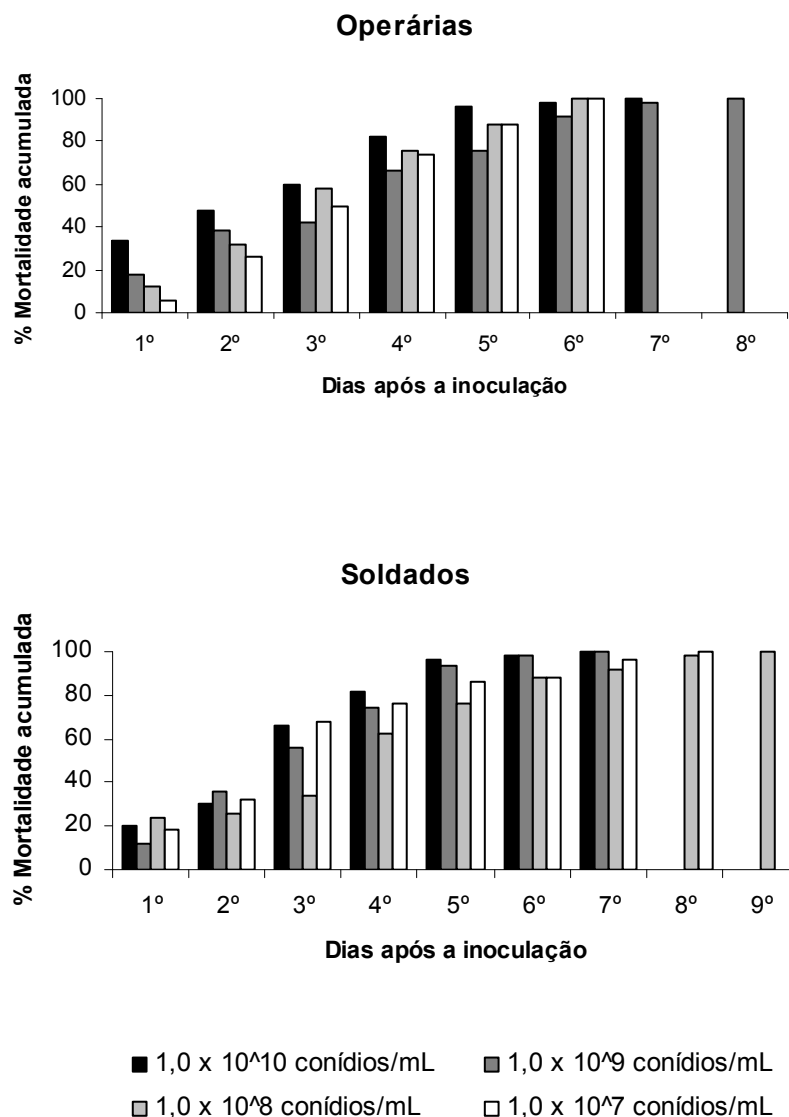
**Figura 2** - Mortalidade acumulada (%) de operárias e soldados de *A. sexdens rubropilosa* após a inoculação com *M. anisopliae* isolado IBCB 348 ( $25 \pm 1^\circ\text{C}$ ;  $70 \pm 10\%$  UR; fotofase de 12 horas).

A variação na patogenicidade entre os isolados pode estar relacionada à fatores como a baixa virulência do isolado, especificidade, tolerância do hospedeiro, entre outros (Alves 1998). Segundo Paccola-Meirrelles & Azevedo (1990) esta variabilidade é resultado das diferenças na produção de enzimas (amilase, protease, lípase) e toxinas, na velocidade de germinação dos conídios, na atividade mecânica de penetração na cutícula e na capacidade de colonização dos isolados.



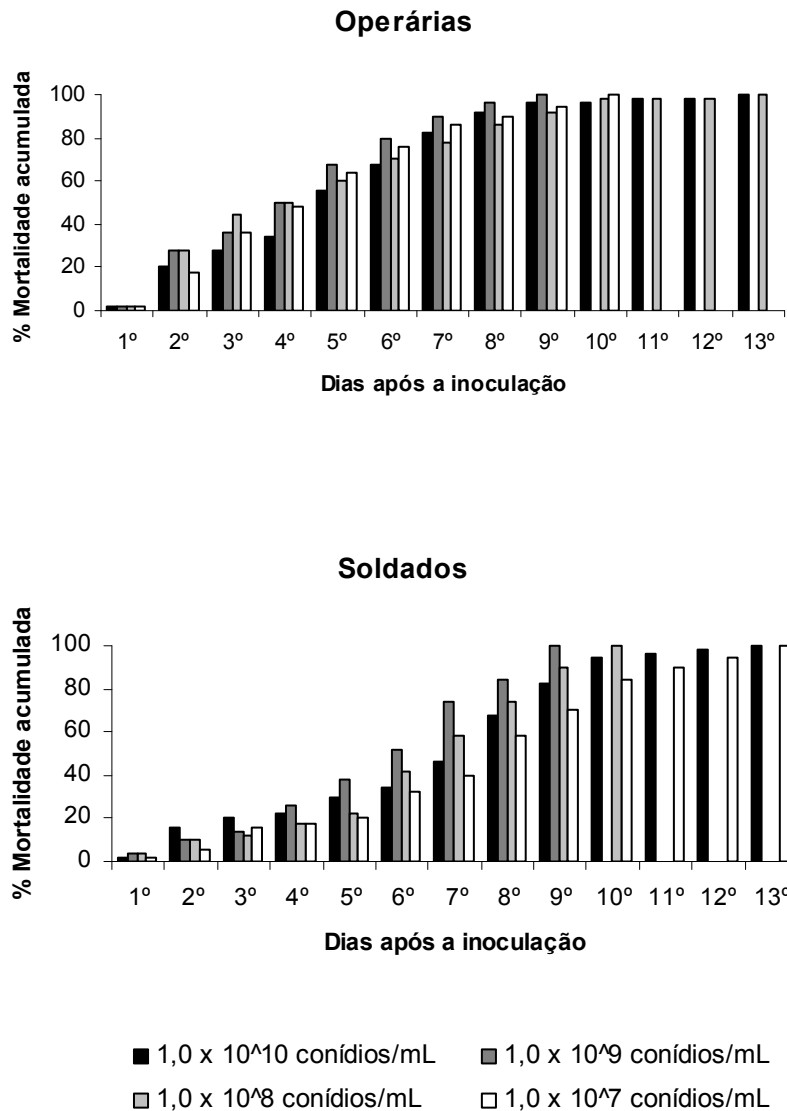
**Figura 3** - Mortalidade acumulada (%) de operárias e soldados de *A. sexdens rubropilosa* após a inoculação com *M. anisopliae* isolado ICB 410 ( $25 \pm 1^\circ\text{C}$ ;  $70 \pm 10\%$  UR; fotofase de 12 horas).

A mortalidade confirmada, representada pelo número de cadáveres nos quais se observou a esporulação do fungo, variou entre 46 e 98% para operárias e 52 e 98% para soldados, não ocorrendo diferença significativa entre os valores de esporulação para operárias e soldados (Tabela 4). Também não houve diferença significativa entre as concentrações testadas com relação à mortalidade confirmada, exceto para o isolado UFGD 03, na concentração  $1,0 \times 10^7$  conídios/mL (Tabela 4).



**Figura 4** - Mortalidade acumulada (%) de operárias e soldados de *A. sexdens rubropilosa* após a inoculação com *M. anisopliae* isolado IBCB 425 ( $25 \pm 1^\circ\text{C}$ ;  $70 \pm 10\%$  UR; fotofase de 12 horas).

O isolado IBCB 425 causou a maior porcentagem de mortalidade confirmada, variando entre 92 e 98% para soldados e 96 e 98% para operárias, seguido do isolado UFGD 03, variando entre 64 e 90% para soldados e 86 e 90% para operárias, ambos diferindo significativamente dos demais.



**Figura 5** - Mortalidade acumulada (%) de operárias e soldados de *A. sexdens rubropilosa* após a inoculação com *M. anisopliae* isolado UFGD 03 ( $25 \pm 1^\circ\text{C}$ ;  $70 \pm 10\%$  UR; fotofase de 12 horas).

A baixa porcentagem de mortalidade confirmada apresentada por alguns isolados pode estar relacionada a alguns fatores, não descartando totalmente a possibilidade dos insetos terem sido mortos pelo fungo. Em alguns casos, o álcool utilizado na desinfestação externa pode ter inviabilizado o fungo após sua entrada no interior do cadáver por eventuais fissuras no tegumento, provocadas durante o manuseio dos mesmos (Tamai 2002). A contaminação externa dos insetos também pode ser maior quando são manipulados durante a instalação dos

bioensaios. Ainda, a penetração dos fungos, principalmente quando utilizados em concentrações elevadas, pode causar o aparecimento de “orifícios” no tegumento dos insetos, os quais ficam, assim, sujeitos ao ataque de outros microrganismos. Desta forma, devido ao fato de bactérias crescerem muito mais rapidamente que fungos, elas acabam por colonizar o corpo do hospedeiro, causando septicemia, caracterizada pelo aspecto e odor, e impedindo o crescimento do patógeno primário, ou seja, o entomopatógeno com capacidade de penetração e interferindo nos resultados de confirmação da morte do inseto pelo fungo (Alves & Pereira 1998).

Nos tratamentos testemunha, nos quais foi aplicado apenas água destilada ou água destilada + espalhante adesivo, não ocorreu esporulação do fungo sobre os cadáveres, o que indica que a mortalidade ocorrida nesse grupo não foi resultado da infecção pelo fungo *M. anisopliae* (Tabela 4).

A mortalidade confirmada elevada é uma característica importante, pois a capacidade de produzir propágulos do patógeno pode levar ao desencadeamento de epizootias em campo, através da disseminação dos mesmos no ambiente e contaminação de indivíduos sadios (Alves & Lecuona 1998). Além disso, a mortalidade confirmada pode ser escolhida como parâmetro para se estudar o comportamento da melhor concentração, pois os fungos, como agentes de controle biológico, diferem fundamentalmente dos produtos químicos, pela capacidade de aumento da densidade do patógeno por meio da dispersão do inoculo secundário, repetindo o ciclo através da população hospedeira (Hajek & St. Legar 1994).

Tabela IV. Mortalidade confirmada (%) ( $\pm$  EP) de operárias e soldados de *A. sexdens rubropilosa* após inoculação com *M. anisopliae* ( $25 \pm 1^\circ\text{C}$ ;  $70 \pm 10\%$  UR; fotofase de 12 horas), Dourados - MS, 2007.

| Tratamentos |              | <i>Metarhizium anisopliae</i> |                     |        |
|-------------|--------------|-------------------------------|---------------------|--------|
| Isolado     | Concentração | Soldados                      | Operárias           | CV (%) |
| Testemunha  | Sem Tween    | 0,00 $\pm$ 0,00 dA            | 0,00 $\pm$ 0,00 cA  | 0,00   |
| Testemunha  | Com Tween    | 0,00 $\pm$ 0,00 dA            | 0,00 $\pm$ 0,00 cA  | 0,00   |
| CG 423      | $10^7$       | 54,00 $\pm$ 5,09 cA           | 54,00 $\pm$ 8,12 bA | 31,23  |
|             | $10^8$       | 52,00 $\pm$ 7,34 cA           | 50,00 $\pm$ 3,16 bA | 27,32  |
|             | $10^9$       | 62,00 $\pm$ 3,74 cA           | 58,00 $\pm$ 3,74 bA | 16,29  |
|             | $10^{10}$    | 70,00 $\pm$ 5,47 cA           | 64,00 $\pm$ 5,09 bA | 21,45  |
| IBCB 348    | $10^7$       | 58,00 $\pm$ 5,83 cA           | 50,00 $\pm$ 4,47 bA | 24,17  |
|             | $10^8$       | 52,00 $\pm$ 6,63 cA           | 48,00 $\pm$ 3,74 bA | 26,62  |
|             | $10^9$       | 52,00 $\pm$ 3,74 cA           | 52,00 $\pm$ 3,74 bA | 17,76  |
|             | $10^{10}$    | 58,00 $\pm$ 3,74 cA           | 52,00 $\pm$ 3,74 bA | 17,28  |
| IBCB 410    | $10^7$       | 58,00 $\pm$ 5,83 cA           | 56,00 $\pm$ 5,09 bA | 24,30  |
|             | $10^8$       | 54,00 $\pm$ 6,78 cA           | 46,00 $\pm$ 5,09 bA | 29,18  |
|             | $10^9$       | 60,00 $\pm$ 3,16 cA           | 56,00 $\pm$ 5,09 bA | 18,63  |
|             | $10^{10}$    | 68,00 $\pm$ 5,83 cA           | 62,00 $\pm$ 3,74 bA | 20,41  |
| IBCB 425    | $10^7$       | 98,00 $\pm$ 2,00 aA           | 96,00 $\pm$ 2,44 aA | 15,71  |
|             | $10^8$       | 96,00 $\pm$ 2,44 aA           | 98,00 $\pm$ 2,00 aA | 15,71  |
|             | $10^9$       | 92,00 $\pm$ 3,74 aA           | 98,00 $\pm$ 2,00 aA | 18,34  |
|             | $10^{10}$    | 92,00 $\pm$ 2,00 aA           | 96,00 $\pm$ 2,44 aA | 17,34  |
| UFGD 03     | $10^7$       | 64,00 $\pm$ 5,09 cB           | 96,00 $\pm$ 4,00 aA | 21,52  |
|             | $10^8$       | 80,00 $\pm$ 4,47 bA           | 90,00 $\pm$ 7,74 aA | 28,29  |
|             | $10^9$       | 84,00 $\pm$ 6,78 bA           | 86,00 $\pm$ 8,71 aA | 35,77  |
|             | $10^{10}$    | 90,00 $\pm$ 5,47 aA           | 92,00 $\pm$ 3,74 aA | 25,47  |
| CV (%)      |              | 24,57                         | 25,74               |        |

Valores seguidos pela mesma letra minúscula na coluna e maiúscula na linha, não diferem significativamente entre si, pelo teste de Scott-Knott ao nível de 5% de probabilidade. Para análise dados transformados para  $\arcsen(x/100)^{1/2}$ .

Para o controle de insetos sociais, é muito importante considerar o tempo letal e a capacidade de esporulação do isolado sobre os cadáveres. Assim, quanto menor o tempo letal associado a uma rápida esporulação, maiores chances o fungo terá de atingir um elevado potencial de inóculo dentro dos ninhos, antes que consigam retirar todos os cadáveres (Stimac et al. 1987). Sob este aspecto, o isolado 425 obteve bons resultados, devendo ser considerado para o controle de saúvas, já que apresentou elevada porcentagem de esporulação sobre os cadáveres, estando ainda, entre os isolados com menores tempos letais.



Alguns autores têm sugerido que as secreções produzidas pelas glândulas mandibular e metapleurais são responsáveis pela assepsia das formigas e manutenção dos ninhos livre de microrganismos (Brough 1983). As saúvas produzem mirmecacina através da glândula metatorácica, sendo que um de seus componentes, o ácido  $\beta$ -hidróxido decanóico, possui ação fungicida, que pode atuar contra os principais fungos entomopatogênicos (Alves & Lecuona 1998). Porém, estudo realizado por Diehl & Junqueira (2001) demonstraram que a secreção metapleurais de operárias de *A. sexdens piriventris* não possui atividade fungicida e/ou fungistática sobre *B. bassiana*.

Segundo Jaccoud et al. (1999), o estresse provocado pela presença do fungo é suficiente para alterar a homeostase social da colônia e matá-la. Dentro da perspectiva de controle, esta característica é particularmente interessante, sugerindo que não é necessário matar diretamente todas as formigas com o agente de controle.

Segundo Alves & Lecuona (1998), para cada praga é possível selecionar um entomopatógeno eficiente para seu controle. É necessário, porém, ter em mente que o emprego dos entomopatógenos difere dos inseticidas químicos normalmente utilizados. Enquanto os métodos químicos conseguem redução rápida e temporária dos prejuízos econômicos, os produtos microbianos conseguem mais lentamente resultados semelhantes e mais duradouros.

Para que seja possível a obtenção de novos isolados de fungos promissores no combate a *A. sexdens rubropilosa* é preciso dar continuidade a programas de seleção, efetuando-se novos testes, com um maior número de isolados. Neste trabalho foram utilizados isolados nunca antes testados para o controle de formigas cortadeiras e os resultados obtidos indicam o potencial dos mesmos como agentes de controle.

## CONCLUSÃO

Todos os isolados de *M. anisopliae* testados foram patogênicos a *A. sexdens rubropilosa*, sendo mais virulentos para operárias do que para soldados.

Os isolados IBCB 348 e IBCB 410 foram os mais eficientes na mortalidade de operárias. Para os soldados, os isolados mais virulentos foram IBCB 410 e IBCB 425.

IBCB 425 e UFGD 03 causaram altas porcentagens de mortalidade confirmada.

Os isolados testados apresentam potencial para utilização como agentes de controle de *A. sexdens rubropilosa*.

Agradecimento. Ao CNPq – Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico pela concessão de bolsa de mestrado.

## REFERÊNCIAS

- Alves, S. B. 1998. Fungos entomopatogênicos. *In*: Alves, S. B. (Ed.) **Controle microbiano de insetos**. Fealq, Piracicaba, p. 289-381.
- Alves, S. B.; Lecuona, R. E. 1998. Epizootiologia aplicada ao controle microbiano de insetos. *In*: Alves, S. B. (Ed.) **Controle microbiano de insetos**. Fealq, Piracicaba, p. 97-170.
- Alves, S. B.; Pereira, R. M. 1998. Distúrbios fisiológicos provocados por entomopatógenos. *In*: Alves, S. B. (Ed.) **Controle microbiano de insetos**. Fealq, Piracicaba, p. 39-54.
- Alves, S. B.; Sosa Gómez, D. R. 1983. Virulência de *Metarhizium anisopliae* (Metsch.) Sorokin e *Beauveria bassiana* (Balsamo) Vuill. para duas castas de *Atta sexdens rubropilosa* (Forel, 1908). **Poliagro 5**: 1-9.

- Bass, M.; Cherret, J. M. 1994. The role of leaf-cutting ant workers (Hymenoptera: Formicidae) in fungus garden maintenance. **Ecological Entomology** **19**: 215-220.
- Boaretto, M. A. C.; Forti, L. C. 1997. **Perspectivas no controle de formigas cortadeiras. Série Técnica, IPEF 11**: 31-46.
- Brough, E. J. 1983. The antimicrobial activity of the mandibular gland secretion of a formicane ant, *Calomyrmex* sp. (Hymenoptera – Formicidae). **Journal of Invertebrate Pathology** **42**: 306-311.
- Busarello, G. D.; Matsumoto, M. Y.; Loureiro, E. S.; Freitas, A. F.; Pessoa, L. G. A. 2007. Patogenicidade de *Metarhizium anisopliae* (Metsch.) Sorokin sobre *Atta laevigata* (F. Smith, 1858) (Hymenoptera: Formicidae) em condições de laboratório. **X Siconbiol – Simpósio de Controle Biológico**, Brasília – Distrito Federal.
- Diehl E.; Junqueira, L. K. 2001. Seasonal variations of metapleural secretion in the leaf-cutting ant *Atta sexdens piriventris* Santschi (Myrmicinae: Attini), and lack of fungicide effect on *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuillemin. **Neotropical Entomology** **30**: 517-522.
- Diehl-Fleig, E.; Silva, M. E. 1986. Patogenicidade de *Beauveria bassiana* e *Metarhizium anisopliae* à formiga saúva *Atta sexdens piriventris*. **Boletim do Grupo de Pesquisadores de Controle Biológico**, **6**, 15.
- Diehl-Fleig, E.; Silva, M. E.; Pacheco, M. R. M. 1988. Testes de patogenicidade dos fungos entomopatogênicos *Beauveria bassiana* e *Metarhizium anisopliae* em *Atta sexdens periventris* (Santschi, 1919) em diferentes temperaturas. **Ciência e Cultura** **40**: 1103-1105.
- Diehl-Fleig, E.; Silva, M. E.; Valim-Labres, M. E.; Specht, A. 1992. Ocorrência natural de *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuill. no Rio Grande do Sul. **Acta Biologica Leopoldensia** **14**: 99-104.

- Diehl-Fleig, E.; Silva, M. E.; Specht, A.; Valim-Labres, M.E. 1993. Efficiency of *Beauveria bassiana* for *Acromyrmex* spp. Control (Hymenoptera: Formicidae). **Anais da Sociedade Entomológica do Brasil 22**: 281-285.
- Ferreira, D. F. 2000. Análises estatísticas por meio do Sisvar para Windows versão 4.0. *In*: **45<sup>a</sup> Reunião Anual da Região Brasileira da Sociedade internacional de Biometria**. UFSCar, São Carlos, SP, p. 255-258.
- Hajek, A. E.; St. Leger, R. J. 1994. Interactions between fungal pathogens and insect hosts. **Annual Review of Entomology 39**: 293-322.
- Hernández, J. V.; Jaffé, K. 1995. Dano econômico causado por populações de formigas *Atta laevigata* (F. Smith) em plantações de *Pinus caribaea* Mor. e elementos para o manejo da praga. **Anais da Sociedade Entomológica do Brasil 24**: 287-298.
- Hölldobler, B.; Wilson, E. O. 1990. **The Ants**. Harvard University Press, Cambridge, Mass., 732p.
- Jaccoud, D. B.; Hughes, W. O. H.; Jackson, C.W. 1999. The epizootiology of a *Metarhizium* infection in mini-nests of the leaf-cutting ant *Atta sexdens rubropilosa*. **Entomologia Experimentalis et Applicata 93**: 51-61.
- Leite, L. G.; Batista Filho, A.; Almeida, J. E. M.; Alves, S. B. 2003. **Produção de fungos entomopatogênicos**. Ribeirão Preto, A.S. Pinto, 92p.
- Loureiro, E. S.; Monteiro, A. C. 2004. Seleção de isolados de *Beauveria bassiana*, *Metarhizium anisopliae* e *Paecilomyces farinosus*, patogênicos para operárias de *Atta sexdens sexdens* (Linnaeus, 1758) (Hymenoptera: Formicidae). **Arquivos do Instituto Biológico 71**: 35-40.
- Loureiro, E. S.; Monteiro, A. C. 2005. Patogenicidade de isolados de três fungos entomopatogênicos a soldados de *Atta sexdens* (Linnaeus, 1758) (Hymenoptera: Formicidae). **Revista Árvore 29**: 553-561.

- Mariconi, F. A. M. 1970. **As saúvas**. São Paulo, Agronômica Ceres, 167p.
- Marinho, C. G. S.; Della Lucia, T. M. C.; Picanço, M. C. 2006. Fatores que dificultam o controle das formigas cortadeiras. **Bahia Agrícola** 7: 18-21.
- Paccola-Meirelles, L. D.; Azevedo, J. L. 1990. Variabilidade natural do fungo entomopatogênico *Beauveria bassiana*. **Brazilian Archives of Biology and Technology** 33: 657-672.
- Silva, M. E.; Diehl-Fleig, E. 1988. Avaliação de diferentes linhagens de fungos entomopatogênicos para controle da formiga *Atta sexdens piriventris* (Santschi, 1919) (Hymenoptera: formicidae). **Anais da Sociedade Entomológica do Brasil** 17: 263-269.
- Specht, A.; Diehl-Fleig, E.; Silva, M. E. 1994. Atratividade de iscas de *B. bassiana* (Bals) Vuill. a formiga do Gênero *Acromyrmex* (Hymenoptera: Formicidae). **Anais da Sociedade Entomológica do Brasil** 23: 99-104.
- 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** 16: 377-387.
- Tamai, M. A.; Alves, S. B.; Almeida, J. E. M.; Faion, M. 2002. Avaliação de fungos entomopatogênicos para o controle de *Tetranychus urticae* Koch (Acari: Tetranychidae). **Arquivos do Instituto Biológico** 69: 77-84.
- Wilcken, C. F.; Berti Filho, E. 1994. Controle biológico de formigas cortadeiras. **Anais do III Curso de Atualização no Controle de Formigas Cortadeiras**. PCMIP/IPEF, p. 1-5.

## **ANEXOS**

## ANEXO A

### INSTRUÇÕES AOS AUTORES – PESQUISA AGROPECUÁRIA BRASILEIRA

#### **Escopo e política editorial**

A revista **Pesquisa Agropecuária Brasileira** (PAB) é uma publicação mensal da Embrapa, que edita e publica trabalhos técnico-científicos originais, em português, espanhol ou inglês, resultantes de pesquisas de interesse agropecuário. A principal forma de contribuição é o Artigo, mas a PAB também publica Notas Científicas, Novas Cultivares e Revisões a convite do Editor.

#### **Forma e preparação de manuscritos**

##### **Análise dos artigos**

A Comissão Editorial faz a análise dos trabalhos antes de submetê-los à assessoria científica. Nessa análise, consideram-se aspectos como escopo, apresentação do artigo segundo as normas da revista, formulação do objetivo de forma clara, clareza da redação, fundamentação teórica, atualização da revisão da literatura, coerência e precisão da metodologia, resultados com contribuição significativa, discussão dos fatos observados em relação aos descritos na literatura, qualidade das tabelas e figuras, originalidade e consistência das conclusões. Após a aplicação desses critérios, se o número de trabalhos aprovados ultrapassa a capacidade mensal de publicação, é aplicado o critério da relevância relativa, pelo qual são aprovados os trabalhos cuja contribuição para o avanço do conhecimento científico é considerada mais significativa. Esse critério é aplicado somente aos trabalhos que atendem aos requisitos de qualidade para publicação na revista, mas que, em razão do elevado número, não podem ser todos aprovados para publicação. Os trabalhos rejeitados são devolvidos aos autores e os demais são submetidos à análise de assessores científicos, especialistas da área técnica do artigo.

##### **Forma e preparação de manuscritos**

Os trabalhos enviados à PAB devem ser inéditos e não podem ter sido encaminhados a outro periódico científico ou técnico. Dados publicados na forma de resumos, com mais de 250 palavras, não devem ser incluídos no trabalho.

São considerados, para publicação, os seguintes tipos de trabalho: Artigos Científicos, Notas Científicas, Novas Cultivares e Artigos de Revisão, este último a convite do Editor.

Os trabalhos publicados na PAB são agrupados em áreas técnicas, cujas principais são: Entomologia, Fisiologia Vegetal, Fitopatologia, Fitotecnia, Fruticultura, Genética, Microbiologia, Nutrição Mineral, Solos e Zootecnia.

O texto deve ser digitado no editor de texto Microsoft Word, em espaço duplo, fonte Times New Roman, corpo 12, folha formato A4, com margens de 2,5 cm e com páginas e linhas numeradas.

### **Organização do Artigo Científico**

A ordenação do artigo deve ser feita da seguinte forma:

Artigos em português - Título, autoria, endereços institucionais e eletrônicos, Resumo, Termos para indexação, título em inglês, Abstract, Index terms, Introdução, Material e Métodos, Resultados e Discussão, Conclusões, Agradecimentos, Referências, tabelas e figuras.

Artigos em inglês - Título, autoria, endereços institucionais e eletrônicos, Abstract, Index terms, título em português, Resumo, Termos para indexação, Introduction, Materials and Methods, Results and Discussion, Conclusions, Acknowledgements, References, tables, figures.

Artigos em espanhol - Título, autoria, endereços institucionais e eletrônicos, Resumen, Términos para indexación; título em inglês, Abstract, Index terms, Introducción, Materiales y Métodos, Resultados y Discusión, Conclusiones, Agradecimientos, Referencias, cuadros e figuras.

O título, o resumo e os termos para indexação devem ser vertidos fielmente para o inglês, no caso de artigos redigidos em português e espanhol, e para o português, no caso de artigos redigidos em inglês.

O artigo científico deve ter, no máximo, 20 páginas, incluindo-se as ilustrações (tabelas e figuras), que devem ser limitadas a seis, sempre que possível.

### **Título**

Deve representar o conteúdo e o objetivo do trabalho e ter no máximo 15 palavras, incluindo-se os artigos, as preposições e as conjunções.

Deve ser grafado em letras minúsculas, exceto a letra inicial, e em negrito.

Deve ser iniciado com palavras chaves e não com palavras como “efeito” ou “influência”.

Não deve conter nome científico, exceto de espécies pouco conhecidas; neste caso, apresentar somente o nome binário.

Não deve conter subtítulo, abreviações, fórmulas e símbolos.

As palavras do título devem facilitar a recuperação do artigo por índices desenvolvidos por bases de dados que catalogam a literatura.



## **Nomes dos autores**

Grafar os nomes dos autores com letra inicial maiúscula, por extenso, separados por vírgula; os dois últimos são separados pela conjunção “e”, “y” ou “and”, no caso de artigo em português, espanhol ou em inglês, respectivamente.

O último sobrenome de cada autor deve ser seguido de um número em algarismo arábico, em forma de expoente, entre parênteses, correspondente à chamada de endereço do autor.

## **Endereço dos autores**

São apresentados abaixo dos nomes dos autores, o nome e o endereço postal completos da instituição e o endereço eletrônico dos autores, indicados pelo número em algarismo arábico, entre parênteses, em forma de expoente.

Devem ser agrupados pelo endereço da instituição.

Os endereços eletrônicos de autores da mesma instituição devem ser separados por vírgula.

## **Resumo**

O termo Resumo deve ser grafado em letras minúsculas, exceto a letra inicial, na margem esquerda, e separado do texto por travessão.

Deve conter, no máximo, 200 palavras, incluindo números, preposições, conjunções e artigos.

Deve ser elaborado em frases curtas e conter o objetivo, o material e os métodos, os resultados e a conclusão.

Não deve conter citações bibliográficas nem abreviaturas.

O final do texto deve conter a principal conclusão, com o verbo no presente do indicativo.

## **Termos para indexação**

A expressão Termos para indexação, seguida de dois-pontos, deve ser grafada em letras minúsculas, exceto a letra inicial.

Os termos devem ser separados por vírgula e iniciados com letra minúscula.

Devem ser no mínimo três e no máximo seis, considerando-se que um termo pode possuir duas ou mais palavras.

Não devem conter palavras que componham o título.

Devem conter o nome científico (só o nome binário) da espécie estudada.

Devem, preferencialmente, ser termos contidos no AGROVOC: Multilingual Agricultural Thesaurus ([http://www.fao.org/aims/ag\\_intro.htm](http://www.fao.org/aims/ag_intro.htm)) ou no Índice de Assuntos da base SciELO (<http://www.scielo.br>).

### **Introdução**

A palavra Introdução deve ser centralizada e grafada com letras minúsculas, exceto a letra inicial, e em negrito.

Deve ocupar, no máximo, duas páginas.

Deve apresentar a justificativa para a realização do trabalho, situar a importância do problema científico a ser solucionado e estabelecer sua relação com outros trabalhos publicados sobre o assunto.

O último parágrafo deve expressar o objetivo de forma coerente com o descrito no início do Resumo.

### **Material e Métodos**

A expressão Material e Métodos deve ser centralizada e grafada em negrito; os termos Material e Métodos devem ser grafados com letras minúsculas, exceto as letras iniciais.

Deve ser organizado, de preferência, em ordem cronológica.

Deve apresentar a descrição do local, a data e o delineamento do experimento, e indicar os tratamentos, o número de repetições e o tamanho da unidade experimental.

Deve conter a descrição detalhada dos tratamentos e variáveis.

Deve-se evitar o uso de abreviações ou as siglas.

Os materiais e os métodos devem ser descritos de modo que outro pesquisador possa repetir o experimento.

Devem ser evitados detalhes supérfluos e extensas descrições de técnicas de uso corrente.

Deve conter informação sobre os métodos estatísticos e as transformações de dados.

Deve-se evitar o uso de subtítulos; quando indispensáveis, grafá-los em negrito, com letras minúsculas, exceto a letra inicial, na margem esquerda da página.

### **Resultados e Discussão**

A expressão Resultados e Discussão deve ser centralizada e grafada em negrito, com letras minúsculas, exceto a letra inicial.

Deve ocupar quatro páginas, no máximo.

Todos os dados apresentados em tabelas ou figuras devem ser discutidos.

As tabelas e figuras são citadas seqüencialmente.

Os dados das tabelas e figuras não devem ser repetidos no texto, mas discutidos em relação aos apresentados por outros autores.

Evitar o uso de nomes de variáveis e tratamentos abreviados.

Dados não apresentados não podem ser discutidos.

Não deve conter afirmações que não possam ser sustentadas pelos dados obtidos no próprio trabalho ou por outros trabalhos citados.

As chamadas às tabelas ou às figuras devem ser feitas no final da primeira oração do texto em questão; se as demais sentenças do parágrafo referirem-se à mesma tabela ou figura, não é necessária nova chamada.

Não apresentar os mesmos dados em tabelas e em figuras.

As novas descobertas devem ser confrontadas com o conhecimento anteriormente obtido.

### **Conclusões**

O termo Conclusões deve ser centralizado e grafado em negrito, com letras minúsculas, exceto a letra inicial.

Devem ser apresentadas em frases curtas, sem comentários adicionais, com o verbo no presente do indicativo.

Devem ser elaboradas com base no objetivo do trabalho.

Não podem consistir no resumo dos resultados.

Devem apresentar as novas descobertas da pesquisa.

Devem ser numeradas e no máximo cinco.

### **Agradecimentos**

A palavra Agradecimentos deve ser centralizada e grafada em negrito, com letras minúsculas, exceto a letra inicial.

Devem ser breves e diretos, iniciando-se com “Ao, Aos, À ou Às” (pessoas ou instituições).

Devem conter o motivo do agradecimento.

## **Referências**

A palavra Referências deve ser centralizada e grafada em negrito, com letras minúsculas, exceto a letra inicial.

Devem ser de fontes atuais e de periódicos: pelo menos 70% das referências devem ser dos últimos 10 anos e 70% de artigos de periódicos.

Devem ser normalizadas de acordo com a NBR 6023 da ABNT, com as adaptações descritas a seguir.

Devem ser apresentadas em ordem alfabética dos nomes dos autores, separados por ponto-e-vírgula, sem numeração.

Devem apresentar os nomes de todos os autores da obra.

Devem conter os títulos das obras ou dos periódicos grafados em negrito.

Devem conter somente a obra consultada, no caso de citação de citação.

Todas as referências devem registrar uma data de publicação, mesmo que aproximada.

Devem ser trinta, no máximo.

### ***Exemplos:***

#### *Artigos de Anais de Eventos (aceitos apenas trabalhos completos)*

AHRENS, S. A fauna silvestre e o manejo sustentável de ecossistemas florestais. In: SIMPÓSIO LATINO-AMERICANO SOBRE MANEJO FLORESTAL, 3., 2004, Santa Maria. **Anais**. Santa Maria: UFSM, Programa de Pós-Graduação em Engenharia Florestal, 2004. p.153-162.

#### *Artigos de periódicos*

SANTOS, M.A. dos; NICOLÁS, M.F.; HUNGRIA, M. Identificação de QTL associados à simbiose entre *Bradyrhizobium japonicum*, *B. elkanii* e soja. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.41, p.67-75, 2006.

#### *Capítulos de livros*

AZEVEDO, D.M.P. de; NÓBREGA, L.B. da; LIMA, E.F.; BATISTA, F.A.S.; BELTRÃO, N.E. de M. Manejo cultural. In: AZEVEDO, D.M.P.; LIMA, E.F. (Ed.). **O agronegócio da mamona no Brasil**. Campina Grande: Embrapa Algodão; Brasília: Embrapa Informação Tecnológica, 2001. p.121-160.

### *Livros*

OTSUBO, A.A.; LORENZI, J.O. **Cultivo da mandioca na Região Centro-Sul do Brasil**. Dourados: Embrapa Agropecuária Oeste; Cruz das Almas: Embrapa Mandioca e Fruticultura, 2004. 116p. (Embrapa Agropecuária Oeste. Sistemas de produção, 6).

### *Teses*

HAMADA, E. **Desenvolvimento fenológico do trigo (cultivar IAC 24 - Tucuruí), comportamento espectral e utilização de imagens NOAA-AVHRR**. 2000. 152p. Tese (Doutorado) - Universidade Estadual de Campinas, Campinas.

### *Fontes eletrônicas*

EMBRAPA AGROPECUÁRIA OESTE. **Avaliação dos impactos econômicos, sociais e ambientais da pesquisa da Embrapa Agropecuária Oeste**: relatório do ano de 2003. Dourados: Embrapa Agropecuária Oeste, 2004. 97p. (Embrapa Agropecuária Oeste. Documentos, 66). Disponível em: <<http://www.cpa.oembrapa.br/publicacoes/ficha.php?tipo=DOC&num=66&ano=2004>>. Acesso em: 18 abr. 2006.

### **Citações**

Não são aceitas citações de resumos, comunicação pessoal, documentos no prelo ou qualquer outra fonte, cujos dados não tenham sido publicados.

A autocitação deve ser evitada.

Devem ser normalizadas de acordo com a NBR 10520 da ABNT, com as adaptações descritas a seguir.

#### ***Redação das citações dentro de parênteses***

Citação com um autor: sobrenome grafado com a primeira letra maiúscula, seguido de vírgula e ano de publicação.

Citação com dois autores: sobrenomes grafados com a primeira letra maiúscula, separados pelo "e" comercial (&), seguidos de vírgula e ano de publicação.

Citação com mais de dois autores: sobrenome do primeiro autor grafado com a primeira letra maiúscula, seguido da expressão et al., em fonte normal, vírgula e ano de publicação.

Citação de mais de uma obra: deve obedecer à ordem cronológica e em seguida à ordem alfabética dos autores.

Citação de mais de uma obra dos mesmos autores: os nomes destes não devem ser repetidos; colocar os anos de publicação separados por vírgula.

Citação de citação: sobrenome do autor e ano de publicação do documento original,

seguido da expressão “citado por” e da citação da obra consultada.

Deve ser evitada a citação de citação, pois há risco de erro de interpretação; no caso de uso de citação de citação, somente a obra consultada deve constar da lista de referências.

### ***Redação das citações fora de parênteses***

Citações com os nomes dos autores incluídos na sentença: seguem as orientações anteriores, com os anos de publicação entre parênteses; são separadas por vírgula.

### **Fórmulas, expressões e equações matemáticas**

Devem ser iniciadas à margem esquerda da página e apresentar tamanho padronizado da fonte Times New Roman.

Não devem apresentar letras em itálico ou negrito, à exceção de símbolos escritos convencionalmente em itálico.

### **Tabelas**

As tabelas devem ser numeradas seqüencialmente, com algarismo arábico, e apresentadas em folhas separadas, no final do texto, após as referências.

Devem ser auto-explicativas.

Seus elementos essenciais são: título, cabeçalho, corpo (colunas e linhas) e coluna indicadora dos tratamentos ou das variáveis.

Os elementos complementares são: notas-de-rodapé e fontes bibliográficas.

O título, com ponto no final, deve ser precedido da palavra Tabela, em negrito; deve ser claro, conciso e completo; deve incluir o nome (vulgar ou científico) da espécie e das variáveis dependentes.

No cabeçalho, os nomes das variáveis que representam o conteúdo de cada coluna devem ser grafados por extenso; se isso não for possível, explicar o significado das abreviaturas no título ou nas notas-de-rodapé.

Todas as unidades de medida devem ser apresentadas segundo o Sistema Internacional de Unidades.

Nas colunas de dados, os valores numéricos devem ser alinhados pelo último algarismo.

Nenhuma célula (cruzamento de linha com coluna) deve ficar vazia no corpo da tabela; dados não apresentados devem ser representados por hífen, com uma nota-de-rodapé explicativa.

Na comparação de médias de tratamentos são utilizadas, no corpo da tabela, na coluna ou na linha, à direita do dado, letras minúsculas ou maiúsculas, com a indicação em

nota-de-rodapé do teste utilizado e a probabilidade.

Devem ser usados fios horizontais para separar o cabeçalho do título, e do corpo; usá-los ainda na base da tabela, para separar o conteúdo dos elementos complementares. Fios horizontais adicionais podem ser usados dentro do cabeçalho e do corpo; não usar fios verticais.

As tabelas devem ser editadas em arquivo Word, usando os recursos do menu Tabela; não fazer espaçamento utilizando a barra de espaço do teclado, mas o recurso recuo do menu Formatar Parágrafo.

### ***Notas de rodapé das tabelas***

Notas de fonte: indicam a origem dos dados que constam da tabela; as fontes devem constar nas referências.

Notas de chamada: são informações de caráter específico sobre partes da tabela, para conceituar dados. São indicadas em algarismo arábico, na forma de expoente, entre parênteses, à direita da palavra ou do número, no título, no cabeçalho, no corpo ou na coluna indicadora. São apresentadas de forma contínua, sem mudança de linha, separadas por ponto.

Para indicação de significância estatística, são utilizadas, no corpo da tabela, na forma de expoente, à direita do dado, as chamadas ns (não-significativo); \* e \*\* (significativo a 5 e 1% de probabilidade, respectivamente).

### **Figuras**

São consideradas figuras: gráficos, desenhos, mapas e fotografias usados para ilustrar o texto.

Só devem acompanhar o texto quando forem absolutamente necessárias à documentação dos fatos descritos.

O título da figura, sem negrito, deve ser precedido da palavra Figura, do número em algarismo arábico, e do ponto, em negrito.

Devem ser auto-explicativas.

A legenda (chave das convenções adotadas) deve ser incluída no corpo da figura, no título, ou entre a figura e o título.

Nos gráficos, as designações das variáveis dos eixos X e Y devem ter iniciais maiúsculas, e devem ser seguidas das unidades entre parênteses.

Figuras não-originais devem conter, após o título, a fonte de onde foram extraídas; as fontes devem ser referenciadas.

O crédito para o autor de fotografias é obrigatório, como também é obrigatório o crédito

para o autor de desenhos e gráficos que tenham exigido ação criativa em sua elaboração.

As unidades, a fonte (Times New Roman) e o corpo das letras em todas as figuras devem ser padronizados.

Os pontos das curvas devem ser representados por marcadores contrastantes, como: círculo, quadrado, triângulo ou losango (cheios ou vazios).

Os números que representam as grandezas e respectivas marcas devem ficar fora do quadrante.

As curvas devem ser identificadas na própria figura, evitando o excesso de informações que comprometa o entendimento do gráfico.

Devem ser elaboradas de forma a apresentar qualidade necessária à boa reprodução gráfica e medir 8,5 ou 17,5 cm de largura.

Devem ser gravadas nos programas Word, Excel ou Corel Draw, para possibilitar a edição em possíveis correções.

Usar fios com, no mínimo, 3/4 ponto de espessura.

No caso de gráfico de barras e colunas, usar escala de cinza (exemplo: 0, 25, 50, 75 e 100%, para cinco variáveis).

Não usar negrito nas figuras.

As figuras na forma de fotografias devem ter resolução de, no mínimo, 300 dpi e ser gravadas em arquivos extensão TIF, separados do arquivo do texto.

Evitar usar cores nas figuras; as fotografias, porém, podem ser coloridas.

### **Outras informações**

Não há cobrança de taxa de publicação.

Os manuscritos aprovados para publicação são revisados por no mínimo dois especialistas.

O editor e a assessoria científica reservam-se o direito de solicitar modificações nos artigos e de decidir sobre a sua publicação.

São de exclusiva responsabilidade dos autores as opiniões e conceitos emitidos nos trabalhos.

Os trabalhos aceitos não podem ser reproduzidos, mesmo parcialmente, sem o consentimento expresso do editor da **PAB**.

Contatos com a secretaria da revista podem ser feitos por telefone: (61)3448-4231 e



3273-9616, fax: (61)3340-5483, via e-mail: [pab@sct.embrapa.br](mailto:pab@sct.embrapa.br) ou pelos correios:

Embrapa Informação Tecnológica  
Pesquisa Agropecuária Brasileira – PAB  
Caixa Postal 040315  
CEP 70770 901 Brasília, DF

### **Envio de manuscritos**

Os manuscritos devem ser submetidos conforme instruções contidas no endereço: <http://www.sct.embrapa.br/seer>

## ANEXO B

### INSTRUÇÕES AOS AUTORES – REVISTA BRASILEIRA DE ENTOMOLOGIA

#### Escopo e política

A **Revista Brasileira de Entomologia (RBE)**, órgão da **Sociedade Brasileira de Entomologia (SBE)** publica trabalhos científicos inéditos produzidos na área da Entomologia, ou mesmo em outras, dentro de Arthropoda. A RBE mantém seções destinadas à divulgação de notas científicas, resenhas bibliográficas e notícias de interesse.

Para publicar na RBE, pelo menos um dos autores devem ser sócios da SBE e estar em dia com a anuidade. No caso de nenhum dos autores serem sócios, a taxa de publicação será de R\$ 50,00, para autores brasileiros e de US\$ 25,00, para estrangeiros, por página impressa; em ambos os casos para manuscritos com até três autores. Para manuscritos com mais de três autores a taxa de publicação será de R\$ 100,00 por página impressa, para brasileiros e de US\$ 50,00 para estrangeiros.

As pranchas coloridas terão um custo de R\$ 300,00 para os sócios nacionais e US \$130,00 para os estrangeiros. As pranchas podem ser publicadas em preto e branco na versão impressa e obtidas em cores, sem custo, na versão eletrônica (pdf) por meio da página eletrônica da RBE no SciELO ([www.scielo.br/rbent](http://www.scielo.br/rbent)).

Para agilizar o processo de publicação observem atentamente as normas da RBE e enviem seus artigos eletronicamente para o e-mail - [rbe@ufpr.br](mailto:rbe@ufpr.br). Maiores informações podem ser encontradas na página eletrônica e no último fascículo publicado.

Trabalhos redigidos em outro idioma que não o português, ou o inglês, poderão ser aceitos para a publicação a critério da Comissão Editorial.

#### Forma e preparação de manuscritos

Os manuscritos devem ser enviados preferencialmente via correio eletrônico, como arquivo(s) anexo(s). Poderão também ser submetidos impressos em papel (três vias), acompanhados dos arquivos em CD. O texto deve ser editado, de preferência, em Microsoft Word®, em página formato A4, usando fonte Times New Roman tamanho 12, espaço duplo entre as linhas, com margem direita não justificada e com páginas numeradas. Usar a fonte Times New Roman também para rotulagem das

figuras e dos gráficos. Apenas tabelas e gráficos podem ser incorporados no arquivo contendo o texto do manuscrito. Figuras em formato digital devem ser enviados em arquivos separados, com, no mínimo, 300 dpi de resolução para fotos coloridas e 600 dpi para desenhos a traço e fotos branco e preto, em formato tiff ou jpeg de baixa compactação. Não enviar desenhos e fotos originais quando da submissão do manuscrito.

O manuscrito deve começar com uma página de rosto, contendo: título do trabalho e nome(s) do(s) autor(es) seguido(s) de número(s) (sobrescrito) com endereço(s) completo(s), inclusive endereço eletrônico, e com respectivos algarismos arábicos para remissão. Em seguida, apresentar ABSTRACT, com no máximo 250 palavras, com o título do trabalho em inglês e em parágrafo único; KEYWORDS, em inglês, em ordem alfabética e no máximo cinco.

Na seqüência virá o RESUMO em português, incluindo o título e PALAVRAS-CHAVE, em ordem alfabética e equivalentes às KEYWORDS. Devem ser evitadas palavras-chave que constem do título e do resumo do artigo.

No corpo do texto, os nomes do grupo-gênero e do grupo-espécie devem ser escritos em itálico. Os nomes científicos devem ser seguidos de autor e data, pelo menos na primeira vez. Não usar sinais de marcação, de ênfase, ou quaisquer outros. Conforme o caso, a Comissão Editorial decidirá como proceder.

As referências devem ser citadas da seguinte forma: Canhedo (2004); (Canhedo 2003, 2004); Canhedo (2004:451); (Canhedo 2004; Martins & Galileo 2004); Parra et al. (2004).

As figuras (fotografias, desenhos, gráficos e mapas) devem ser sempre numeradas com algarismos arábicos e, na medida do possível, na ordem de chamada no texto. As escalas devem ser colocadas na posição vertical ou horizontal. As tabelas devem ser numeradas com algarismos romanos e incluídas, no final do texto em páginas separadas. Se necessário, gráficos podem ser incluídos no arquivo do texto e, como as tabelas, deverão vir no final do texto. As figuras em formato digital deverão ser enviadas em arquivos separados. O tamanho da prancha deve ser proporcional ao espelho da página (23 x 17,5 cm), de preferência não superior a duas vezes. Para a numeração das figuras utilizar Times New Roman 11, com o número colocado à direita e abaixo. Isto só deve ser aplicado para as pranchas quando em seu tamanho final de publicação. A fonte Times New Roman deve ser usada também para rotulagem inserida em fotos, desenhos e mapas (letras ou números utilizados para indicar nomes das estruturas, abreviaturas etc.) e em tamanho apropriado de modo que em seu tamanho final não fiquem mais destacados que as

figuras propriamente ditas. As figuras originais não devem conter nenhuma marcação. A Comissão Editorial poderá fazer alterações ou solicitar aos autores uma nova montagem. Fotos (preto e branco ou coloridas) e desenhos a traço devem ser montados em pranchas distintas. As legendas das figuras devem ser apresentadas em página à parte. O custo da publicação de pranchas coloridas deverá ser arcado pelos autores.

Os AGRADECIMENTOS devem ser relacionados no final do trabalho, imediatamente antes das Referências. Sugere-se aos autores que sejam sucintos e objetivos. Para as REFERÊNCIAS, adota-se o seguinte:

1. Periódicos (os títulos dos periódicos devem ser escritos por extenso e em negrito, assim como o volume do periódico):

Zanol, K. M. R. 1999. Revisão do gênero *Bahita Oman*, 1936 (Homoptera, Cicadellidae, Deltocephalinae). **Biociências** 7: 73–145.

Martins, U. R. & M. H. M. Galileo. 2004. Contribuição ao conhecimento dos Hemilophini (Coleoptera, Cerambycidae, Lamiinae), principalmente da Costa Rica. **Revista Brasileira de Entomologia** 48: 467–472.

Alves-dos-Santos, I. 2004. Biologia da nidificação de *Anthodiocetes megachiloides* Holmberg (Anthidiini, Megachilidae, Apoidea). **Revista Brasileira de Zoologia** 21: 739–744.

2. Livros:

Michener, C. D. 2000. **The Bees of the World**. Baltimore, Johns Hopkins University Press, xiv+913 p.

3. Capítulo de livro:

Ball, G. E. 1985. Reconstructed phylogeny and geographical history of genera of the tribe Galeritini (Coleoptera: Carabidae), p. 276–321. In: G. E. Ball (ed.). **Taxonomy, Phylogeny and Zoogeography of Beetles and Ants**. Dordrecht, W. Junk Publishers, xiii+514 p.

Referências a resumos de eventos não são permitidas e deve-se evitar a citação de dissertações e teses.

As cópias do manuscrito, juntamente com os pareceres dos consultores, serão enviadas ao autor (ao primeiro, se em co-autoria ou ao autor indicado) para que sejam feitas as correções/alterações sugeridas. Estas cópias deverão ser

devolvidas à Editoria da RBE juntamente com uma cópia impressa da versão corrigida e do respectivo CD (devidamente identificado) ou por via eletrônica. Alterações ou acréscimos ao manuscrito enviados após o seu registro poderão ser recusados.

Nas Comunicações Científicas o texto deve ser corrido sem divisão em itens (Material e Métodos, Resultados e Discussão). Inclua o Abstract e o Resumo seguidos das Keywords e Palavras-Chave.

Provas serão enviadas eletronicamente ao autor responsável e deverão ser devolvidas, com as devidas correções, no tempo solicitado.

O teor científico do trabalho assim como a observância às normas gramaticais são de inteira responsabilidade do(s) autor(es). Para cada trabalho publicado serão fornecidas 10 (dez) separatas, independente do número de autores.

Sugere-se aos autores que consultem a última edição da revista para verificar o estilo e lay-out. Ao submeter o manuscrito o autor poderá sugerir até três nomes de revisores para analisar o trabalho, enviando: nome completo, endereço e e-mail. Entretanto, a escolha final dos consultores permanecerá com os Editores.

### **Envio de manuscritos**

**Endereço eletrônico:** [rbe@ufpr.br](mailto:rbe@ufpr.br) Fone/FAX: (41) 3266-0502

**Endereço para correspondência: Revista Brasileira de Entomologia/Editora Chefe**

Lúcia Massutti de Almeida Departamento de Zoologia – UFPR  
Caixa Postal 19030 81531-980, Curitiba, PR