**PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS BIOLÓGICAS
(ZOOLOGIA)**

**ISOLAMENTO DE ENTOMOPATÓGENOS EM COLÔNIAS DE FORMIGAS
INVASORAS E SUA APLICAÇÃO PARA O CONTROLE**

MARIA FERNANDA MIORI DE ZARZUELA

Tese apresentada ao Instituto de Biociências do Campus de Rio Claro, Universidade Estadual Paulista, como parte dos requisitos para obtenção do título de Doutor em Ciências Biológicas - Zoologia.

Abril - 2010

**ISOLAMENTO DE ENTOMOPATÓGENOS EM COLÔNIAS DE
FORMIGAS INVASORAS E SUA APLICAÇÃO PARA O CONTROLE**

MARIA FERNANDA MIORI DE ZARZUELA

Tese apresentada ao Instituto de
Biociências do Campus de Rio
Claro, Universidade Estadual
Paulista para a obtenção do título
de Doutor em Ciências
Biológicas (Zoologia).

Orientadora: Dra. Ana Eugênia de Carvalho Campos

Rio Claro
Estado de São Paulo – Brasil
Abril de 2010

595.796 Zarzuela, Maria Fernanda Miori de
Z38i Isolamento de entomopatógenos em colônias de formigas
invasoras e sua aplicação para o controle / Maria Fernanda
Miori de Zarzuela. - Rio Claro : [s.n.], 2010
114 f. : il., gráfs., tabs., fots.

Tese (doutorado) - Universidade Estadual Paulista,
Instituto de Biociências de Rio Claro
Orientador: Ana Eugênia de Carvalho Campos

1. Formiga. 2. Formicidae. 3. Controle biológico. 4.
Fungos. 5. Nematóides. 6. Invasões biológicas. I. Título.

*A meus pais **José Benedito** e
Elizabeth por apoiarem e
permitirem a realização de meu
projeto de vida profissional.
Dedico...*

*A todas as pessoas que
valorizam a ciência e
compreendem sua importância.
Ofereço...*

AGRADECIMENTOS

Muitas pessoas me ajudaram nesta pesquisa, muito mais do que possa lembrar para aqui citar. Meu agradecimento inicial vai para a Dra. Ana Eugênia de Carvalho Campos, um exemplo de profissional a ser seguido, uma parceira em todos meus trabalhos (desde o primeiro), uma professora, uma orientadora que me incentivou em todas as etapas percorridas até esta tese de doutorado, e acima de tudo isso uma amiga para a vida toda. Também tenho uma grande dívida com o Prof. Dr. Odair Correia Bueno por acreditar em meu potencial desde o início, em permitir que eu fizesse parte de seu grupo de pesquisa, por sua paciência e por todos seus ensinamentos. Sem dúvida nenhuma, estes são os dois exemplos profissionais mais importantes dos quais me orgulho de poder, com eles, conviver todos esses anos.

Ao CNPq e a UNESP – Rio Claro pela concessão da bolsa.

Ao Professor Helymar Machado pela análise estatística.

Agradeço ao Centro de Estudos de Insetos Sociais, do Departamento de Biologia do Instituto de Biociências da UNESP – Rio Claro por permitir o desenvolvimento inicial deste trabalho oferecendo seus laboratórios e material. Neste ambiente pude conviver com muitas pessoas que contribuíram para o desenvolvimento deste estudo. Agradeço também a meus colegas de pós graduação (mestrado e doutorado), alunos de iniciação científica, professores e funcionários que conviveram comigo, seja em sala de aula, em disciplinas em outras instituições, laboratórios, biblioteca, em confraternizações, e mesmo em ambientes que não o acadêmico, fazendo com que todos esses anos fossem inesquecíveis. Seria injusto escrever os nomes dessas pessoas, mesmo porque com certeza eu estaria cometendo a indelicadeza de esquecer alguém. Meus agradecimentos e amizade serão eternos a todos.

Ao laboratório de Controle Biológico, do Centro Experimental Central do Instituto Biológico - Campinas, assim como à Unidade Laboratorial de Referência em Pragas Urbanas do Instituto Biológico, São Paulo, por permitir que todo o trabalho fosse desenvolvido em suas dependências, pela utilização do material necessário e pelo convívio com pesquisadores e profissionais de diversas áreas, ensinando-me sempre. Também aqui devo agradecer a muitos amigos que conquistei nesta Instituição, a colegas pós graduandos, estagiários de diversas universidades, funcionários e pesquisadores que auxiliaram no desenvolvimento do trabalho. Foram muitas saídas a campo para coletas, viagens, congressos, montagens e avaliações dos experimentos em laboratório (e isso inclui lavagem de muita vidraria), além de conversas que muito contribuíram no resultado deste trabalho. Seria mais uma vez impossível mencionar todos os nomes destas pessoas, que por anos estiveram em minha vida profissional.

Cabe particular agradecimento ao Dr. Luis Garrigós Leite e ao Dr. José Eduardo Marcondes de Almeida, pesquisadores científicos do Instituto Biológico, pela co-orientação neste trabalho, pelos ensinamentos na área de controle biológico, pela paciência durante a elaboração do projeto, desenvolvimento do trabalho e avaliações dos dados.

A Luciano Olmos Zappelini, meus agradecimentos são para as próximas vidas inclusive. Sua enorme dedicação ensinando tudo sobre controle biológico, sua constante paciência em mostrar como proceder em laboratório de controle biológico e na montagem e avaliação dos experimentos são as razões para estes agradecimentos. O oferecimento de sua casa por diversas vezes para minha hospedagem em Campinas também me traz alegria e faz lembrar para sempre deste grande amigo e colega de profissão e de sua família que sempre me acolheu com tanto amor. A eles, muito obrigada.

A todas as pessoas que permitiram minha entrada em suas casas para realização de coletas, aos administradores de parques estaduais e municipais de diversas cidades, a todos que enfim, colaboraram para a coleta de formigueiros.

A Luiz Fernando Vaz Guimarães por acrescentar em meus dias felicidade, paz e muito amor desde que o conheci. Sua infinita paciência, companheirismo e disposição em ajudar nas avaliações finais do trabalho são os motivos para meus sinceros agradecimentos. Muito obrigada por fazer parte da minha vida e suportar tantos aborrecimentos.

Agradeço ainda aos grandes amigos, que não fazem parte de minha vida acadêmica diretamente e que apesar de, em alguns casos, morarem longe, fazem parte do meu dia a dia. Amigos de infância, da escola, faculdade, academia, etc. Enfim, AMIGOS! Pela amizade e por tudo que essa palavra significa. Obrigada pelo apoio e compreensão.

A Léa Maria de Arruda por ensinar a me conhecer melhor, e principalmente por me transmitir estabilidade emocional, imprescindível para a condução deste trabalho.

A toda minha família: Zarzuela, Miori, Silva, Ferreira de Camargo, Coelho e Vaz Guimarães, que sempre apoiou minhas decisões, demonstrando afeto durante todo esse período.

Por fim, porém não menos importante, deixo meus maiores agradecimentos a quatro pessoas que representam toda minha noção de família, felicidade, amor, companheirismo, compreensão, apoio (financeiro inclusive) e incentivo: minhas irmãs Tânia e Lúcia e meus pais Elizabeth e José Benedito. O amor é infinito, o meu muito obrigada será também!

Às formigas e a todos que sem mesmo saber, contribuíram muito para o desenvolvimento desta tese.

SUMÁRIO

1. RESUMO	1
2. ABSTRACT	2
3. INTRODUÇÃO	3
3.1 Formigas	3
3.2 Invasões Biológicas	4
3.3 Espécies Exóticas Invasoras	7
3.4 Insetos Sociais Invasores	8
3.5 Problemas Ocasionalmente pelas Formigas	11
3.6 Controle Biológico	15
4. OBJETIVOS	22
5. REVISÃO DA LITERATURA	23
5.1 Defesa Química de Formigas	23
5.2 Controle Biológico de Formigas	27
6. MATERIAL E MÉTODOS	40
6.1 Ocorrência de entomopatógenos em colônias de formigas invasoras no Brasil	40
6.1.1 Coletas	40
6.1.2 Isolamento dos nematóides entomopatogênicos	42
6.1.3 Isolamento dos fungos entomopatogênicos	43
6.2 Suscetibilidade de colônias de <i>Monomorium floricola</i> em laboratório aos entomopatógenos	44
6.2.1 Suscetibilidade a Nematóides Entomopatogênicos	45
6.2.1.1 Colônias de <i>Monomorium floricola</i>	45
6.2.1.2 Nematóides utilizados	46
6.2.1.3 Testes	46
6.2.2 Suscetibilidade a Fungos Entomopatogênicos	47
6.2.2.1 Colônias de <i>Monomorium floricola</i>	47
6.2.2.2 Fungos utilizados	47
6.2.2.3 Testes	48
6.3 Avaliação dos dados	49
7. RESULTADOS E DISCUSSÃO	51
7.1 Coletas	51
7.2 Ocorrência de entomopatógenos em colônias de formigas invasoras no Brasil	56
7.3 Isolamento de Nematóides	57
7.3.1 Frequência de nematóides em áreas em equilíbrio e infestadas	57
7.3.2 Presença de nematóides nos ninhos de formigas e nas amostras controle	59

7.3.3 Espécies de nematóides isoladas de formigueiros e de amostras controle	60
7.3.4 Relação das espécies de nematóides isoladas por espécies de formigas	62
7.4 Isolamento de Fungos.....	64
7.4.1 Frequência de fungos em áreas em equilíbrio e infestadas.....	64
7.4.2 Presença de fungos nos ninhos de formigas e nas amostras controle.....	66
7.4.3 Espécies de fungos isolados de formigueiros e de amostras controle	68
7.4.4 Relação das espécies de fungos isolados por espécies de formigas.....	70
7.5 Suscetibilidade de colônias de <i>Monomorium floricola</i> em laboratório aos entomopatógenos.....	72
7.5.1 Suscetibilidade a Nematóides Entomopatogênicos	73
7.5.2 Suscetibilidade a Fungos Entomopatogênicos.....	81
8. CONSIDERAÇÕES FINAIS	89
9. CONCLUSÕES	91
10. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	92

1. RESUMO

Algumas espécies de formigas proporcionam impacto severo nas comunidades que invadem. Quando entram em contato com áreas urbanizadas e com o homem seus prejuízos podem ser ainda maiores. A exemplo pode-se citar: *Solenopsis* spp.; *Linepithema humile*; *Wasmannia auropunctata*; *Pheidole megacephala* e *Paratrechina* spp.. Muitas são as tentativas de controlar essas espécies, no entanto nem sempre se obtém sucesso. O controle biológico é uma alternativa para o controle químico e vem ganhando grande destaque em pesquisas. Os principais organismos utilizados no controle biológico de insetos são os fungos e os nematóides. Esse trabalho teve como objetivo esclarecer algumas das frequentes dúvidas no que diz respeito ao controle biológico de formigas, como avaliar a presença de entomopatógenos em colônias de formigas invasoras em áreas onde suas populações estão em equilíbrio e nas áreas infestadas; aplicar entomopatógenos em colônias de *Monomorium floricola* em condições de laboratório para avaliar a eficiência destes agentes no controle de espécies urbanas bem como observar o comportamento destas formigas frente a esses microrganismos. Foram isolados os nematóides entomopatogênicos *Heterorhabditis* sp. e *Steinernema* sp. e os fungos *Beauveria bassiana*, *Metarhizium anisopliae* e *Paecilomyces* sp. Estes microrganismos estão presentes em colônias de formigas invasoras em áreas onde suas populações estão em equilíbrio e nas áreas infestadas. As colônias que receberam a aplicação de *Steinernema* sp. e *Heterorhabditis* sp. tiveram uma mortalidade de operárias maior que as do controle. O fungo *Beauveria bassiana* apresentou maior mortalidade de operárias da espécie *M. floricola*. Porém, não houve redução nem eliminação das colônias em nenhum dos tratamentos. Os comportamentos de defesa das formigas, a exemplo do comportamento de limpeza e o comportamento de fuga dos ninhos devem ser considerados para a utilização de fungos e nematóides como formas de controle biológico.

PALAVRAS-CHAVES: Formicidae, controle biológico, fungos, nematóides, invasões biológicas.

2. ABSTRACT

Some ant species provide severe impact on the communities they invade. When they come into contact with urban areas and man its losses may be even greater. The ants *Solenopsis* spp.; *Linepithema humile*; *Wasmannia auropunctata*, *Pheidole megacephala*, *Paratrechina* spp. can be cited. There are many attempts to control such species, although not always succeed. Biological control is an alternative to chemical control and has gained great prominence in research. The main organisms used in biological control of insects are fungi and nematodes. This study aimed to clarify some questions regarding the biological control of ants. Invasive ant species occurring in some regions of Brazil, in areas where their populations are in balance and in infested areas, were evaluated for the presence of entomopathogenic in their colonies. Moreover, entomopathogenic were applied in colonies of *Monomorium floricola* under laboratory conditions to evaluate the effectiveness of these agents on the control of urban species. The behavior of the controlled ants was evaluated. The entomopathogenic nematodes *Heterorhabditis* sp. and *Steinernema* sp. and the fungi *Beauveria bassiana*, *Metarhizium anisopliae* and *Paecilomyces* sp. were isolated. These microorganisms are present in colonies of invasive ants in areas where their populations are in balance and in infested areas. The colonies that received the application of *Steinernema* sp. and *Heterorhabditis* sp. showed a higher mortality of workers than control. The fungus *Beauveria bassiana* showed higher mortality of *M. floricola* workers. However, no colony reduction or elimination were observed in any treatments. The defensive behaviors of ants, such as grooming behavior and nest escape must be considered for the use of fungi and nematodes as a form of biological control.

KEY WORDS: Formicidae, biological control, fungi, nematodes, biological invasions.

3. INTRODUÇÃO

3.1 Formigas

Dos insetos sociais, as formigas foram os que melhor se adaptaram às cidades. No Brasil estima-se que das 2000 espécies de formigas identificadas, cerca de 50 espécies são pragas urbanas causando prejuízos no campo e nas cidades e danos à saúde pública (BUENO; CAMPOS-FARINHA, 1999).

Algumas espécies de formigas são neutras em relação aos aspectos econômicos da humanidade, porém um grande número delas é certamente benéfico pelas ações de aeração e movimentação do solo, como também de decomposição de substâncias orgânicas, colaborando com a ciclagem de nutrientes (CAMPOS-FARINHA et al., 1997; HÖLLDOBLER; WILSON, 1990). Outras são muito úteis à agricultura, alimentando-se de algumas pragas agrícolas. No entanto, as formigas cortadeiras podem ser bastante destruidoras (AMANTE, 1967; BUENO; CAMPOS-FARINHA, 1999; CAMPOS-FARINHA et al., 1997; FORTI; BOARETTO, 1997). Embora as espécies de formigas consideradas pragas sejam poucas, os prejuízos econômicos podem ser grandes, principalmente, os causados na agricultura, tanto na produção como no armazenamento de alimento e na saúde pública. Ainda podem causar efeitos danosos a muitas espécies silvestres, interferindo na biodiversidade (BRANDÃO; PAIVA, 1994; BUENO; CAMPOS-FARINHA, 1999).

Muitas são as espécies de importância econômica, as mais significantes são certamente as formigas lava-pés (ADAMS, 1986; LOFGREN, 1986) e as formigas cortadeiras (CHERRETT, 1986; FOWLER et al., 1986), todas exclusivas do Continente Americano. Pelos danos que causam ao ambiente e para a agricultura e pelo risco que causam à saúde do homem, essas formigas possuem o *status* de pragas (ROBINSON, 1996). As atenções nos últimos anos têm sido voltadas para um grupo de formigas que possuem hábitos e um conjunto de características específicos, que possibilitam denominá-las espécies andarilhas ou urbanas – “*tramp species*” (PASSERA, 1994). De acordo com Hölldobler e Wilson (1990) e Passera (1994), as espécies urbanas possuem as seguintes características: poliginia, populações unicoloniais, reprodução das colônias por fragmentação, baixa agressividade intraespecífica, alta agressividade interespecífica, são dispersas pelo mundo através do comércio humano e vivem em íntima relação com o homem.

A presença danosa de pragas é consequência do desequilíbrio ecológico provocado pelo próprio homem. O acúmulo inadequado de alimentos, lixo, ausência de predadores naturais e a falta de higiene e educação das pessoas é que levam ao descontrole, inexistente em condições naturais (LUZ, 1991).

3.2 Invasões Biológicas

Ao longo das últimas décadas, o processo de globalização econômica, associado à intensificação e à velocidade do deslocamento humano e de cargas por todo o mundo, contribuiu para a quebra de barreiras ecológicas, tendo como uma de suas consequências o aumento expressivo da introdução de espécies exóticas. Algumas destas espécies têm grande capacidade de invasão e de colonização de novos ambientes devido às características biológicas e ecológicas que ampliam sua tolerância em relação à maioria dos fatores ambientais. Podem, portanto, adaptar-se mais facilmente às condições dos ambientes invadidos e obter sucesso reprodutivo, tendendo a desequilibrar o sistema, afetando negativamente a flora e fauna locais com a redução das populações das espécies nativas, com risco, muitas vezes, de extinção, causando prejuízos à economia e à saúde humana (MACHADO; OLIVEIRA, 2009).

A invasão biológica se dá quando uma espécie que adquire vantagem competitiva, seguida do desaparecimento de obstáculos naturais à sua proliferação, se dispersa rapidamente e conquista novas áreas, tornando-se uma população dominante (HAJEK, 2009).

A introdução no Brasil de espécies exóticas vinculadas a atividades antrópicas, de forma intencional ou acidental, teve início com o processo de colonização das Américas pelos navegadores europeus. Desde então foram incorporadas à cultura nacional e às comunidades biológicas nativas como o mexilhão *Perna perna*, assim como aquelas que se tornaram problemáticas para a saúde como o mosquito *Aedes aegypti*. Quatro séculos depois, assistimos a uma intensificação desse processo, com o deslocamento de seres humanos e de cargas que se tornaram as principais causas das quebras de barreiras ecológicas (MEYERSON; MOONEY, 2007).

No cenário internacional, as espécies exóticas são consideradas a segunda ameaça à biodiversidade, além de causarem prejuízos à economia e constituírem um risco à saúde humana (PIMENTEL et al., 2001).

Charles Darwin (DARWIN, 1859) foi um dos primeiros a alertar, na segunda metade do século XIX, sobre as consequências ambientais da introdução de uma nova espécie em outro ambiente. Um século depois, Elton (1958) também reconheceu que espécies exóticas estavam colonizando novos habitats ao redor do mundo, em taxas alarmantes.

De fato, a segunda metade da década de 1980 registrou um número expressivo de importantes estudos, destacando-se a revisão do embasamento teórico e a identificação de questões chave a serem respondidas, assim como uma maior clareza a respeito do futuro das pesquisas sobre invasão biológica (LOPIAN, 2005).

No Brasil o tema cresceu somente a partir de 1990. Trata-se de um conhecimento com incertezas básicas sobre o número de espécies exóticas invasoras no país, inexistência de um inventário correto e completo de biodiversidade, da efetiva distinção das espécies exóticas causadoras de impactos e da intensidade com que o processo de introdução ocorre no país (OLIVEIRA; MACHADO, 2009).

Ao longo da história, os artrópodes têm competido com o homem por recursos causando problemas na saúde pública. Inicialmente os artrópodes que se tornaram pragas eram espécies nativas, porém quando o homem começou a se dispersar em diversas áreas, esses artrópodes, o acompanharam. Alguns foram propositadamente introduzidos pelo homem nos diferentes ambientes, como as abelhas melíferas para a polinização e produção do mel ou a introdução de espécies agentes de controle biológico. Porém, a vasta maioria das introduções tem ocorrido de forma acidental e usualmente facilitada pela ação humana (HAJEK, 2009). É sabido que dispersões ocorrem de forma natural também, mas são lentas e ocorrem ao longo do processo evolucionário, não atravessam bordas biogeográficas e geralmente ocorrem em uma só direção (NENTWING, 2007).

Apesar do seu efeito negativo, as invasões são comuns, sendo importantes forças de estruturação de comunidades naturais. Durante os últimos 20 milhões de anos, diversos episódios de mudanças em massa de espécies ocorreram como resultados de invasões biológicas. Uma das maiores mudanças de biota, decorrida de invasões de espécies na América, ocorreu durante o Pleistoceno. Nesta época formou-se um istmo entre a América do Sul e do Norte, promovendo uma grande troca de biota. Esse intercâmbio, porém, não foi homogêneo, a biota norte-americana invadiu a América do Sul e extinguiu várias espécies (LODGE, 1993).

A introdução de organismos em uma nova região não garante o desenvolvimento de uma população viável. Muitos organismos são introduzidos em novas áreas, porém poucos conseguem se estabelecer e desenvolver. Estimativas paleobiológicas e atuais sugerem que taxas de introdução de espécies que não prosperam sejam normalmente subestimadas. Entre 2 e 40% das espécies introduzidas chegam a prosperar em áreas exóticas, e dessas, cerca de apenas 1% chegam ao *status* de praga. Esse insucesso em se estabelecer pode decorrer de fatores ambientais inadequados para o desenvolvimento da população, como de fatores bióticos, principalmente a predação, competição, parasitismo e doenças (LODGE, 1993).

Embora esses dados dêem uma ideia de que apenas um pequeno número de introduções ocorra, atualmente muitas regiões apresentam um grande número de espécies exóticas invasoras, que podem chegar a dominar comunidades locais. Estima-se que em 500 anos, espécies invasoras serão dominantes em aproximadamente 3% da superfície terrestre não congelada (LODGE, 1993).

Sabe-se porém, que não são necessárias muitas espécies novas e bem sucedidas para explorar um novo habitat e criar problemas catastróficos. Muitas vezes, apenas uma única espécie pode monopolizar ou ocupar um ecossistema e mudá-lo irreversivelmente. Ecologistas ainda pesquisam as razões que levam as espécies a se tornarem invasoras danosas, especialmente porque em muitos casos essas pragas não o são em seus locais de origem. Entre tantas hipóteses ecológicas que têm sido propostas, alguns ecologistas acreditam que as espécies que se tornam invasoras são pré-adaptadas aos novos ambientes ou são superiores de alguma forma quando comparadas com as espécies nativas (HUFBAUER; TORCHIN, 2007). Outra hipótese é que quando novas espécies entram em um novo ambiente, elas não são acompanhadas de seus inimigos naturais presentes em sua área de origem. A evidência de que as espécies introduzidas têm menos inimigos naturais em seus novos ambientes comparados com seu ambiente nativo suporta essa hipótese (TORCHIN; MITCHELL, 2004).

De uma forma geral os impactos das espécies invasoras em ecossistemas e na biodiversidade não são bem documentados, sendo os danos econômicos causados por essas espécies os que recebem maior atenção. Os gastos relacionados com as espécies invasoras podem ser de três formas: gastos relacionados diretamente com os danos causados pelos invasores (ex. diminuição na produtividade); gastos com os esforços na prevenção das introduções; e o último que diz respeito aos que oneram as agências de biossegurança. É estimado um gasto de um bilhão de dólares por ano nos Estados Unidos para o controle da formiga lava-pés (PIMENTEL et al., 2005).

Os danos estruturais causados pelo cupim *Coptotermes formosanus* também está estimado em 1 bilhão de dólares naquele mesmo país (PIMENTEL et al., 2005) sendo que esta estimativa foi feita antes do furacão em 2005, no Estado de Louisiana, que resultou em severas infestações em áreas devastadas e aumentou o potencial de dispersão deste cupim destruidor.

É muito difícil calcular os gastos que as espécies invasoras causam ao meio ambiente. As formigas lava-pés destroem ninhos de passarinhos, matam pintos, lagartos, cobras, e muitas espécies de invertebrados nativos; e apesar de se ter consciência que o extermínio de alguns destes animais representa prejuízo monetário significativo, não se pode estimar o valor da perda provocada pela morte de cobras nativas, lagartos e muitos invertebrados (HAJEK, 2009).

Uma vez que haja o estabelecimento das espécies invasoras em uma nova área, o foco muda para os programas de controle (HAJEK, 2009). Após a invasão e o aumento da população da espécie invasora e a dispersão das espécies nativas, é necessário adotar-se uma quarentena doméstica para prevenir o movimento das pragas - principalmente através do homem - fora da área de estabelecimento delas. Zonas de barreiras são criadas para prevenir a dispersão de populações. Entretanto, organismos que possuem a habilidade de se movimentar por longas distâncias, por eles mesmos ou com o auxílio do homem, tornam o controle dessa dispersão mais difícil.

3.3 Espécies Exóticas Invasoras

Existem três premissas consideradas como consenso para identificar uma espécie exótica invasora:

- A. Que ela esteja fora da área de origem ecológica;
- B. Que sua dispersão tenha sido realizada ou facilitada por ação humana, intencional ou acidental;
- C. Que sua dispersão ameace ecossistemas, habitats e outras espécies.

É importante ressaltar o impacto evolutivo que essas espécies podem causar às espécies nativas uma vez que podem excluí-las por competição, por deslocamento de nicho ecológico, hibridização, redirecionar o processo evolutivo a partir de interações co-evolutivas e, por fim, levá-las à extinção (MOONEY et al., 2005).

A distribuição original de uma espécie se refere aos ecossistemas naturais de origem e não aos limites políticos dos países ou estados. Assim, a introdução de uma espécie de um ecossistema em outro de um mesmo país é considerada uma espécie exótica nesse ecossistema, podendo se tornar invasora. A dispersão natural de espécies nativas entre um mesmo ecossistema compartilhado por países contíguos não constitui como espécie exótica, embora estas espécies possam se tornar invasoras se alterações ambientais criarem condições favoráveis à sua expansão (CHAME, 2009).

Algumas espécies são capazes de se estabelecer de forma incipiente não ameaçando a biodiversidade e, portanto, não são invasoras embora sejam exóticas. Em geral as espécies exóticas invasoras têm a capacidade de se reproduzir e aumentar suas populações rapidamente; possuem mecanismos biológicos de dispersão eficazes, apresentam plasticidade fenotípica que lhes proporcionam habilidade fisiológica de adaptação e capacidade de sobreviver utilizando vários tipos de alimento em grande amplitude de condicionantes ambientais (CHAME, 2009).

Nem sempre é simples identificar uma espécie exótica. Muitas questões estão envolvidas nessa identificação. A principal é a necessidade de um excelente conhecimento das espécies nativas e suas distribuições geográficas - incluindo hospedeiros, vetores e patógenos, tarefa nada fácil em um grande país como o Brasil (CHAME, 2009).

Os prejuízos causados pelas espécies exóticas invasoras chegam, em algumas estimativas, a 5% do PIB mundial (RODRIGUES-SILVA et al., 2006). Alguns exemplos são emblemáticos, como o *Aedes aegypti* que entrou no Brasil em diversos momentos desde 1850, foi erradicado pelo menos duas vezes, até que a partir de 1998 passou a ser detectado em todos os estados brasileiros (CHAME, 2009).

3.4 Insetos Sociais Invasores

Dentre os insetos sociais, as formigas, estão entre os principais organismos invasores que causam grandes prejuízos para o homem e o meio ambiente. Parte do seu sucesso em invadir ambientes deve-se a suas formas de reprodução, dispersão e comportamentos, característicos, que aumentam suas taxas reprodutivas, bem como alteram sua resposta às condições ambientais e às interações com outros organismos (RIBEIRO; CAMPOS-FARINHA, 2005).

Diante de tal complexidade biológica, ao se estudar invasões causadas por insetos sociais, deve-se utilizar modelos diferentes daqueles usados para outros animais, que falham em não destacar certas características promovidas pela sociabilidade, de grande importância para explicar o sucesso de invasão desses insetos (MOLLER, 1996), a exemplo das abaixo destacadas.

Espermateca

A presença deste órgão nas fêmeas reprodutivas as tornam independentes dos machos ao invadirem um novo ambiente. As rainhas de algumas espécies podem copular com vários machos o que contribui para um aumento da variabilidade genética da futura população, permitindo uma rápida adaptação ao novo habitat (MOLLER, 1996; RIBEIRO; CAMPOS-FARINHA, 2005).

Qualidade de novas rainhas

A fundação de uma nova colônia geralmente é um estágio crítico, sendo a população primariamente regulada pelo número de rainhas fundadoras, que são capazes de se estabelecer com sucesso. Uma estratégia utilizada por formigas para diminuir o risco dessa fase é a produção de fêmeas fundadoras com altas concentrações de reservas alimentares para alimentar as primeiras larvas, não sendo necessário que a rainha saia à procura de alimento. O risco pode ser diminuído pela fragmentação da colônia, com fragmentos formados por operárias e crias, podendo ou não haver rainhas (MOLLER, 1996; RIBEIRO; CAMPOS-FARINHA, 2005).

Evitando inimigos

Além do hábito claustral das rainhas, a constante tarefa de limpeza das câmaras, dos indivíduos imaturos e das rainhas, realizada pelas operárias, é outro mecanismo de evitar que parasitas e patógenos se instalem na colônia (OI; PEREIRA, 1993a; RIBEIRO; CAMPOS-FARINHA, 2005).

Algumas espécies de abelhas produzem o própolis que é reconhecido por sua ação bactericida. Em formigas também existem secreções que servem de defesa contra microrganismos (MOLLER, 1996; RIBEIRO; CAMPOS-FARINHA, 2005), como o conteúdo da glândula metapleurálica, com substâncias antimicrobianas (HOLLOBLER; ENGEL-SIEGEL, 1984).

Dispersão

Os insetos sociais conseguem se dispersar por grandes distâncias por serem ótimos voadores. No caso das formigas, cujas operárias são apteras, as castas reprodutoras, na maioria das espécies, possuem asas durante a fase reprodutiva (HOLWAY et al., 2002; RIBEIRO; CAMPOS-FARINHA, 2005).

Algumas espécies de formigas urbanas são facilmente transportadas pelo homem, principalmente através do comércio, sendo esse seu principal modo de dispersão (PASSERA, 1994; RIBEIRO; CAMPOS-FARINHA, 2005).

Altas taxas reprodutivas

Espécies que apresentam altas taxas reprodutivas têm maiores chances de ser bem sucedidas em invadir novos ambientes. Além disso, é importante que a qualidade dos indivíduos produzidos seja alta para que possam competir eficazmente com as espécies que já residem no local (MOOLER, 1996; RIBEIRO; CAMPOS-FARINHA, 2005).

Poliginia

Esse comportamento facilita a reprodução da colônia por fragmentação, já que dentro de um mesmo ninho existem duas ou mais rainhas que podem ser distribuídas entre os novos fragmentos de colônia (HOLWAY et al., 2002; RIBEIRO; CAMPOS-FARINHA, 2005).

Longevidade da colônia

Muitas espécies de insetos sociais formam colônias que podem durar muitos anos, mesmo que a longevidade de cada indivíduo, tanto operárias como rainhas, não se estenda por mais de um mês (MOOLER, 1996; RIBEIRO; CAMPOS-FARINHA, 2005), devido a sobreposição de gerações, uma das características dos insetos eussociais.

Unicolonialismo

Este é um comportamento que algumas espécies de formigas urbanas apresentam e que parece ser essencial no sucesso em se estabelecer em novos ambientes (HOLWAY, 1998). Ele evita o custo de competir com indivíduos da mesma espécie, fazendo com que essa energia seja gasta em outras funções, como na exploração de recursos para uma melhor competição com outras espécies (HOLWAY et al., 2002).

Comunicação e aprendizado

O aprendizado, a memória e a comunicação em insetos sociais são ingredientes importantes para explicar a alta eficácia que esses insetos mostram em explorar os recursos do ambiente. A grande densidade que as colônias apresentam e a intensa comunicação entre as operárias, criam uma grande rede de informações sobre o ambiente que ditará a resposta da colônia quanto à distribuição dos indivíduos que irão forragear (MOOLER, 1996; RIBEIRO; CAMPOS-FARINHA, 2005).

A abelha *Apis mellifera*, quando encontra determinado recurso alimentar retorna para a colônia e recruta outras operárias através de uma série de movimentos complexos, a “dança”, que irá indicar o local exato onde está a fonte de alimento (MOOLER, 1996; RIBEIRO; CAMPOS-FARINHA, 2005).

As formigas utilizam feromônios para recrutar e indicar o local de uma fonte de alimento (HOLLDOLBLER; WILSON, 1990).

Habilidades competitivas

Os grandes níveis populacionais das colônias de insetos sociais exigem uma alta e constante demanda de alimento, assim as operárias necessitam explorar adequadamente o ambiente atrás de alimento. A exaustiva competição, consequência desse grande requerimento alimentar, fez dos insetos sociais ao longo do processo evolutivo ótimos competidores, desenvolvendo hábitos territorialistas, tornando-os bons recrutadores e exploradores eficientes dos recursos alimentares do ambiente. Em se tratando de formigas urbanas sua alta agressividade dentre as espécies é importante para o sucesso na invasão (HOLWAY et al., 2002; RIBEIRO; CAMPOS-FARINHA, 2005).

3.5 Problemas Ocasionados pelas Formigas

Muitas espécies de formigas exóticas e nativas se tornaram pragas quando, de alguma maneira, escaparam de seus inimigos naturais e interagiram com o homem (HUMAN; GORDON, 1996; MOONEY; DRAKE, 1986; PORTER; SAVIGNANO, 1990). As formigas cortadeiras somente se tornaram um problema quando começaram a destruir plantações ou árvores de valor comercial. No ambiente natural, essas formigas saem para coletar folhas para os jardins de fungos e são controladas por vários predadores, competidores e por condições naturais que não são encontradas nos ambientes artificiais (CHERRETT, 1986).

Várias formigas exóticas foram introduzidas na Ilha de Galápagos e estão afetando aquele frágil ecossistema. As duas espécies de formigas que estão causando sérios problemas são: *Wasmannia auropunctata* (pixixica) e *Solenopsis germinata* (lava-pés tropical). Elas competiram com a fauna de formigas nativas e reduziram a população de artrópodes nativos em várias ilhas (BRANDÃO; PAIVA, 1994; LUBIN, 1984).

Outras espécies de formigas também proporcionam um impacto severo em comunidades nativas (HÖLLDOBLER; WILSON, 1977). Quando a formiga argentina, *Linepithema humile* ocupou habitats na Califórnia, a riqueza das espécies declinou (WARD, 1987). Da mesma forma, a formiga argentina deslocou totalmente três espécies de formigas nativas no Sudeste da Califórnia (ERICKSON, 1971). Na Ilha de Galápagos, colônias poligínicas de *W. auropunctata* estão devastando todas as espécies simpátricas (CLARK et al., 1982). Na Austrália, a ocorrência de *Pheidole megacephala* em áreas reflorestadas foi correlacionada com o declínio de 50-80% da riqueza de espécies de formigas nativas (MAJER, 1985). Na Colômbia, *Paratrechina fulva* pode atingir uma densidade de mais de 16.000 ninhos/ha (ZENER-POLANIA; RUIZ-BOLANIOS, 1985; ZENER-POLANIA, 1990). Com essa densidade, *P. fulva* elimina quase todas as outras espécies de formigas e aparentemente causa problemas sérios a animais e plantas selvagens.

Uma situação semelhante ocorreu com *Solenopsis invicta* e com *Solenopsis richteri* nos EUA, onde são consideradas pragas; milhões de dólares estão sendo gastos anualmente para seu controle (LOFGREN, 1986). Essas formigas são um excelente exemplo de espécies que foram acidentalmente introduzidas no meio ambiente sem nenhum impedimento biológico, e em uma década se tornaram grandes pragas (WILSON, 1986).

Alguns estudos sobre *Solenopsis* spp. realizados nos Estados Unidos, detalharam como ela alterou drasticamente as áreas nas quais foram introduzidas, modificando as interações ecológicas do solo, decomposição de frutas e comunidades terrestres de artrópodes em geral (PORTER; SAVIGNANO, 1990). O controle de *Solenopsis* spp. nos EUA tem uma longa e bem documentada história devido aos danos causados à agricultura e à saúde pública (THOMPSON, 1990), porém, na América do Sul, o controle dessa formiga tem somente um fragmento dessa história.

Na Flórida, *S. invicta* invade casas, hospitais e restaurantes e seu controle é muito difícil, de acordo com o levantamento da Pest Control Operations (BIEMAN; WOJCIK, 1990). Embora *S. richteri* tenha sido introduzida primeiro em Mobile, Alabama, em 1920, sua rápida expansão talvez tenha sido inicialmente dificultada por outra espécie acidentalmente introduzida nos EUA, a formiga argentina, *L. humile*. *S. richteri*, entretanto, foi capaz de

competir com a formiga argentina e com muitas outras espécies de formigas nativas, estabelecendo-se por duas décadas após sua introdução (LOFGREN et al., 1975). Em 1930, outra espécie de formiga lava-pés, *S. invicta*, foi introduzida em Mobile, Alabama. Por vinte anos esta formiga dominou a região (LOFGREN, 1986). De acordo com Porter et al. (1992), elas representam 97% das formigas coletadas nesta região, enquanto no Brasil, representam apenas 23% e *S. invicta* não é necessariamente uma formiga lava-pés dominante. Existem várias espécies de *Solenopsis* na América do Sul (TRAGER, 1991). A rápida e impressionante dispersão de *S. invicta* nos EUA pode ter sido ajudada por vários fatores: clima favorável, a biologia da formiga, ecologia e a falta de competidores. As condições climáticas do Sudeste dos EUA são ideais para as duas espécies de formiga lava-pés introduzidas pelo Brasil e Argentina.

Apesar de Roots, 1976, Mooney e Drake, 1986 afirmarem que poucas espécies exóticas alteram drasticamente a estrutura de uma comunidade, foi demonstrado por Porter e Savignano (1990) que a invasão por *S. invicta* pode alterar consideravelmente a abundância e a diversidade de artrópodes nativos. Essa formiga possui muitas características geralmente atribuídas ao sucesso de invasores (EHRLICH, 1986), (1) preferem habitats excessivamente perturbados associados com a atividade humana (TSCHINKEL, 1988); (2) toleram uma larga oscilação de condições atmosféricas e (3) utilizam uma grande variedade de recursos alimentares (VINSON; GREENBERG, 1986); (4) são relativamente abundantes em seus locais de origem (BANKS et al., 1985); (5) as operárias possuem um polimorfismo acentuado (PORTER; TSCHINKEL, 1985), uma característica que permite que elas utilizem um amplo nicho; (6) as rainhas fecundadas são capazes de estabilizar novas colônias após o transporte (VINSON; GREENBERG, 1986); e (7) finalmente, as colônias dessas espécies têm uma alta capacidade reprodutiva, crescem rapidamente (PORTER, 1988) e podem produzir milhares de indivíduos reprodutivos por ano (VINSON; GREENBERG, 1986).

A formiga argentina, *L. humile*, também é um organismo com alto potencial para invadir ambientes. Nativa da Argentina e do sul do Brasil, apresenta atualmente uma distribuição cosmopolita, podendo ser encontrada em diversas regiões com climas temperados ou sub-temperados (HOLWAY et al. 2002; SUAREZ et al., 2001). Os primeiros registros dessa espécie infestando regiões datam do final do século XIX quando através de navios mercantes, chegaram à cidade de Nova Orleans nos EUA (HOLWAY, 1998; HUMAN; GORDON, 1996; MAJER, 1994; SUAREZ et al., 2001). Porém, foi a partir de meados do século passado que começou a ter status de praga, sendo encontrada na Califórnia, na Austrália e em ilhas oceânicas, e mais recentemente em países da Península Ibérica (Portugal

e Espanha), França, Itália, Japão, África do Sul e Emirados Árabes. Essa ampla distribuição deve-se a sua íntima relação com o homem, que além de fornecer abrigo, alimento e boas condições ambientais para o desenvolvimento da colônia, transporta acidentalmente seus ninhos para novas áreas. (HARRIS, 2002; TOUTAMA et al., 2003)

O sucesso dessa espécie em se estabelecer em novas áreas, causando sérios prejuízos, deve-se aos altos níveis populacionais que suas colônias atingem. A falta de agressividade intraespecífica possibilita que haja uma troca entre operárias de ninhos diferentes, obtendo-se uma melhor resposta à distribuição heterogênea dos recursos no ambiente e à defesa da colônia. Assim, explorando-se mais eficientemente os recursos, suas colônias podem alcançar maiores índices populacionais. Além disso, a falta de agressividade intraespecífica possibilita que diversos ninhos possam ser interligados, formando colônias que se estendem por quilômetros, conhecidas como supercolônias. Na Europa há registros de uma supercolônia de *L. humile* na costa do Mediterrâneo que ocupa quatro países (Espanha, Portugal, França e Itália) e se estendia por mais de 6.000 quilômetros. (GIRAULD et al., 2002)

Embora a formiga argentina seja considerada como nativa da região sul do Brasil, onde teoricamente aparece em pequenas populações e sem o comportamento invasivo característico de regiões que infesta, alguns focos de infestação desta formiga vêm aparecendo no Estado de São Paulo, tanto no interior do Estado - Limeira e Rio Claro -, como na capital. Nesses locais suas populações aparecem em grandes densidades, desalojam espécies de formigas nativas e causam grande incômodo dentro das residências. Duas importantes regiões infestadas por *L. humile* no Estado de São Paulo são áreas com um alto potencial para a dispersão da infestação: uma localiza-se no Parque Villa-Lobos na cidade de São Paulo, e a outra em Limeira no Bairro Tatu, uma região de intenso cultivo de cana-de-açúcar (RIBEIRO, 2004).

A intensa atividade agrícola do interior do Estado pode promover uma rápida infestação desta espécie, principalmente pela associação que estabelece com insetos sugadores. Essa relação, além de dificultar o controle da praga agrícola, aumenta a probabilidade das colônias de formiga argentina se estabelecerem com sucesso em uma área invadida, já que nessa relação a *L. humile* se beneficia coletando o *honeydew*, rico em açúcar, que consiste em importante fonte de alimento para as formigas. Em Limeira grandes populações da formiga argentina foram observadas na cultura da cana-de-açúcar onde se associam com a cigarrinha-da-raiz da cana-de-açúcar, *Mahanarva fimbriolata* (Hemiptera: Cercopidae). Outras lavouras que representam grande parte da agricultura do Estado e

também atacadas por outros insetos sugadores, como a de laranja, também podem ser alvo dessa formiga e contribuir para uma rápida dispersão desta espécie (DELABIE, 2001).

3.6 Controle Biológico

A necessidade de preservar o meio ambiente já se tornou objetivo primordial em qualquer empreendimento. Inúmeros movimentos de alerta nesse sentido têm surgido nas últimas décadas e um amplo espectro das atividades executadas pelo homem contribui para a deterioração do meio ambiente entre as quais a exploração agropecuária (BATISTA FILHO, 2006).

A prática de extensivas monoculturas tem levado à quebra do equilíbrio dos ecossistemas, abrindo espaço para o crescimento desordenado de determinados insetos e ácaros, que se tornam pragas, provocando sérios problemas e ocasionando danos econômicos às culturas (BATISTA FILHO, 2006).

O manejo integrado de pragas (MIP) tem sido instrumento dirigido ao uso racional das práticas de controle fitossanitário. Trata-se da otimização do controle por meio de medidas múltiplas, que mantêm as populações de pragas abaixo do nível de dano econômico, promovendo a proteção das plantas, do homem, dos animais e do ambiente. Entre essas medidas destaca-se o controle biológico (BATISTA FILHO, 2006).

Define-se o controle biológico como sendo a ação de organismos que mantêm as densidades das pragas e doenças numa média mais baixa do que a que ocorreria na sua ausência. O controle biológico é uma alternativa para o controle químico e tem obtido grande destaque em pesquisas de controle. Esta prática vem ganhando notoriedade, pois apresenta menor impacto ambiental que o uso de agrotóxicos; os insetos não criam resistência a esses organismos, como acontece com uso frequente de inseticidas e consiste em uma técnica mais barata (BATISTA FILHO, 2006).

O reconhecimento dos agentes de controle biológico no campo é indispensável para o sucesso do manejo, e o uso inadequado de agrotóxicos compromete o sistema. Dentro do sistema de manejo também devem ser consideradas a introdução e a colonização de inimigos naturais exóticos (BATISTA FILHO, 2006).

O controle biológico na América Latina, encontra condições muito favoráveis em função do clima da maioria dos países e da sua rica biodiversidade, que resulta em um grande arsenal de inimigos naturais de pragas, representado por seus parasitóides, predadores e patógenos. Além disso, o sistema agrícola, em muitas regiões da América Latina, se

caracteriza por pequenos agricultores, geralmente não tecnificados e com lucratividade limitada pela área reduzida de suas propriedades. Esses agricultores estariam mais propensos à adoção de métodos alternativos de controle de pragas e doenças, prática que pode agregar valor ao produto final, proporcionando maior aceitação no mercado (ALVES et al., 2008).

O controle biológico é praticamente a única alternativa viável de controle de pragas que atende à demanda mundial, cada vez maior, de produtos e alimentos livres de resíduos tóxicos deixados pelas aplicações convencionais de pesticidas químicos (ALVES et al., 2008).

No desenvolvimento de formulações de pesticidas químicos, as empresas multinacionais chegam a gastar de US\$ 70 a US\$ 250 milhões para descobrir, formular e colocar uma molécula no mercado. Por outro lado, os programas de controle biológico frequentemente investem valores que dificilmente atingem US\$ 1 milhão no desenvolvimento de um produto microbiano. No Brasil, por exemplo, os recursos destinados aos projetos que estão sendo desenvolvidos nesta área de controle biológico estão entre US\$ 10.000 e US\$ 50.000 por projeto, sendo que a média da América Latina é muito inferior a esse valor (ALVES et al., 2008).

O Instituto Biológico realiza desde 1998 pesquisas sobre controle biológico da cigarrinha-da-raiz da cana, quando esta praga teve aumento de população favorecido pelo sistema de colheita sem queima. Entre 2002 e 2004, cerca de 1.950 toneladas de bioinseticida foram utilizadas para tratar uma área de aproximadamente 390.000 ha de canaviais paulistas, gerando uma economia próxima de R\$ 97 milhões de reais em custos de controle. Ainda nesse período, em função dessa tecnologia, mais de 150 empregos diretos foram gerados no Estado de São Paulo. No momento, além da geração de conhecimento no assunto, técnicos do instituto assessoram o setor sucroalcooleiro no desenvolvimento e implantação de biofábricas (MADI et al., 2006).

Além disso, esta Instituição conta com coleções científicas e tem prestado, ao longo de sua história, uma grande colaboração para as mais variadas instituições e universidades do país e do exterior. Desta forma, sabendo da importância do patrimônio genético agropecuário sob guarda do Estado, notadamente seu manejo, conservação e uso, em novembro de 2005, a Agência Paulista de Tecnologia dos Agronegócios, órgão ao qual o Instituto Biológico está vinculado, publicou a Portaria nº 960 que dispõe sobre o Sistema de Curadoria de Coleções Biológicas (INSTITUTO BIOLÓGICO. Disponível em <www.biologico.sp.gov.br> Acesso em 29 jan. 2009).

O Laboratório de Controle Biológico do Centro Experimental Central do Instituto Biológico em Campinas, SP, tem realizado um trabalho de formação e organização da Coleção de Microrganismos Entomopatogênicos "Oldemar Cardim Abreu" com vistas ao suporte de programas de controle microbiano e manejo integrado de pragas, tanto no Instituto Biológico como para universidades, institutos de pesquisa e empresas através do intercâmbio de isolados e amostras de solo ou insetos mortos com microrganismos entomopatogênicos (INSTITUTO BIOLÓGICO. Disponível em <www.biologico.sp.gov.br> Acesso em 29 jan. 2009).

Os principais organismos utilizados no controle biológico de insetos são microorganismos patogênicos, em especial fungos e nematóides (ALMEIDA; MACHADO, 2006; LEITE, 2006).

Dentre os agentes de controle biológico, os nematóides de insetos, nas três últimas décadas, representam um dos grupos que passaram a merecer maior atenção dos pesquisadores e a receber grande destaque internacional. O crescente interesse pelo estudo de tais formas deve-se ao fato de que várias delas tiveram comprovada experimentalmente a habilidade de se associar a diferentes espécies de insetos consideradas importantes pragas agrícolas e causar-lhes a morte, constituindo, assim, agentes de biocontrole de grande potencial (LEITE, 2006).

Os nematóides pertencentes às famílias Steinernematidae e Heterorhabditidae são patógenos naturais de muitos insetos epigêicos e subterrâneos (HOMNICK et al., 199; KAYA; GAUGLER, 1993). No entanto, populações naturais destes nematóides raramente reduzem populações de insetos significativamente (BAUER; KAYA, 1998; PETERS, 1996).

O sucesso dos nematóides está na persistência do estágio de vida livre no solo e da habilidade dos estágios parasitas em se reciclar nos cadáveres do hospedeiro (BAUER; KAYA, 1998). A maioria das pesquisas está centrada na persistência do estágio de vida livre no ambiente (SMITS, 1996). Os nematóides entomopatogênicos matam seus hospedeiros em 48 horas e necessitam de 7 a 15 dias para completar seu ciclo de vida e produzir o estágio de vida livre que existe nos cadáveres (POINAR, 1979).

Dentre os heterorabditídeos, conhecem-se 11 espécies válidas no gênero *Heterorhabditis*, enquanto na família Steinernematidae há 44 espécies em *Steinernema* e uma única em *Neosteinerema* (ADAMS et al., 2006). Os membros dessas famílias apresentam evidentes semelhanças na biologia e nos ciclos de vida.

As espécies de *Steinernema* e *Heterorhabditis* estão associadas de maneira mutualística a bactérias do gênero *Xenohabdus* e *Photorhabdus*, respectivamente. Tais bactérias não formam esporos e, portanto, não apresentam estágios resistentes, sendo encontradas em geral nos nematóides infectantes ou nos cadáveres de insetos infectados. Na associação os nematóides contribuem oferecendo proteção à bactéria fora do corpo do artrópode hospedeiro e atuando como transportadores da bactéria do cadáver de um inseto ao hemocèle de outro vivo. Por outro lado, as bactérias servem de alimento aos nematóides, provendo-lhes meio nutritivo adequado ao desenvolvimento e à reprodução, sendo, portanto, considerados bacteriófagos (DOWDS; PETERS, 2002; POINAR, 1990).

O ciclo de vida em *Steinernema* começa quando juvenis de terceiro estágio, também chamados de infectantes, carregando células da bactéria *Xenohabdus* sp. em uma vesícula localizada na região anterior do intestino, penetram no corpo do hospedeiro através de suas aberturas naturais - boca, ânus e espiráculos. Esses juvenis são morfologicamente adaptados à permanência no solo, pois retêm a cutícula do segundo estágio, e possuem ânus e a boca fechados. Dentro do hospedeiro migram para o hemoceloma, onde perdem a cutícula extra e defecam, liberando bactérias (POINAR; THOMAS, 1966; SICARD et al., 2004). Estas se multiplicam rapidamente, sintetizam toxinas e outros compostos e, após curto período (em geral inferior a 48 horas), causam septicemia no hospedeiro (JAROSZ et al., 1991).

O cadáver torna-se uma verdadeira sopa bacteriana, ou seja, um meio rico em nutriente constituído pelas bactérias e por tecidos já desorganizados do inseto, a partir do qual os nematóides se alimentam e se desenvolvem, passando para o último estágio juvenil e formando os adultos da primeira geração, machos e fêmeas. Os juvenis originados por tais adultos ainda possuem à sua disposição apreciável quantidade de alimento, conseguindo completar o ciclo e formar os adultos da segunda geração dentro do cadáver do inseto (BOFF et al, 2000). A duração do ciclo do nematóide no hospedeiro depende de vários fatores, dentre eles: a espécie do inseto-hospedeiro, o tamanho do juvenil infectivo, a temperatura do ambiente e a quantidade de juvenis infectivos que penetram no inseto (BOFF et al., 2000).

Os juvenis originados pelos adultos da segunda geração encontram baixa quantidade disponível de bactérias e grau de decomposição de cadáver avançado. A falta de alimento no cadáver é percebida pelos juvenis como um sinal para deixar o cadáver e buscar novos hospedeiros. Assim, passam ao terceiro estágio retendo a cutícula do segundo estágio, apreendem certa quantidade de células bacterianas e migram para o ambiente externo. Nesta forma de juvenis infectivos, conseguem persistir por meses no solo até a localização e penetração em novos insetos hospedeiros, fechando o ciclo (PATEL et al., 1997).

Em *Heterorhabditis* o ciclo biológico é bastante semelhante ao de *Steinernema*, com a diferença básica de que os adultos da primeira geração reproduzem-se por hermafroditismo e os da segunda, por anfimixia (POINAR, 1990). Outra diferença está na localização da bactéria simbiote, que em *Heterorhabditis* se encontra espalhada na parte anterior do intestino. Ao adentrar no hemoceloma, os juvenis infectivos regurgitam as células bacterianas, ao invés de defecá-las (CICHE; ENSIGN, 2003).

A recomendação de uso de algumas espécies de *Steinernema* e *Heterorhabditis* como bioinseticidas é resultante de uma intensiva fase de avaliação por meio de estudos experimentais em laboratórios, microparcels e áreas de campo. Tais pesquisas indicaram claramente o uso desses nematóides no combate a diferentes espécies de insetos consideradas pragas de solo, em especial lepidópteros, coleópteros e dípteros. Também espécies que vivem no interior de galerias formadas em órgãos aéreos de plantas infestadas, como as chamadas brocas, podem ser eficientemente controladas com tais nematóides. Entretanto, pragas filófagas, como gafanhotos e vários tipos de lagartas, em geral não são bem controladas por tal método, devido à grande suscetibilidade dos juvenis infectivos à dessecação (LELLO et al., 1996).

Os nematóides entomopatogênicos têm sido avaliados para o controle de diversos insetos pragas, apresentando-se bastante promissor para o controle da mosca dos fungos, *Bradysia* sp. (Diptera: Sciaridae), que é praga em viveiros de mudas e cultivos de cogumelos; contra o gorgulho-da-cana-de-açúcar, *Sphenophorus levis* (Coleoptera: Curculionidae); e contra a traça *Opogona sacchari* (Lepidoptera: Tineidae) em cultivo de cogumelos shiitake (LEITE, et al., 2006).

A maioria dos projetos de pesquisa com controle microbiano de insetos é realizada com fungos entomopatogênicos, devido às características de ação desses patógenos (ALMEIDA; MACHADO, 2006). Os fungos são patógenos de largo espectro, capazes de colonizar diversas espécies de insetos e ácaros e de causar, com frequência, epizootias em condições naturais. Estes patógenos diferem de outros grupos por terem a capacidade de infectar todos os estágios de desenvolvimento dos hospedeiros. Os fungos penetram por diversas vias, predominantemente através do tegumento, e possuem alta capacidade de disseminação horizontal (ALVES, et al., 2008). A maioria dos fungos atua por contato e por ingestão, sendo que sua grande variabilidade genética permite estudos de seleção de cepas ou isolados e avaliação dos mais virulentos para o controle de pragas (ALMEIDA; MACHADO, 2006).

As diferentes estruturas do fungo a serem utilizadas no controle de pragas e suas funções no ciclo natural do patógeno são: conídios, com função de reprodução e de disseminação; blastósporos, com função de disseminação na hemolinfa do hospedeiro; micélio, com função de migrar para fora do hospedeiro e permitir a conidiogênese do fungo; e esporos de resistência, com função de permitir a sobrevivência do fungo no solo. A escolha da forma do fungo a ser utilizada vai depender da espécie e isolado do patógeno, da dificuldade na sua produção, do ambiente onde será aplicado e do método de aplicação (ALMEIDA; MACHADO, 2006).

No Brasil, os fungos vêm sendo estudados há mais de sessenta anos, sendo que após 1964, com a aplicação em massa do fungo *Metarhizium anisopliae* para o controle de cigarrinha-da-folha da cana-de-açúcar, *Mahanarva posticata*, o uso desses entomopatógenos aumentou, criando assim novas oportunidades e projetos de pesquisa ou mesmo a instalação de biofábricas (ALMEIDA; MACHADO, 2006).

Os principais exemplos de uso de fungos entomopatogênicos são contra a cigarrinha-da-folha da cana-de-açúcar, *Mahanarva posticata*; cigarrinha-das-raízes da cana-de-açúcar, *Mahanarva frimbiolata*; cigarrinha-das-pastagens, *Zulia entreriana*, *Deois flavopicta*, *Deois schach*; broca-da-bananeira, *Cosmopolites sordidus*; broca-dos-citrus, *Diploschema rotundicole*; percevejo-de-renda-da-seringueira, *Leptopharsa heveae*; broca-do-café, *Hypothenemus hampei*; e contra o cupim das pastagens, *Cornitermes cumulans* (ALMEIDA; BATISTA FILHO, 2006).

As formigas são um dos principais alvos e um dos maiores desafios para pesquisas que traçam estratégias de controle de pragas, devido à sua ampla distribuição, suas densas populações, e o alto prejuízo que suas infestações causam (BOARETTO; FORTI, 1997).

A aplicação de iscas tóxicas é considerada o método mais eficiente e efetivo para controlar grandes populações de formigas. Embora seja menos nociva ao meio ambiente que os aerossóis e pós-químicos, muitas vezes têm efeito limitado no controle, podendo afetar animais nativos da região que sejam atraídos por essas iscas (BUENO; CAMPOS-FARINHA, 1999).

Embora existam trabalhos que demonstrem a utilização de entomopatógenos para o controle de formigas, a maioria diz respeito às formigas cortadeiras. Os trabalhos referentes tanto a controle biológico quanto à presença de entomopatógenos isolados de colônias de formigas invasoras estão concentrados no gênero *Solenopsis*, uma vez que essa formiga é uma séria praga nos Estados Unidos, e as pesquisas referem-se a esse país na maioria das vezes.

Mesmo assim, os esforços para esse tipo de controle alternativo ao químico ainda não são conclusivos e efetivos.

Minucioso levantamento bibliográfico não revelou trabalhos relacionados à presença de organismos entomopatogênicos em colônias de diferentes espécies de formigas invasoras no Brasil, nem mesmo sua utilização para o controle. Por isso, este trabalho pretende dar início a essa linha de pesquisa, a fim de contribuir com as respostas às frequentes dúvidas no que diz respeito ao controle biológico de formigas.

4. OBJETIVOS

- A. Avaliar a presença de organismos entomopatogênicos (fungos e nematóides) em colônias de espécies de formigas invasoras, tanto em áreas com grande densidade de ninhos quanto em áreas com populações em equilíbrio;
- B. Comparar a presença de entomopatógenos coletados nos ninhos de formigas com amostras controle próximos ao ninho;
- C. Avaliar a virulência dos entomopatógenos coletados nos ninhos, em colônias de formigas da espécie *Monomorium floricola* em condições de laboratório;
- D. Avaliar a virulência de isolados dos fungos *Beauveria bassiana*, *Metharizium anisopliae* e *Paecilomyces* sp. mantidos na Coleção de Culturas de Entomopatógenos Oldemar Cardim de Abreu do Instituto Biológico em colônias de *M. floricola* em condição de laboratório;
- E. Avaliar a virulência dos nematóides *Steinernema* spp. e *Heterorhabditis* spp. mantidos na Coleção de Culturas de Entomopatógenos Oldemar Cardim de Abreu do Instituto Biológico em colônias de *M. floricola* em condições de laboratório;
- F. Avaliar o comportamento das colônias de formigas, em condições de laboratório, na presença destes diferentes entomopatógenos.
- G. Estabelecer uma comparação entre os entomopatógenos (fungos) isolados de formigueiros e os isolados pertencentes às coleções do Instituto Biológico com relação à mortalidade causada nas colônias em condições de laboratório, bem como o comportamento destas após o tratamento com fungos.

5. REVISÃO DA LITERATURA

5.1 Defesa Química de Formigas

Os insetos sociais, assim como qualquer outro ser vivo enfrentam contaminações por microrganismos que podem acarretar danos às diferentes castas. Mecanismos de proteção, morfofisiológicos, químicos e/ou mecânicos, devem ser eficientes para driblar infecções e morte.

A proteção se torna crucial quando parasitas e patógenos entram em contato com os insetos fazendo com que muitos deles produzam componentes com propriedades antibióticas (VILCINSKAS; GÖTZ, 1999). A rápida dispersão de doenças infecciosas é especialmente problemática em insetos sociais, devido ao grande número de indivíduos que vivem juntos em uma colônia (BAER; SCHIMID-HEMPEL, 1999).

As formigas são conhecidas por terem desenvolvido uma surpreendente variedade de mecanismos defensivos, utilizados em diversas situações. Esta variedade é resultado de uma importante pressão de seleção exercida por inimigos de todos os tipos, principalmente por outras formigas (BUSCHINGER; MASCHWITZ 1984).

Os mecanismos de defesa podem ser divididos em quatro categorias: adaptações morfológicas (espinhos cuticulares), armas mecânicas (mandíbulas), armas combinando características mecânicas e químicas (ferrão) e a defesa química estritamente. Esta última é a defesa dominante e é notável que quase metade das espécies de formigas atuais perdeu a função do ferrão e passou a utilizar vários compostos defensivos produzidos por diferentes glândulas (BUSCHINGER; MASCHWITZ 1984).

A composição química das secreções de defesa é bem conhecida para várias espécies de formigas (LECLERCQ et al., 2000a). Entretanto, o potencial biológico das atividades dessas secreções tem sido raramente investigado (CORNELIUS et al., 1995). As formigas do gênero *Crematogaster* são muito abundantes e parte de seu sucesso ecológico deve-se à sua eficiente defesa química. Essas formigas possuem uma alargada glândula de Dufour e um reduzido e espatulado ferrão utilizado para aplicar suas secreções abdominais topicamente nos tegumentos de seus inimigos, ao invés de injetar veneno como as formigas menos derivadas fazem (KUGLER 1978). Elas são capazes de fazer isso movimentando seu gáster para cima e por cima do tórax e da cabeça fazendo com que dessa forma o ferrão aponte para todas as direções.

Análises químicas das secreções abdominais de *Crematogaster* têm sido desenvolvidas em diferentes espécies na Europa (DALOZE et al., 1987), Papua Nova Guiné (LECLERCQ et al., 1997), Brasil (LECLERCQ et al., 2000b,c) e no Quênia (LAURENT et al., 2003), demonstrando uma alta diversidade de compostos defensivos.

Entre as formigas, os mecanismos de defesa são particularmente necessários nas Attini. Essas formigas cortadeiras são membros de uma complexa simbiose, que inclui um mutualismo com um fungo cultivado por elas que serve de fonte alimentar (BELT, 1874) e um actinomiceto que é cultivado, pois seus metabólitos possuem propriedades antibióticas (CURRIE et al., 1999). A parceria deste mutualismo tem sido estável por 50-65 milhões de anos, com poucos sinais de resistência contra fungos generalistas e bactérias que são utilizados em tratamentos para o controle de formigas em agrossistemas (SCHULTZ et al., 2005).

Em adição aos actinomycetos, as formigas utilizam uma gama de comportamentos e defesas químicas contra patógenos (HUGHES et al., 2002). Uma das principais defesas químicas envolve a secreção da glândula metapleurar, uma estrutura utilizada para a identificação de formigas, tanto fósseis quanto existentes (HOLLDÖBLER; WILSON, 1990).

A morfologia e fisiologia desta glândula variam entre as espécies (SUMMER et al., 2003) e os estudos indicam que sua principal função está no controle de infecções, sintetizando compostos antibióticos (NASCIMENTO et al., 1996). Em algumas espécies a glândula metapleurar possui outras funções como a produção de feromônios de alarme para a defesa da colônia ou compostos que mantêm o reconhecimento do grupo (JAFFÉ; PUCHE 1984).

A forma com que as formigas utilizam as secreções antibióticas da glândula metapleurar ainda não está clara. Geralmente assume-se que as formigas não controlam a liberação e a aplicação dos compostos da glândula, mas que os compostos fluem através de um orifício e se espalham pela cutícula da formiga sendo distribuídos entre os indivíduos da colônia através do grooming (comportamento de limpeza social) (NORTH et al., 1997). Já outros autores (BROWN, 1968; FERNÁNDEZ-MARÍN et al., 2003; FERNÁNDEZ-MARIN et al., 2006) observaram que algumas formigas limpam precisamente a abertura da glândula e acreditam que elas possam regular a utilização das secreções quando são expostas a agentes infecciosos.

Quando a glândula metapleurale de certas formigas foi fechada artificialmente, pôde-se verificar que elas foram mais suscetíveis a parasitas do que as formigas que estavam com a glândula aberta (POULSEN et al., 2002). Além disso, formigas expostas a esporos de fungos limpam suas glândulas muito mais vezes do que as formigas não expostas ao fungo (FERNÁNDEZ-MARIN et al., 2006).

O comportamento de limpeza da glândula metapleurale implica numa série de coordenados movimentos das pernas dianteiras e dos movimentos do corpo que são completamente diferentes dos movimentos das pernas envolvidos no *self-grooming*, que é bem descrito para os Hymenoptera (BASIBUYUK; QUIKE, 1999). Um estudo realizado por Fernández-Marin et al. (2006) mostrou que formigas limpam-se entre elas após a limpeza da glândula metapleurale. Neste estudo os autores observaram que as formigas cortadeiras derivadas (*Acromyrmex* e *Atta*) limpam seus jardins de fungos, substratos, rainhas e os outros indivíduos após tocarem a glândula metapleurale, mas os gêneros de formigas mais basais não o fazem, sugerindo que o uso das secreções da glândula foi se expandindo ao longo da evolução entre os Attini.

Os fungos entomopatogênicos são caracterizados por sua habilidade em se replicar internamente no hospedeiro após ter penetrado no inseto através da cutícula ou, em alguns casos, entrando pelo aparelho digestório por ingestão (BOUCIAS; PENDLAND, 1998). Muitas espécies de fungos são investigadas para a utilização como forma de controle alternativa (VILCINSKAS; GÖTZ 1999), porém, as formigas cortadeiras possuem uma série de comportamentos e defesas químicas que as protegem contra esses agentes. A exemplo, cita-se a limpeza ativa dos indivíduos (CURRIE; STUART, 2001), o manejo do lixo (HOLLOBLER; WILSON, 1990) e a produção de antibióticos (CURRIE et al., 1999).

As formigas podem aplicar um “coquetel” de misturas de antibióticos, incluindo antibióticos metabolizados por bactérias (CURRIE et al., 1999) e fungos (HERVEY; NAIR, 1979 FERNÁNDEZ-MARIN et al., 2006), e uma gama de compostos provenientes de diferentes glândulas exócrinas, cada uma com múltiplos componentes (HOLLOBLER; WILSON, 1990). Teorias recentes têm demonstrado que a mistura de dois ou mais diferentes antibióticos é melhor para prevenir a evolução de resistência de agentes de doenças comparados com a utilização de uma sequência cíclica do mesmo antibiótico (LEVIN; BONTEN, 2004).

Um trabalho realizado por Ortius-Lechner e seus colaboradores em 2000, identificou cerca de 20 diferentes componentes na secreção da glândula metapleurale de *Acromyrmex octospinosus*, em adição aos dois componentes já conhecidos em outras espécies (NASCIMENTO et al., 1996). A presença de diferentes compostos na secreção da glândula metapleurale sugere que esta glândula serve como um mecanismo de ampla defesa para muitos microrganismos (ORTIUS-LECHNER et al., 2000).

Desde 1983, Alves e Sosa-Gómes já haviam observado uma grande resistência de soldados de *A. sexdens rubropilosa* aos fungos *B. bassiana* e *M. anisopliae* em relação às outras operárias. Beattie et al. (1985) relataram que as secreções da formiga *Myrmecia* tiveram uma atividade fungicida contra *B. bassiana* e outros entomopatógenos e em 1996, Nascimento e seus colaboradores confirmaram a presença de substâncias com atividades bactericida e fungicida na secreção da glândula metapleurale de *A. sexdens rubropilosa*, *A. cephalotes* e *Acromyrmex octospinosus*.

Diehl e Junqueira (2001) utilizaram diversas subcastas de operárias de *Atta sexdens piriventris* para comparar a presença da secreção metapleurale ao longo de um ano. Além disso, testaram a atividade tóxica da secreção em operárias tratadas com o fungo entomopatogênico *B. bassiana*. Foi encontrada uma correlação positiva entre o tamanho da cápsula cefálica e a presença da secreção metapleurale nas subcastas de jardineiras, operárias grandes e em soldados. Foram registradas altas frequências de operárias de todas as subcastas infectadas por *B. Bassiana*. Os autores sugerem que a secreção metapleurale não está entre os principais mecanismos de assepsia da colônia. Em 1990, Billen havia relatado que as secreções da glândula de *S. invicta* não tinham atividade antibiótica e que a higiene das colônias é feita pelo veneno alcalóide presente nesta espécie. Outros autores também descreveram algumas atividades para a glândula metapleurale de outras espécies de formigas que não a de defesa contra os entomopatógenos, dentre elas: propriedades inseticidas (ATTYGALLE et al., 1989), diminuição da quantidade de pólen de certas plantas (BEATTIE et al., 1985), reconhecimento intraespecífico (BROWN, 1968), marcação territorial e o aumento da agressividade de operárias (JAFFÉ; PUCHE, 1984; CAMMAERTS; CAMMAERTS, 1998).

Os trabalhos referentes à aplicação de entomopatógenos para o controle de formigas e suas possíveis formas de defesa são contraditórios. Os estudos não são conclusivos e esta área de pesquisa se torna primordial para que as diferentes formas de controle biológico sejam aprimoradas.

5.2 Controle Biológico de Formigas

Nos ambientes urbanos, algumas espécies de formigas são conhecidas por invadir casas e outras estruturas humanas (THOMPSON, 1990). Essas formigas causam problemas que variam desde a transmissão de doenças até reações alérgicas relacionadas com as ferroadas de algumas espécies (JEMAL; HUGHES-JONES, 1993). De acordo com Whitmore et al. (1992), mais de um terço das casas nos Estados Unidos são tratadas por problemas com formigas.

O controle de formigas na agricultura e em ambientes urbanos usualmente é realizado com inseticidas químicos e o controle biológico tem recebido pouca atenção. Entretanto, sua demanda em solucionar os problemas causados pelas formigas tem aumentado nos últimos anos. Três fatores contribuíram para esse aumento: (1) o desejo em diminuir a exposição aos químicos, (2) a procura por táticas alternativas de controle e (3) a baixa eficácia dos produtos que estão no mercado (PEREIRA; STIMAC, 1997).

Dois fatores importantes devem ser considerados. O limiar do inseto se tornar uma praga e a sua tolerância a agentes de biocontrole. O limite para que um inseto seja considerado praga é o número máximo de insetos que possa ser tolerado em um ambiente. Esse número é geralmente baixo, especialmente dentro das residências, dependendo da localização e da espécie de formiga presente. Se a presença de insetos é prejudicial, benéfica ou neutra, varia entre os humanos. Porém, em ambientes urbanos, a tolerância é mínima (PEREIRA; STIMAC, 1997).

Apesar de alguns agentes de controle biológico serem testados em ambientes externos, não há esforços em sua aplicação em ambientes internos. Um aumento nesta área de pesquisa se torna necessário antes de tornar comercial esta alternativa de controle em ambientes urbanos (PEREIRA; STIMAC, 1997).

Outro fator importante a ser considerado é a origem da praga. As formigas de ambientes internos frequentemente são originadas de grandes populações de áreas externas. O controle em áreas internas pode ser temporário, uma vez que podem ocorrer reinfestações. Nestes casos, a origem dessas formigas deve ser avaliada e controlada, ou devem-se tomar medidas que impeçam a migração destes insetos para os ambientes internos. Além disso, os ninhos internos podem estar desconectados dos externos e são de difícil localização, portanto a escolha de um agente de controle que consiga atingir o ninho é essencial (PEREIRA; STIMAC, 1997).

As iscas são ainda as melhores formulações para o controle de formigas tanto em ambientes internos quanto externos. Os agentes de controle biológico podem ser formulados e depositados em iscas ou em porta iscas e neste caso, são mais aceitos pela população. Porém, a aplicação desses agentes é mais complexa para o aplicador e requer mão de obra especializada (PEREIRA; STIMAC, 1997).

Parasitas, predadores e patógenos são utilizados em programas de controle biológico. Cada um destes agentes oferece vantagens, porém alguns são mais adaptados a situações urbanas. Todavia, quando se trata de formigas urbanas, algumas precauções com o uso de diferentes agentes devem ser consideradas. Alguns problemas podem estar relacionados com a natureza de alguns agentes de biocontrole e outros estão relacionados com a tolerância humana e às restrições para seu uso. Entendendo os possíveis problemas, os agentes de controle biológico têm uma grande chance de se adaptar com sucesso (PEREIRA; STIMAC, 1997).

Muitas das adaptações comportamentais das formigas têm trazido frustrações ao homem na tentativa de controlá-las de várias formas. Entender bem tais adaptações é importante quando se deseja utilizar agentes de controle biológico. O sucesso no controle de formigas pragas através do uso de parasitóides, predadores ou patógenos não tem sido bem documentado, embora tais inimigos naturais existam (JOUVENAZ, 1983). Talvez a falta de sucesso ou mesmo a carência de esforços neste tipo de controle devam-se justamente ao comportamento das formigas. Sua capacidade em afastar parasitóides (DEBACH, 1974), ou mesmo de se defenderem contra moscas forídeos (WOJCIK, 1989) são indicativos da dificuldade em encontrar um agente de controle eficaz.

As respostas comportamentais na presença de inimigos naturais podem ser especialmente importantes quando os patógenos são utilizados como inseticidas microbianos. Tais comportamentos e interações das formigas com outros artrópodes parasitas foi revista por Weeter (1910) questionando se as formigas poderiam ser controladas com os patógenos do ambiente que elas habitam. Tal questionamento estava fundamentado no fato de que as formigas desenvolvem mecanismos que protegem suas colônias e elas mesmas de serem contaminadas por fungos e outros microrganismos. Evans (1982) em outro estudo afirmou que a epizootia por fungos em formigas é rara.

O fascínio em encontrar um controle biológico para as formigas está presente e é evidenciado por diversas pesquisas na área (DREES et al., 1992; JOUVENAZ; MARTIN, 1992; PEREIRA; STIMAC, 1992; PEREIRA et al., 1993a; SANCHEZ-PENA; THORVILSON, 1992; SIEBENEICHER et al., 1992 e STIMAC et al., 1993) que examinam seu potencial no controle de *Solenopsis invicta*, Buren, introduzida nos Estados Unidos.

Pouco se sabe sobre parasitas e parasitóides de formigas e os exemplos citados na literatura são uma mistura de efeitos prejudiciais e benéficos em relação ao interesse humano. Por exemplo, o ácaro *Pyemotes tritici*, um parasita de *Solenopsis invicta* (BRUCE; LECATO 1980) causa coceira e outros problemas para o homem e animais domésticos (PEREIRA; STIMAC, 1997).

Ocorrências naturais de parasitas e parasitóides servem como indicadores de que esses organismos podem ser efetivos em programas de controle biológico. Uma vantagem é que estes organismos são capazes de procurar por seus hospedeiros e podem deixar as populações de formigas pragas. Uma vez estabelecidos no ambiente, o controle do hospedeiro é contínuo, não necessitando de outra introdução (PEREIRA; STIMAC, 1997).

Especificidade é outra vantagem e a maioria dos Hymenoptera e Diptera parasitas e parasitóides restringe seu ataque a apenas uma única espécie ou a um grupo de espécies relacionadas. Esta característica permite o uso destes organismos sem que atinja populações de formigas não alvo. Entretanto, a especificidade pode ser desvantajosa em ambientes urbanos, onde é comum a infestação por várias espécies de formigas, o que tornaria necessário vários agentes de controle ou táticas (PEREIRA; STIMAC, 1997).

Os parasitóides mais comuns pertencem às ordens Hymenoptera e Diptera, mas existem outras ordens também importantes (WOJCIK, 1989). Por serem insetos voadores, sua presença em residências e em outras estruturas urbanas pode não ser desejável, apesar de seus efeitos benéficos. A liberação deliberada de insetos voadores em residências pode não ser bem aceita pela população. Além disso, mudanças no comportamento das formigas parasitadas podem fazer com que elas tornem-se mais aparentes, aumentando o nível de intolerância (PEREIRA; STIMAC, 1997).

O confinamento de insetos parasitas também é um problema em ambientes urbanos externos. Pelo fato de o controle de formigas urbanas não ser realizado em áreas adjacentes, como é feito com o controle de mosquitos, os agentes de controle devem estar confinados em pequenas áreas dentro dos limites de uma propriedade. Tal fato cria um sério problema em áreas confinadas quando os parasitas liberados mudam-se das áreas de tratamento, causando uma diluição de seus efeitos sobre as formigas pragas (PEREIRA; STIMAC, 1997).

A falta de candidatos específicos é talvez o problema mais sério no uso de organismos parasitas para o biocontrole de formigas. Poucas espécies têm sido identificadas atacando formigas urbanas pragas, e estudos detalhados destes organismos não têm sido conduzidos. Entretanto, para formigas lava-pés, uma séria linha de pesquisa com organismos de biocontrole têm revelado alguns organismos parasitas (JOUVENAZ et al., 1981, JOUVENAZ, 1983).

Esforços similares a estes, porém para outras espécies de formigas, poderiam revelar candidatos eficazes para o controle biológico em ambientes externos (PEREIRA; STIMAC, 1997).

Os ectoparasitas são organismos que atacam exteriormente e extraem seus nutrientes das formigas que os hospedam. A presença destes parasitas causa o enfraquecimento do hospedeiro e pode levar à morte e a um declínio da colônia. Os ácaros são os ectoparasitas mais comuns, embora muitos dos ácaros encontrados nas formigas apresentem uma relação mutualística com seus hospedeiros (HOLLOBLER; WILSON, 1990).

Os endoparasitóides completam seu desenvolvimento no interior da cavidade corporal das formigas. Muitas espécies de moscas e vespas têm sido identificadas parasitando formigas (DISNEY, 1980; FEENER, 1981; WALLER; MOSER 1990) e algumas espécies de moscas são consideradas agentes de biocontrole para as formigas lava-pés introduzidas nos Estados Unidos (PORTER et al., 1995). Apesar de estes parasitóides poderem causar a redução de populações de formigas em condições naturais, seus efeitos em populações urbanas irão depender da adequação destes parasitóides ao microclima urbano (PEREIRA; STIMAC, 1997).

Alguns insetos e outros artrópodes são conhecidos por ocorrerem em colônias de formigas e são denominados mirmecófilos (HOLLOBLER; WILSON, 1990). Dentre esses organismos, muitos têm potencial em parasitar. A biologia dos mirmecófilos não é bem estudada e, portanto a sua relação com as formigas não é bem compreendida. Sabe-se que alguns destes organismos são responsáveis por efeitos prejudiciais nas colônias de formigas (HOLLOBLER; WILSON, 1990), e estudos detalhados poderiam revelar seu potencial como agentes de controle biológico (PEREIRA; STIMAC; 1997).

Os predadores são organismos, usualmente insetos e outros artrópodes, que consomem insetos como sua principal fonte de alimentação. A utilização de predadores como as joaninhas e neurópteros é bem documentada para o controle de pragas de jardins e da agricultura. Predadores de formigas, principalmente os de rainhas recém fecundadas são relatados na literatura (WHITCOMB et al., 1973; NICHOLS; SITES, 1991. Apesar da predação ser muito importante na redução do número de rainhas recém fecundadas durante o estabelecimento de novas colônias, a alta capacidade reprodutiva das espécies de formigas compensa a mortalidade desses indivíduos reprodutivos (PEREIRA; STIMAC; 1997).

Os predadores de formigas variam de pequenos insetos (outras formigas e besouros) a grandes animais como aranhas, pássaros e mamíferos. O tamanho destes animais os torna indesejáveis como agentes de controles em residências (PEREIRA; STIMAC; 1997).

As vantagens e desvantagens citadas para os parasitas e parasitóides também valem para os organismos predadores. Entretanto, o maior problema dos predadores é que são pouco específicos e sua utilização como agentes de biocontrole deve ser cautelosa, uma vez que podem atingir organismos benéficos. Por exemplo, a introdução de espécies de formigas generalistas para o controle como sugerido por Buren (1983) pode ser perigoso, pois é impossível garantir que estas formigas não se tornem pragas. Apesar do uso de predadores generalistas como agentes de biocontrole ser possível, sua utilização deliberada em ambientes urbanos não é indicada. Assim como os parasitóides, problemas com doenças e entomofobia podem impedir a dispersão em massa de predadores para o controle de formigas em ambientes urbanos, principalmente em áreas internas (PEREIRA; STIMAC; 1997).

Os patógenos são organismos que causam doenças em formigas. São utilizados no controle biológico e não causam danos aos humanos e animais domésticos, exceto pela possibilidade de causarem reações alérgicas. Estes patógenos estão cada vez mais sendo considerados como formas de biocontrole de pragas agrícolas e urbanas, inclusive formigas (JOUVENAZ, 1986). Existe uma grande variação de efeitos desses patógenos sobre populações de insetos. Alguns causam doenças crônicas não levando à mortalidade imediata, mas enfraquecem os indivíduos e a colônia. Outros causam infecções agudas e a mortalidade dos insetos em poucos dias. Ambos os tipos têm sido propostos como formas de controle microbiano para diferentes espécies de pragas, mas os estudos são limitados quando se trata de formigas pragas (PEREIRA; STIMAC; 1997).

Em contraste como os parasitóides e predadores, os patógenos não se movem ativamente e podem ser contidos facilmente, prevenindo problemas em atividades humanas. Pelo fato de alguns patógenos serem aplicados na forma de esporos que infestam seus hospedeiros, nenhuma outra forma de substrato se faz necessária para sua nutrição e crescimento. Além disso, a biologia e ecologia desses organismos são relativamente simples e são mais rápidos em seu modo de ação quando comparados com os parasitas e parasitóides. Por sua rápida ação e sua não especificidade, os patógenos são considerados os principais organismos a ser utilizados como agentes de controle microbiano de formigas (PEREIRA; STIMAC; 1997).

Existe um certo grau de microbiofobia entre os humanos e seria necessário que programas educacionais fossem realizados para garantir que o controle microbiano de pragas urbanas seja seguro. Alguns fungos utilizados no controle de formigas podem causar reações alérgicas em pessoas sensíveis. Este fato deve ser considerado ao se formular um produto (PEREIRA; STIMAC; 1997).

Condições como temperatura e umidade podem afetar o desempenho dos patógenos após a aplicação. Tais condições também são importantes durante a estocagem dos produtos formulados com esses organismos, afetando seu tempo de prateleira. A requisição por condições ambientais específicas na estocagem e após a aplicação podem ser um entrave para a comercialização e adoção destes agentes de controle microbiano. As características das formulações contendo patógenos de formigas podem afetar a dose e a aplicação. Iscas formuladas com o fungo *B. bassiana* para o controle de formigas de áreas internas e externas, devem ser preparadas para sobreviver às condições ambientais e serem ainda atrativas para diferentes espécies de formigas. Para outras formulações também existem preocupações semelhantes quando se trata da sobrevivência dos patógenos e de sua aplicação (PEREIRA; STIMAC; 1997).

Muitos fatores afetam a presença e a eficácia dos patógenos em populações de insetos sociais. Os mais importantes são: (1) a genética das populações de insetos sociais (SHERMAN et al., 1988); (2) o comportamento social (OI; PEREIRA, 1993b) e (3) o ambiente da colônia. A variabilidade genética afeta à suscetibilidade das formigas às doenças. O comportamento social, como a limpeza das colônias, cuidado com a cria, e o *grooming* podem eliminar as unidades infectivas dos patógenos ou contribuir para a transmissão destes entre os indivíduos da colônia ou entre colônias. As condições ambientais das colônias podem favorecer os patógenos com sua temperatura e umidade além de protegê-los da radiação UV (PEREIRA; STIMAC; 1997).

Entretanto, as secreções produzidas pelas formigas e pelos simbiossitos presentes nas colônias podem ser prejudiciais aos microrganismos (JOUVENAZ et al., 1972, STOREY et al., 1991). Portanto a escolha de um agente de biocontrole deve ser adaptada ao máximo às condições de uma colônia de formigas (PEREIRA; STIMAC; 1997).

Pouco se sabe sobre doenças de formigas causadas por bactérias e sua ocorrência não é nem mesmo mencionada em trabalhos como Holldobler e Willson (1990). Entretanto, em outros Hymenoptera como as abelhas melíferas, as bactérias são importantes agentes de controle (PEREIRA; STIMAC; 1997).

As bactérias são geralmente encontradas como patógenos de larvas e pelo fato de a maioria dos estudos estar relacionada com observações e coletas de indivíduos adultos, a importância das bactérias infectando estágios larvais não é bem reconhecida. A falta de candidatos específicos é o maior obstáculo para o uso de bactérias para o controle de formigas. As vantagens estão na fácil reprodução e nos baixos custos de material relacionados com sua atividade biológica. Além disso, as bactérias usualmente infectam através do trato digestório e podem ser incorporadas em iscas atrativas para formigas (PEREIRA; STIMAC; 1997).

Os relatos sobre bactérias associadas com formigas podem ser divididos em três classes: (1) associações não patogênicas com adaptações ecológicas da bactéria às condições ambientais da colônia; (2) patógenos verdadeiros encontrados infestando formigas e; (3) patógenos de outros insetos testados contra formigas. O grupo dos patógenos verdadeiros pode atuar como vetor de toxinas ou outros agentes de controle no interior da colônia. As bactérias patogênicas de outros insetos têm sido testadas sem muito sucesso (JOUVENAZ et al., 1980; JOUVENAZ 1990; MILLER; BROWN, 1983). Apesar das bactérias isoladas de outros hospedeiros que não formigas causarem um baixo nível de mortalidade, as bactérias isoladas diretamente de formigas tornam este potencial de mortalidade maior (PEREIRA; STIMAC; 1997).

Os protozoários são relativamente fáceis de ser encontrados em adultos e crias de espécies de *Solenopsis*, pela sua abundância e tamanho grande. Porém estes organismos não foram encontrados em outras espécies de formigas (PEREIRA; STIMAC; 1997). Alguns protozoários são importantes na regulação de populações de formigas (BRIANO et al., 1995a) e têm sido considerados como agentes de controle biológico de formigas lava-pés (PATTERSON, 1994).

Dois microsporídeos têm recebido atenção em pesquisas com *Solenopsis* spp.: *Thelohania solenopsae* e *Vairimorpha invictae*. *T. solenopsae* foi encontrado nos Estados Unidos, demonstrando sua dispersão naturalmente entre as colônias. *V. invictae* causou um declínio das colônias a que estava associado, e está sendo atualmente avaliado quanto a sua especificidade em relação ao hospedeiro e suas formas de liberação nos Estados Unidos (OI; VALLES, 2009).

T. solenopsae é um patógeno intracelular obrigatório e foi observado pela primeira vez em espécimes de *S. invicta* conservados em álcool, coletados em 1973, em Cuiabá, Mato Grosso do Sul, Brasil (ALLEN; BUREN, 1974). Ele é relativamente comum em formigas lava-pés na América do Sul, sendo encontrado em 25% dos levantamentos realizados (BRIANO et al., 1995b; 2006). Desde seus primeiros relatos, foi demonstrado que as colônias infectadas

eram menores e menos vigorosas (ALLEN; BUREN, 1974). Subsequentes observações na América do Sul sugeriram que as infecções por *T. solenopsae* eram crônicas e provocavam doenças causando um declínio da população destas formigas rapidamente (ALLEN; KNELL, 1980).

A descoberta de *T. solenopsae* nos Estados Unidos em 1996, (WILLIAMS et al., 2003) e sua habilidade em iniciar infecções transferindo crias de colônias infectadas (OI et al., 2001) permitiu ainda documentações de efeitos prejudiciais em colônias de *S. invicta* nos Estados Unidos.

Inoculações em colônias de laboratório contendo uma ou várias rainhas resultaram em 88 e 100% de redução das crias com 29 e 52 semanas após a inoculação, respectivamente. As rainhas de colônias infectadas pesam menos, apresentam uma diminuição na oviposição e morrem antes das rainhas de colônias saudáveis (OI; WILLIAMS, 2002). Evidências de transmissão transovariana também foram reportadas tanto em *S. richteri* quanto em *S. invicta* (VALLES et al., 2002).

V. invictae, outro microsporídeo também descrito em *S. invicta*, foi coletado no início de 1980 em colônias no Mato Grosso do Sul, Brasil (JOUVENAZ; WOJCIK, 1981). Este protozoário foi detectado em 2,3% de 2528 colônias de *S. invicta* e *S. richteri* em 13% dos 154 lugares visitados na Argentina no período de 1991-1999.

Evidências da patogenicidade desse protozoário em laboratório foram observadas, incluindo a rápida mortalidade entre os indivíduos infectados, operárias adultas não se alimentando e altas taxas de infecção entre formigas mortas e vivas (BRIANO; WILLIAMS, 2002).

A especificidade em relação a seus hospedeiros faz com que a utilização de *V. invictae* como agente de controle biológico seja favorável. Os estudos estão em andamento para garantir a aprovação da sua liberação (OI; VALLES, 2009).

Os protozoários patogênicos são altamente específicos e, portanto, bons candidatos a serem introduzidos em áreas naturais. Entretanto, sua complexa biologia, incluindo a necessidade em utilizar um hospedeiro intermediário ou alternado, em alguns casos pode complicar o uso destes organismos em programas de controle. Outro fator a ser considerado é que os protozoários dependem de um hospedeiro vivo e a sua produção em grande escala pode ser difícil (PEREIRA; STIMAC; 1997).

Embora os vírus sejam considerados importantes agentes de controle biológico contra vários insetos praga (LACEY et al., 2001), seu potencial de controle contra formigas *Solenopsis* não tem sido bem examinado. Através da utilização das técnicas moleculares,

alguns vírus infestando formigas lava-pés nos Estados Unidos têm sido descobertos e caracterizados. *Solenopsis invicta* vírus-1 pode ser transmitido facilmente para colônias não infestadas resultando geralmente na morte da colônia. Este vírus aparentemente causa infecções persistentes e assintomáticas e se replicam quando o hospedeiro está em condições de estresse (OI; VALLES, 2009).

Por seu diminuto tamanho, os vírus são provavelmente negligenciados quando a mortalidade de formigas em colônias é observada. A ausência de estudos nesta área não os torna possíveis agentes de biocontrole, apesar de muitas viroses serem conhecidas em outros Hymenoptera (BAILEY, 1973). As dificuldades em sua produção, por necessitar de um hospedeiro vivo, também impedem a utilização dos vírus no controle biológico (PEREIRA; STIMAC; 1997).

Os nematóides são comumente relatados ocorrendo em formigas (POINAR, 1975; BEDDING 1984), talvez pelo seu tamanho grande e pelas evidentes deformações causadas no corpo de seus hospedeiros. Apesar dos nematóides moverem-se ativa e independentemente como os parasitas e predadores, eles não são rápidos o suficiente para infestar formigas. As iscas podem facilitar a aplicação dos nematóides para o controle de formigas, porém, eles podem escapar das iscas e perder a oportunidade de encontrar seus hospedeiros (PEREIRA; STIMAC; 1997).

Estudos iniciais realizados por Poole (1976) e Quattlebaum (1980) demonstraram que os nematóides entomopatogênicos têm um potencial para controlar formigas *Solenopsis* sp.. Nestes estudos, os autores relatam que os nematóides possuem uma habilidade em invadir insetos adultos e, portanto, matar as rainhas das formigas (JOUVENAZ; LOFGREN, 1990). Embora algumas espécies de nematóides sejam descritas infestando formigas, a maioria destes organismos não tem um potencial para ser utilizado comercialmente como agentes de controle biológico (PEREIRA; STIMAC; 1997).

A utilização dos nematóides pode ser ineficaz em razão dos comportamentos das formigas. Pelo seu grande tamanho, as formigas podem rapidamente reconhecê-los e removê-los durante o *grooming*. Este reconhecimento pode engatilhar uma série de mudanças comportamentais que limitam a ação dos nematóides (DREES et al., 1992).

Os fungos são os patógenos mais frequentes reportados em populações de formigas. Esta frequência de trabalhos não significa que eles sejam os patógenos naturais mais importantes (OI; PEREIRA, 1993b). Outras razões influenciam o reconhecimento dos fungos como patógenos de formigas, como suas peculiares estruturas e mudanças causadas no

comportamento das formigas. Formigas infestadas por fungos podem mudar seu tempo de forrageamento (POINAR et al., 1989) ou mudarem-se para outras áreas (EVANS, 1982).

Pelos muitos exemplos de epizootias em populações de formigas (EVANS, 1974; 1982; 1989; EVANS; SAMSON, 1984), os fungos são excelentes candidatos para o controle biológico de formigas. As ocorrências naturais podem demonstrar que estes patógenos podem espalhar-se por toda a colônia e afetar um grande número de indivíduos (PEREIRA; STIMAC; 1997).

Os fungos *Conidiobolus* e *M. anisopliae* foram detectados em 0,3 e 0,5%, respectivamente, em aproximadamente 1000 rainhas de *S. invicta* coletadas no Texas. (SANCHEZ-PENA, 1992).

Diferentemente dos outros patógenos, a infecção por fungos ocorre através da cutícula dos hospedeiros. Esta penetração através da cutícula representa um obstáculo quando iscas são utilizadas. Outras iscas que são ingeridas sem muito contato com a parte externa no inseto não são eficazes. As formulações utilizadas devem promover o contato entre os esporos dos fungos e a cutícula das formigas (PEREIRA; STIMAC; 1997).

Várias espécies de fungos, como *B. bassiana* e *M. anisopliae* têm um grande potencial de serem desenvolvidas comercialmente como agentes de biocontrole (ALVES et al., 1988; Oi et al. 1994; PEREIRA et al., 1993a; STIMAC et al., 1987; STIMAC; ALVES, 1994). Estes fungos têm demonstrado eficácia e outras vantagens sobre os produtos químicos no controle de pragas (LOUREIRO; MONTEIRO, 2004).

Silva e Diehl-Fleig (1988) testaram diferentes linhagens de *B. bassiana* e *M. anisopliae* como possíveis agentes de controle microbiológico de *Atta sexdens piriventris*, espécie de grande ocorrência no Estado do Rio Grande do Sul. Por meio de bioensaios em laboratórios e testes de campo os autores concluíram que os fungos poderiam ser empregados como agentes de controle da formiga. Colônias de *A. sexdens piriventris*, inoculadas com os fungos apresentaram redução total de atividade externa 60 dias após a aplicação dos patógenos e esta situação manteve-se em observações realizadas até três anos após. Em áreas sem cobertura florestal, os fungos *B. bassiana* e *M. anisopliae* foram encontrados infectando *S. invicta* e *A. sexdens piriventris* (ALLEN; BUREN, 1974; DIEHL-FLEIG et al., 1988; PEREIRA 1993a).

Estudos de laboratório têm demonstrado que *M. anisopliae* e *B. bassiana* podem causar 100% de mortalidade de grupos isolados de formigas cortadeiras (ALVES; SOSA GÓMEZ 1983; BLOWERS 1994; JACCOUD 1996; KERMARREC et al., 1986; LIMA et al., 1986; SILVA; DIEHL-FLEIG 1988). Segundo Quiroz (1996), os fatores de mortalidade mais importantes para rainhas de *Atta mexicana* são os fungos entomopatogênicos. Em

levantamentos realizados pelo autor, no México, foram identificadas várias espécies, destacando-se nos ensaios de patogenicidade *B. bassiana* e *Paecilomyces farinosus*, como os mais promissores no controle biológico.

Entretanto os experimentos demonstram uma menor eficácia quando há a aplicação destes fungos em colônias completas (KERMARREC; DECHARME, 1982; KERMARREC et al., 1986). Esta baixa eficácia em colônias é atribuída a diversas respostas comportamentais e fatores químicos (JACCOUD et al., 1999).

As formigas cortadeiras são extremamente eficientes no reconhecimento de agentes danosos para a colônia, como os microrganismos entomopatogênicos (KERMARREC; DECHARME, 1982; KERMARREC et al., 1986). Elas prontamente removem qualquer material contaminado para fora do ninho, incluindo formigas mortas e desta forma, previnem a dispersão de contaminação para outros membros da colônia (KERMARREC et al., 1986).

O controle biológico microbiano de formigas cortadeiras tem sido questionado devido ao fato desses insetos sociais reconhecerem agentes patogênicos e emitirem reações comportamentais de defesa (KERMARREC et al., 1986).

Apesar de todos os mecanismos de defesa que as formigas cortadeiras possuem, alguns trabalhos relatam o sucesso na utilização de controle biológico dessas espécies. Silva e Diehl-Fleig (1988) observaram uma redução no forrageamento de adultos de *A. sexdens piriventris* após seis dias da aplicação de suspensões de esporos ou formulações em pó de *B. bassiana* e *M. anisopliae*. Trabalhos em campo em colônias de *Acromyrmex* atingiram mais de 87% de controle com esporos de *B. bassiana* formulados em grãos de arroz e aplicados diretamente nos jardins de fungo (DIEHL-FLEIG et al., 1993; SILVA et al., 1993).

Os fungos entomopatogênicos possuem um bom potencial como agentes de controle biológico de formigas cortadeiras. Porém, a maioria dos estudos concentra-se quase que exclusivamente na realização do controle e não há um exame detalhado da epizootiologia da infecção entomopatogênica dentro das colônias dessas formigas (JACCOUD et al., 1999).

Com relação às espécies de formigas invasoras, o controle biológico de *Solenopsis* spp. é especialmente realizado com patógenos, e tal forma de controle é vista por muitos pesquisadores como a única tática sustentável de supressão dessas formigas. Pesquisas baseadas em microscopia conduzidas na América do Sul durante as décadas de 70 e 80 levaram à descoberta de alguns fungos infestando formigas lava-pés. O fungo *B. bassiana* 447 (ATCC 20872; Bb447) causa mortalidade, mas as infecções não são espalhadas para as rainhas e uma transmissão intercolonial não foi evidenciada (OI; VALLES, 2009).

Testes de campo e em laboratório têm demonstrado o potencial dos fungos entomopatogênicos para o controle de formigas lava-pés (BROME 1974; OI et al., 1994; PEREIRA et al., 1993b; STIMAC et al., 1987). O fungo *B. bassiana* foi testado como ingrediente em iscas para várias formigas urbanas pragas, como lava-pés, formigas carpinteiras e formiga do faraó. Os resultados demonstraram que este fungo pode ser eficaz em iscas comerciais contra algumas espécies de formigas (PEREIRA; STIMAC; 1997).

A espécie *S. richteri* é suscetível a *B. bassiana* tanto em estágios larvais quanto em adultos. Neste trabalho, foi observada uma mortalidade de 90% (BROOME, 1974).

Experimentos de laboratório revelaram que *B. bassiana* causa morte quando é borrifada na superfície do solo, quando é injetada no interior dos ninhos, ou quando os conídios são misturados no solo (STIMAC et al., 1993). Injeções de conídios formulados em pó foram os tratamentos mais efetivos, pois ocorre um melhor contato com o fungo e seu hospedeiro e são necessárias pequenas doses para um resultado promissor. Além disso, o controle de *S. invicta* foi obtido através da aspersão de suspensões de conídios em condições de laboratório (STIMAC et al., 1993).

Oi e seus colaboradores (1994) avaliaram que a aplicação do fungo *B. bassiana* em colônias de *S. invicta* em laboratório não causa alta mortalidade e sim repelência das operárias. Já em campo a mesma formulação ocasiona a migração das colônias.

Na maioria dos experimentos de campo o fungo *B. bassiana* não é efetivo, isso porque as formigas não mantêm o contato com o fungo tempo suficiente para que a infecção ocorra. Em testes prévios *S. invicta* removem as iscas contendo o fungo que são colocadas diretamente nos ninhos, não promovendo a redução de suas populações. Entretanto, iscas com óleo de amendoim aumentam a dispersão destes *pellets* de fungos e reduz a população das formigas (BEXTINE; THORVILSON, 2004).

Isolados de *B. bassiana* 447 em *S. invicta* no Brasil foram avaliados contra as formigas lava-pés no final dos anos 80. Este fungo pode ser cultivado eficientemente em arroz para a produção de esporos (STIMAC et al., 1993; STIMAC; ALVES, 1994). Quando adultos de *S. invicta* receberam aspersão direta com suspensões de 10^8 esporos/mL de *B. bassiana* 447, praticamente ocorreu 100% de mortalidade e a evidência da mortalidade apareceu em 88% dos cadáveres (PEREIRA et al., 1993b). Entretanto, aplicações em campo de várias formulações de esporos deste mesmo fungo diretamente sobre os ninhos fizeram com que 48 a 100% dos ninhos permanecessem ativos ou houvesse mudança de local. A infecção foi confirmada em 52 a 60% de formigas adultas e foram observadas pilhas de crias infectadas (OI et al., 1994).

A ineficácia do controle biológico utilizando-se fungos em condições de campo pode ser resultado de uma série de fatores. A transmissão entre colônias pode ser limitada pelo comportamento de higiene das formigas, como a remoção dos esporos pelo *grooming* e o descarte dos cadáveres para fora da colônia antes da esporulação do fungo (OI; PEREIRA 1993b; SIEBENEICHER et al., 1992). O veneno das formigas lava-pés pode também inibir a germinação dos conídios de *B. bassiana* (STOREY et al., 1991).

Em adição às aplicações diretas de esporos nos ninhos de formigas, formulações de iscas têm sido desenvolvidas com *B. bassiana* 447 e outros isolados desta mesma espécie de fungo. Entretanto, o contato com os esporos e a germinação na cutícula das formigas devem existir para que a infecção ocorra. As formulações que promovem este contato e são atrativas são as mais adequadas (PEREIRA; STIMAC; 1997).

Há mais de 20 anos Jouvenaz (1986) discutia as restrições da utilização de patógenos para o controle biológico de *Solenopsis* spp. O que estava faltando era o conhecimento da biologia dos patógenos das formigas, assim como o modo de transmissão entre as colônias e de métodos eficazes para o isolamento destes patógenos. Exames utilizando-se da microscopia revelaram fungos e outros microrganismos formadores de esporos, e agora as técnicas moleculares têm permitido a descoberta e caracterização de vírus. A biologia molecular continuará contribuindo para o aumento dos conhecimentos na biologia e ecologia dos patógenos da formigas lava-pés e devem desempenhar um papel importante na solução das limitações das transmissões de patógenos entre formigas (OI; VALLES, 2009).

As espécies de *Solenopsis* e sua alta capacidade reprodutiva, mobilidade, e adaptabilidade, tornam a sua erradicação assustadora na melhor das hipóteses. O controle biológico auto-sustentável é um dos poucos, porém não o único, método de controle que oferece a possibilidade de uma longa supressão. Outros patógenos de formigas lava-pés devem ser encontrados, estudados e introduzidos para o controle destas infestações. Pesquisas em andamento utilizando-se patógenos para o controle biológico e o controle microbiano de formigas *Solenopsis* devem fornecer mais benefícios mensuráveis e promover modelos utilizáveis para o controle de outras formigas invasoras (OI; VALLES, 2009).

6. MATERIAL E MÉTODOS

6.1 Ocorrência de entomopatógenos em colônias de formigas invasoras no Brasil

6.1.1 Coletas

Foram coletadas amostras de solo de formigueiros em regiões com ocorrência de populações de espécies invasoras, que nesses locais ocasionam impactos na população de formigas nativas. Também foram realizadas coletas em solos de formigueiros de espécies invasoras, cujas populações encontravam-se em equilíbrio.

As áreas consideradas infestadas ou em equilíbrio foram definidas por meio de observações da quantidade de ninhos por metro quadrado. Para a elaboração da metodologia deste estudo, a metragem das áreas visitadas foi transformada em hectare para melhor comparação com outros trabalhos. Segundo Lofgren e Williams (1984), Porter (1992), Porter et al. (1991), Porter et al. (1992), Malcom e Porter (1996), Porter et al. (1997), Milks et al. (2007), o número de ninhos por hectare nos Estados Unidos em áreas consideradas altamente infestadas por formigas lava-pés, varia de 170 a 640 ninhos por hectare. Nossas observações nas regiões Sul, Sudeste e Centro-Oeste do Brasil não demonstraram esta densidade nas áreas invadidas por espécies de formigas. Segundo Williams, (1995) poucos são os casos conhecidos no Brasil de níveis elevados de infestação *S. invicta* ou mesmo por outras espécies muito próximas a ela. Nos ambientes alterados pela atividade humana pode ocorrer aumento na densidade populacional das formigas lava-pés, ocasionando os mesmos problemas de outras regiões do mundo onde foram introduzidas; porém, são pouco divulgados. Um caso de infestação de grande proporção pelas formigas lava-pés ocorreu no início dos anos 1990, quando invadiram a cidade de Envira no Estado do Amazonas causando calamidade pública. Outras cidades daquele Estado passam por situação semelhante, como Eirunepé, e em Macapá, há altos índices de ocorrência. A presença dessa formiga em monocultura de Paricá, no sudeste do estado do Pará, vem causando danos econômicos consideráveis (LUNZ et al. 2007, 2009).

Diante de nossas observações nas regiões Sul, Sudeste e Centro-Oeste do Brasil, as áreas com 40 ninhos por hectare foram consideradas infestadas e abaixo de 40 ninhos por hectare, áreas em equilíbrio.

As coletas não foram realizadas em igual número em todos os Estados, uma vez que os locais foram visitados de acordo com informações recebidas sobre a ocorrência das diferentes espécies de formigas.

Foram realizadas duas coletas para cada formigueiro, sendo uma amostra de solo do próprio formigueiro e outra, que será denominada amostra controle, do solo a uma distância de 3 metros do ninho. As amostras foram retiradas a uma profundidade de 10 a 15 centímetros com o auxílio de uma pá e imediatamente colocadas em sacos plásticos e levadas ao laboratório para processamento (Figuras 1 e 2). Nestas coletas, eventualmente, algumas formigas foram levadas junto com o solo para o laboratório, porém, foram descartadas posteriormente. As formigas foram identificadas sempre que possível em nível específico.

Figura 1. Ilustração da coleta de um formigueiro. Foto: Zarzuela, M.F.M.

Figura 2. Amostra de solo de formigueiro sendo armazenada em saco plástico para posterior análise em laboratório. Foto: Zarzuela, M.F.M.

6.1.2 Isolamento dos nematóides entomopatogênicos

As amostras de solo coletadas foram distribuídas dentro de frascos de vidro (600 mL), sendo um frasco para cada amostra, juntamente com 5 larvas de *Galleria mellonella* (Lepidoptera: Pyralidae), traça das colméias, obtidas de criação em laboratório, as quais serviram como iscas para nematóides entomopatogênicos possivelmente presentes no solo (Figura 3). Quando necessário, os frascos foram completados com água de forma a manter umidade suficiente para que os nematóides pudessem alcançar as larvas. Os frascos foram tapados e acondicionados em sala com temperatura ambiente e fotofase de 12 horas.

Após uma semana, as larvas encontradas mortas foram transferidas para Armadilha de White visando o isolamento e identificação dos nematóides. Essa armadilha consiste de uma placa de Petri de 9 cm de diâmetro. No centro da placa é disposta uma tampa plástica de 5 cm de diâmetro sobre a qual coloca-se uma folha de papel de filtro de 6 cm de diâmetro. A placa é preenchida com água até o nível da tampa plástica e o papel filtro permanece com a borda mergulhada na água. Sobre o papel filtro são depositados os cadáveres das larvas de *G. mellonella*, infestadas pelo nematóide que migra para a água facilitando sua coleta (Figura 4).

Figura 3. Amostras de solo acondicionadas em vidros junto com larvas de *Galleria mellonella* para isolamento de nematóides. Foto: Zarzuela, M.F.M.

Figura 4. Ilustração de uma Armadilha de White. Foto: Leite, L.G.

6.1.3 Isolamento dos fungos entomopatogênicos

Para isolamento de fungos entomopatogênicos foram utilizadas as mesmas amostras para coleta dos nematóides, sendo retirado 1g de solo perfazendo subamostras. As subamostras foram acrescidas a um volume de água na proporção de 1:100 (solo: água). Após agitação com auxílio de um aparelho do tipo Vortex, foram feitas diluições sucessivas, totalizando cem vezes e em seguida, foi feita a inoculação em meio de cultura (Dodini). Para isso, 0,1 mL da última diluição foi retirado em câmara de segurança biológica modelo Bioseg 12, Grupo Veco e inoculado na superfície de meio seletivo (Dodini) em placa de Petri e

ZARZUELA, M.F.M., 2010.

posteriormente espalhado com uma alça de Drigalsky. As placas foram incubadas invertidas (com o fundo voltado para cima) à $27^{\circ}\text{C} \pm 1$. O crescimento e a esporulação dos fungos foram avaliados entre 7 e 15 dias após a inoculação. Confirmada a presença do fungo na placa de Petri, este foi repicado mais uma vez para outra placa contendo meio de cultura B.D.A., tendo em vista garantir o isolamento do patógeno livre de contaminantes.

Os fungos isolados foram depositados na forma de conídios puros, em microtubos de 1,5 mL do tipo Ependorff® e acondicionados em “freezer” a -12°C para posterior aplicação nos formigueiros em laboratório. Estes isolados foram depositados na Coleção de Entomopatógenos Oldemar Cardim de Abreu do Instituto Biológico.

6.2 Suscetibilidade de colônias de *Monomorium floricola* em laboratório aos entomopatógenos

Colônias de *Monomorium floricola* (Hymenoptera: Formicidae) mantidas no Insetário do Instituto Biológico foram submetidas a testes para avaliar sua suscetibilidade aos entomopatógenos isolados das colônias em campo e aos entomopatógenos já existentes nas coleções do Instituto Biológico. A escolha desta espécie de formiga nesta etapa do trabalho deve-se ao fato de ser uma das principais espécies que causam problemas em áreas urbanas e por se tratar de um grupo de formigas com a metodologia de criação já bem estabelecida e bem sucedida em laboratório, o que facilita as análises.

Apesar dos entomopatógenos terem sido isolados de outras espécies de formigas invasoras, a proposta apresentada aqui é uma tentativa de encontrar uma forma de controle alternativa ao controle químico, além de observar a resposta destas formigas à aplicação de entomopatógenos, em condições de laboratório. Para tanto, foram avaliadas as eficiências dos microrganismos entomopatogênicos isolados dos formigueiros e dos microrganismos entomopatogênicos isolados de outros insetos já depositados na coleção do Instituto Biológico.

6.2.1 Suscetibilidade a Nematóides Entomopatogênicos

6.2.1.1 Colônias de *Monomorium floricola*

As colônias foram constituídas de placas de Petri (5 cm de diâmetro e 1 cm de profundidade) com as tampas pintadas com tinta plástica preta para diminuir a intensidade de luz. Foram feitas aberturas laterais para a entrada e saída das formigas e o fundo das placas foram preenchidos com gesso, moldados de maneira a formar uma cavidade na região central. No interior das placas foram depositadas operárias adultas (de 2 a 3 mil), rainhas ergatóides (formas intermediárias entre operária e rainha, que possuem espermateca e tipicamente substituem a casta de rainha como fêmeas reprodutivas) (no mínimo 5) e cerca de 3cm² de crias (ovos, larvas e pupas). Essas colônias foram colocadas, individualmente, no centro de uma bandeja plástica de 30 X 26 X 8 cm, revestida lateralmente por uma camada de Teflon-30 (Dupont) para evitar a saída das formigas (Figura 5).

Durante todas as etapas de experimentos e de manutenção da criação, as colônias foram mantidas em salas climatizadas com temperatura entre 25 e 28°C e alimentadas três vezes por semana com larvas de *Tenebrio molitor* (Coleoptera: Tenebrionidae), água e mel diluído em água na proporção de 1:1.

Figura 5. Bandeja plástica contendo ninho de *Monomorium floricola*. Foto: Justi Jr., J.

6.2.1.2 Nematóides utilizados

Os nematóides selecionados nesta etapa de testes estão listados na Tabela 1 e são pertencentes à Coleção de Culturas de Entomopatógenos Oldemar Cardim de Abreu do Instituto Biológico. Estes nematóides já possuem um potencial para o controle de pragas de importância agrícola e têm sua eficácia já estabelecida. Porém, sua utilização para o controle de espécies de formigas urbanas ainda é desconhecida.

Tabela 1. Identificação dos isolados de nematóides utilizados nos testes.

Isolado ¹	Nematóide	Procêdência	Local de Coleta
IBCB 02	<i>Steinernema carpocapse</i>	Amostra de solo	Flórida, EUA
IBCB 24	<i>Heterorhabditis</i> sp.	Larva de <i>Sphenophorus levis</i>	Piracicaba, SP

¹ Pertencente à Coleção de Culturas de Entomopatógenos “Odemar Cardim Abreu” do Instituto Biológico, Campinas, SP.

6.2.1.3 Testes

Foram utilizadas 5 colônias de *M. floricola* para cada isolado de nematóide além do grupo controle, totalizando 15 colônias.

Os nematóides foram preparados em uma solução aquosa contendo 5600 juvenis infectivos por mL (concentração usual utilizada para aplicações em outros insetos pragas) e aplicados com o auxílio de uma pipeta (2 mL da solução), diretamente no interior das colônias (placas de Petri). As avaliações de mortalidade foram feitas diariamente nos primeiros dez dias e três vezes por semana até a finalização dos testes. As formigas encontradas mortas foram retiradas com um pincel e colocadas em placas de Petri com papel filtro umedecidos e imediatamente armazenadas em B.O.D. à 25°. C para a confirmação da morte pelo nematóide. No caso do resultado positivo, esses nematóides saíam do corpo das formigas e ficariam sobre o papel filtro, sendo coletados e depositados em potes plásticos com uma fina camada de água e acondicionados em B.O.D à 25°.C para posterior identificação e encaminhamento para a Coleção de Culturas de Entomopatógenos “Odemar Cardim Abreu” do Instituto Biológico.

Semanalmente foram avaliadas as condições gerais das colônias tratadas utilizando-se a mesma metodologia proposta por Jacob (2002). Foram anotados, a quantidade de crias, quais as formas imaturas presentes, presença de crias aladas e adultos alados, número de rainhas ergatóides e o tamanho da colônia.

Estas observações foram feitas de modo padronizado. A quantidade de crias foi determinada a partir dos valores: N=0 - ausência de cria; P=1 - pequena quantidade de cria; R=2 - quantidade regular de cria e M=3 - grande quantidade de cria.

A presença de formas imaturas, embora esteja relacionada com a quantidade de cria, foi avaliada separadamente uma vez que é importante obter informações sobre a ausência de ovos, de larvas e de pupas independentemente para melhor caracterizar os efeitos dos entomopatógenos testados. Assim, N = ausência de crias; O = presença de ovos; L = presença de larvas e P = presença de pupas. Para a análise quantitativa as ocorrências foram consideradas da seguinte forma: 0 = ausência de cria; 1 = presença de um dos estágios; 2 = presença de dois estágios e 3 = presença de três estágios de desenvolvimento.

A presença ou não de crias de reprodutores, machos e fêmeas ergatóides foi avaliada contando-se: Sim = 1; Não = 0 e forneceram subsídios para a interpretação dos demais itens. Neste caso, o importante foi verificar a produção de formas sexuadas na tentativa de preservação da colônia, quando as condições começassem a ficar desfavoráveis.

Finalmente, para o item tamanho da colônia foi atribuído: G= 3, quando a colônia apresentasse condições normais; M= 2, início de redução do tamanho inicial e também comparado com o controle; P= 1, redução acentuada das condições quando comparado com o controle e M= 0; extinção da colônia.

6.2.2 Suscetibilidade a Fungos Entomopatogênicos

6.2.2.1 Colônias de *Monomorium floricola*

As colônias de *M. floricola* utilizadas para este teste foram constituídas da mesma forma que o item “A” de “6.2.1 Suscetibilidade a Nematóides Entomopatogênicos”.

6.2.2.2 Fungos utilizados

Os fungos escolhidos neste trabalho estão descritos na Tabela 2. Os isolados pertencentes à Coleção de Culturas de Entomopatógenos “Odemar Cardim Abreu” do Instituto Biológico foram selecionados por serem conhecidos por seu sucesso no controle de outras pragas e por terem sido isolados inicialmente de outros insetos, não formigas. As demais espécies de fungos foram isoladas dos ninhos amostrados neste trabalho.

Tabela 2. Identificação dos isolados de fungos utilizados nos testes.

Isolado	Fungo	Procedência	Local de Coleta
Bb 66 ¹	<i>Beauveria bassiana</i>	<i>Hypothenemus hampei</i>	São José de Rio Pardo (São Paulo)
Ma 425 ¹	<i>Metharhizium anisopliae</i>	Lagarta	Petar – Iporanga (São Paulo)
P 405 ¹	<i>Paecilomyces</i> sp.	Lagarta	Espiro Santo do Pinhal (São Paulo)
Bb 25	<i>Beauveria bassiana</i>	Solo de <i>Solenopsis</i> sp.	São Paulo (São Paulo)
Ma 16	<i>Metharhizium anisopliae</i>	Solo de <i>Solenopsis</i> sp.	Corumbá (Mato Grosso do Sul)
P 40	<i>Paecilomyces</i> sp.	Solo de <i>Solenopsis</i> sp.	São Paulo (São Paulo)

¹ Pertencente à Coleção de Culturas de Entomopatógenos “Odemar Cardim Abreu” do Instituto Biológico, Campinas, SP. Sendo IBCB 66 = Bb66; IBCB 425=Ma 425 e IBCB 405= P 405.

6.2.2.3 Testes

Assim como no bioensaio para nematóides, foram utilizadas 5 colônias de *M. floricola* para cada isolado de fungo, além do grupo controle, totalizando 65 colônias.

Os fungos foram multiplicados por meio de semeadura em placas de Petri contendo meio de batata-dextrose-ágar (BDA) (ALVES, 1998). Após semeadura, as placas foram transferidas para incubação em câmara B.O.D à 27 °C e fotofase de 12 horas, por um período de até 12 dias. Após esse período, os conídios foram retirados por meio de raspagem com alça de níquel-cromo e utilizados para a confecção das suspensões, preparadas em solução de água destilada estéril e espalhante adesivo (Tween 80[®]) a 0,1%. A contagem dos conídios foi feita em câmara de Neubauer sob microscópio ótico Zeiss, com aumento de 40x.

Após atingir as concentrações desejadas, que são frequentemente utilizadas para a aplicação em outros insetos pragas, ($1,0 \times 10^7$ conídios por mL e $1,0 \times 10^8$ conídios por mL para cada um dos isolados) foi feita a aplicação em cada colônia com 1 mL de cada solução. Esta aplicação foi realizada com o auxílio de um aplicador manual adaptado para pequenas superfícies a uma altura de 20 cm da colônia. No momento da aplicação todos os indivíduos (fêmeas ergatóides, operárias e crias) foram atingidos por uma chuva fina da solução de fungos entomopatogênicos. O grupo controle recebeu a aplicação da mesma forma, porém apenas com água.

A avaliação da mortalidade foi realizada da mesma forma utilizada para o bioensaio de nematóides incluindo-se as avaliações semanais das condições gerais das colônias. As formigas mortas foram retiradas das bandejas com o auxílio de um pincel umedecido e colocadas em placas de Petri juntamente com um algodão umedecido e colocadas em B.O.D à

15°C durante 15 dias para a confirmação da morte, que foi obtida através da observação da extrusão dos fungos nos cadáveres.

6.3 Avaliação dos dados

Foram elaborados gráficos e tabelas para a análise dos resultados das coletas de formigas. Estas análises foram feitas de forma descritiva. Para avaliar a frequência de formigas nas áreas de coleta (equilíbrio e infestada) foi utilizado o teste do Qui-quadrado de Pearson e para se obter uma melhor resposta as demais espécies (*L. humile*, *B. pictus* e *P. fulva*, que tiveram menor frequência de ocorrência) foram agrupadas.

Para os dados obtidos sobre a ocorrência de entomopatógenos em colônias de formigas invasoras foram elaboradas tabelas para a ilustração comparativa dos resultados.

Foi elaborado um cruzamento da presença de entomopatógenos entre os ninhos de formigas e seus controles. Ou seja, em cada um dos 70 pares de coletas foram verificados os resultados simultâneos no ninho e a 3 metros dele. Nestas análises teremos sempre quatro possibilidades: não encontrar nada em nenhum dos locais, encontrar entomopatógenos somente nos ninhos, encontrar entomopatógenos somente no controle e encontrar entomopatógenos nos dois locais. A partir desses quatro valores pudemos verificar se houve maior presença de fungos e/ou nematóides em um dos locais por meio do teste de McNemar.

Esta avaliação foi feita e analisada estatisticamente da mesma forma para os nematóides e fungos separadamente e posteriormente para cada espécie de entomopatógeno isolado.

Os nematóides e fungos isolados e suas respectivas frequências foram analisados em tabelas. Os resultados dos nematóides e fungos presentes nas duas áreas de coleta (equilíbrio e infestadas) foram demonstrados em tabelas e analisados pelo teste Exato de Fisher e pelo teste do Qui Quadrado de Pearson.

A avaliação de presença de nematóides e fungos por espécie de formiga foi representada em tabela e avaliada estatisticamente pelo teste Exato de Fisher. Também para esta análise as demais espécies de formigas (menos frequentes) foram agrupadas.

Para analisar e comparar a mortalidade de *M. floricola* nos testes de laboratório foi utilizada a análise de variância para medidas repetidas (*Repeated Measures* ANOVA), seguida do teste post-hoc de Tukey para comparações múltiplas entre os grupos e do teste de perfil por contrastes (*Profile test*) para comparação entre os tempos. Foi utilizada a transformação por postos (*ranks*) para homogeneidade de variância e distribuição Normal.

A avaliação das condições gerais das colônias foram representadas graficamente, utilizando os índices descritos no item 6.2.1 (Suscetibilidade a Nematóides Entomopatogênicos). Para a elaboração dos gráficos e melhor visualização e interpretação dos resultados, tais índices foram transformados em porcentagens.

O nível de significância adotado para os testes estatísticos foi de 5% ($p < 0.05$).

7. RESULTADOS E DISCUSSÃO

7.1 Coletas

Foram realizadas coletas em 70 locais, sendo 35 em áreas com população de formigas em equilíbrio e 35 em áreas infestadas (Tabela 3). Os Estados onde foram realizadas as coletas foram São Paulo, Minas Gerais, Rio Grande do Sul, Mato Grosso do Sul e Rio de Janeiro (Figura 6).

As espécies encontradas foram *Solenopsis* spp., *Linepithema* spp., *Paratrechina fulva* e *Brachymyrmex pictus*. A maioria das formigas coletadas pertencia ao gênero *Solenopsis*, com 80% (56) de frequência, em seguida *Linepithema* spp. 11,43% (8); *B. pictus*. 5,71% (4) e *P. fulva* 2,86% (2) (Figura 7). As quatro espécies foram coletadas no Estado de São Paulo. No Rio Grande do Sul e Mato Grosso do Sul coletou-se *Linepithema* spp. e *Solenopsis* spp., nos demais Estados, somente *Solenopsis* spp. (Figura 8)

Tabela 3. Cidades em que foram realizadas as coletas e seus pontos de coordenadas geográficas.

Amostra	Área	Cidade	Estado	Complemento	GPS
1	infestada	Limeira	SP	Bairro Tatu - Estrada	S 22°33'52"/ O 47°23'51"
2	infestada	Bento Gonçalves	RS	Aurora	S 29°09'38"/ O 51°30'38"
3	equilíbrio	Estiva	MG	Ribeirão das Pedras	S 22°28'59"/ O 46°01'2.95"
4	equilíbrio	Estiva	MG	Ribeirão das Pedras	S 22°28'59"/ O 46°01'2.95"
5	equilíbrio	Pouso Alegre	MG	Local do acidente	S 22°13'47.36"/ O 45°56'15.60"
6	infestada	Corumbá	MS	Passo da Lontra	S 19°34'25"/ O 57°02'10"
7	infestada	Bento Gonçalves	RS	Pinto Bandeira – Sítio Pastorello	S 29°02'59.6"/ O 51°28'15.8"
8	infestada	Bento Gonçalves	RS	Pinto Bandeira - Sítio Pastorello	S 29°02'59.6"/ O 51°28'15.8"
9	infestada	Limeira	SP	Bairro Tatu	S 22°38'56"/ O 47°21'08.5"
10	infestada	Limeira	SP	Bairro Tatu	S 22°38'56"/ O 47°21'08.5"
11	equilíbrio	Ubatuba	SP	Praia do Lázaro	S 23°30'21.5"/ O 45°07'55.6"
12	equilíbrio	Ubatuba	SP	Picinguaba	S 23°19'01.7"/ O 44°54'04.2"
13	infestada	Pindamonhangaba	SP	Distrito Industrial Dutra	S 22°58'36.4"/ O 45°28'02.0"
14	infestada	Pindamonhangaba	SP	Distrito Industrial Dutra	S 22°58'36.4"/ O 45°28'02.0"
15	infestada	Bento Gonçalves	RS	Pinto Bandeira - Sítio Pastorello	S 29°02'59"/ O 51°28'15"
16	infestada	Corumbá	MS	Porto Morrinho - Jundipesca	S 19°30'31.2"/ O 57°26'4.8"
17	infestada	Corumbá	MS	Fazendinha	S 18°45'11"/ O 57°07'9.4"
18	infestada	Corumbá	MS	Índio Divino	S 18°50'00.4"/ O 57°18'59.2"
19	infestada	Ladário	MS	Hotel Anzol de Ouro	S 19°01'02.7"/ O 57°34'11.5"
20	equilíbrio	Rio de Janeiro	RJ	Pedra do Rio	S 22°20'32.64 /O 43°7'58.96
21	equilíbrio	Rio de Janeiro	RJ	Pedra do Rio	S 22°20'32.64 /O 43°7'58.97
22	equilíbrio	São Paulo	SP	Instituto Biológico	S 23°35'14.09"/ O 46°38'57.85"
23	equilíbrio	São Paulo	SP	Instituto Biológico	S 23°35'15.32"/ O 46°38'54.70"

24	equilíbrio	São Paulo	SP	Instituto Biológico	S 23°35'15.31"/ O 46°38'54.16"
25	equilíbrio	São Paulo	SP	Instituto Biológico	S 23°35'15.19"/ O 46°38'55.80"
26	equilíbrio	São Paulo	SP	Instituto Biológico	S 23°35'13.54"/ O 46°38'57.10"
27	equilíbrio	São Paulo	SP	Instituto Biológico	S 23°35'12.81"/ O 46°38'56.77"
28	equilíbrio	São Paulo	SP	Parque Ibirapuera	S 23°35'22.86"/ O 46°39'29.97"
29	equilíbrio	São Paulo	SP	Parque Ibirapuera	S 23°35'23.66"/ O 46°39'30.17"
30	equilíbrio	Rio Claro	SP	Fazenda São José	S 22°22'25.44"/ O 47°28'26.61"
31	infestada	Barra Bonita	SP	Igreja	S 22°29'40.49"/ O 48°33'23.58"
32	infestada	Barra Bonita	SP	Igreja	S 22°29'39.30"/ O 48°33'22.87"
33	infestada	Barra Bonita	SP	Área residencial	S 22°29'44.47"/ O 48°33'48.95"
34	infestada	Barra Bonita	SP	Área residencial	S 22°29'45.97"/ O 48°33'48.22"
35	infestada	Itupeva	SP	Parque dos Cafezais IV	S 23°09'56.49"/ O 47°05'14.54"
36	infestada	Itupeva	SP	Parque dos Cafezais IV	S 23°09'56.17"/ O 47°05'13.93"
37	equilíbrio	Andradas	MG	Pouso Sul	S 22°02.312'/ O 046°37.779'
38	equilíbrio	Andradas	MG	Pouso Sul	S 22°02.303'/ O 046°37.783'
39	infestada	São Paulo	SP	Parque Villa Lobos	S 23°32.876'/ O 046°43.446'
40	infestada	São Paulo	SP	USP - Educação Física	S 23°33.764'/ O 046°42.775'
41	infestada	São Paulo	SP	USP - Educação Física	S 23°33.717'/ O 046°42.771'
42	equilíbrio	Rancharia	SP	Jardim Paraíso	S 22°13'35.18"/ O 50°54'25.10"
43	equilíbrio	São Paulo	SP	Parque da Água Branca	S 23°31.756'/ O 046°40.190'
44	equilíbrio	São Paulo	SP	Parque da Água Branca	S 23°31.756'/ O 046°40.190'
45	equilíbrio	São Paulo	SP	Parque da Água Branca	S 23°31.756'/ O 046°40.190'
46	infestada	São Paulo	SP	Detran	S 23°35.459'/ O 046°39.009'
47	infestada	São Paulo	SP	Parque da Luz	S 23°31.976'/ O 046°39.074'
48	infestada	São Paulo	SP	Parque da Luz	S 23°31.977'/ O 046°38.081'
49	infestada	São Paulo	SP	Parque da Luz	S 23°31.967'/ O 040°38.178'
50	equilíbrio	Itupeva	SP	Parque dos Cafezais IV	S 23°09'55.36"/ O 47°05'13.80"
51	equilíbrio	Itupeva	SP	Cafezal IV - Al. dos Cravos	S 23°09'58.85"/ O 47°05'08.42"
52	equilíbrio	Itupeva	SP	Cafezal IV - Al. dos Antúrios	S 23°09'48.25"/ O 47°05'21.08"
53	infestada	Botucatu	SP	Rotatória	S 22°51.571'/ O 048°26.503'
54	infestada	Botucatu	SP	Rotatória	S 22°51.590'/ O 048°26.471'
55	equilíbrio	Itupeva	SP	Parque dos Cafezais IV	S 23°09'53.52"/ O 47°05'13.01"
56	equilíbrio	Itupeva	SP	Estrada do Resedás	S 23°09'37.53"/ O 47°05'10.10"
57	equilíbrio	Itupeva	SP	Rua Ernesto Almeida	S 23°09'54.51"/ O 47°04'38.83"
58	equilíbrio	Itupeva	SP	Rua Ernesto Almeida	S 23°09'49.78"/ O 47°04'40.99"
59	equilíbrio	Itupeva	SP	Rua Benedito	S 23°09'56.96"/ O 47°04'44.86"
60	infestada	Monte Verde	MG	Entrada da cidade	S 22°51'53.69"/ O 46°02'43.36"
61	infestada	Monte Verde	MG	Entrada da cidade	S 22°51'53.30"/ O 46°02'41.88"
62	infestada	Monte Verde	MG	Entrada da cidade	S 22°51'52.91"/ O 46°02'40.28"
63	infestada	Monte Verde	MG	Entrada da cidade	S 22°51'52.57"/ O 46°02'38.31"
64	infestada	Monte Verde	MG	Entrada da cidade	S 22°51'53.05"/ O 46°02'38.76"
65	infestada	Monte Verde	MG	Entrada da cidade	S 22°51'52.27"/ O 46°02'37.54"
66	equilíbrio	São Paulo	SP	Alto de Pinheiros	S 23°33'25.62"/ O 46°42'04.82"
67	equilíbrio	São Paulo	SP	Alto de Pinheiros	S 23°33'25.31"/ O 46°42'06.02"
68	equilíbrio	São Paulo	SP	Alto de Pinheiros	S 23°33'25.51"/ O 46°42'07.43"
69	equilíbrio	São Paulo	SP	Alto de Pinheiros	S 23°33'26.48"/ O 46°42'05.50"
70	equilíbrio	São Paulo	SP	Alto de Pinheiros	S 23°33'26.58"/ O 46°42'07.74"

Figura 6. Porcentagem de coletas em diferentes Estados (áreas infestadas e em equilíbrio).

Figura 7. Espécies de formigas coletadas nos diferentes Estados brasileiros

Figura 8. Total de espécies de formigas coletadas em áreas em equilíbrio e infestadas.

Nas áreas consideradas em equilíbrio, das espécies invasoras encontradas, somente foram coletadas *Solenopsis* spp (94,29%) e *P. fulva* (5,71%). Nas áreas consideradas infestadas *Solenopsis* spp. (65,71%) era prevalente, enquanto *Linepithema* spp. (22,86%) e *B. pictus* (11,43%) foram menos comuns. *P. fulva* não foi encontrada infestando grandes áreas (Tabela 4).

O teste Exato de Fisher ($p < 0,001$) e o teste do Qui-quadrado de Pearson ($p = 0,003$) revelaram que a maior frequência de *Solenopsis* spp. nas áreas em equilíbrio é significativa ao nível de 5% ($p < 0,05$) quando comparada com outras espécies separadamente ou quando agrupadas (Tabela 5).

Tabela 4. Frequência de ocorrência de ninhos de formigas coletados nas áreas em equilíbrio e infestadas.

Espécie de Formiga	Áreas em Equilíbrio	Áreas Infestadas	Total
<i>Brachymyrmex pictus</i>	0 (0%)	4 (11,43%)	4
<i>Linepithema</i> spp.	0 (0%)	8 (22,86%)	8
<i>Paratrechina fulva</i>	2 (5,71%)	0 (0%)	2
<i>Solenopsis</i> spp.	33 (94,29%)	23 (65,71%)	56
Total	35	35	70

Tabela 5. Frequência de ninhos de *Solenopsis* spp. versus demais espécies coletados nas áreas em equilíbrio e infestadas.

Espécie de Formiga	Áreas em Equilíbrio	Áreas Infestadas	Total
Demais espécies	2 (5,71%)	12 (34,29%)	14
<i>Solenopsis</i> spp.	33 (94,29%)	23 (65,71%)	56
Total	35	35	70

Linepithema spp., nativa da América do Sul (SUAREZ et al., 2001; TSUTSUI et al., 2001) é conhecida por dominar ambientes em que ocorre e por deslocar espécies nativas, (BOND; SLINGSBY, 1984; WARD, 1987; CAMMEL et al., 1996; HUMAN; GORDON, 1996, HOLWAY, 1998; SUAREZ et al., 1998). Neste trabalho, foi a segunda espécie mais frequente não sendo observada qualquer outra espécie de formiga no mesmo local. Todos os locais onde *Linepithema* spp. foi coletada foram classificados como áreas infestadas e seus ninhos apresentavam-se com uma alta densidade populacional, onde as operárias formavam espessas e longas trilhas de forrageamento. Na cidade de Limeira, SP, a espécie deste gênero coletada foi *L. humile* e neste local têm causado sérios danos, invadindo salas de aula em escolas e residências afetando tanto as crianças quanto os adultos com o cheiro forte de uma secreção alérgica liberada por elas. Nas coletas realizadas na cidade de Bento Gonçalves, RS, a espécie foi identificada como *L. micans* e estão associadas a uma cochonilha conhecida como pérola-da-terra (*Eurhizococcus brasiliensis*, Hemiptera: Margarodidae), e têm a capacidade de transportar esses insetos de uma planta para a outra aumentando ainda mais a infestação. As cochonilhas oferecem em troca para as formigas, uma substância açucarada, conhecida como honeydew, resultante do metabolismo da seiva sugada das plantas.

A baixa agressividade intraespecífica presente nesta espécie garante o sucesso da invasão (HOLDOBLER; WILSON, 1990; SUAREZ et al., 1999; TSUTSUI et al., 2000; GIRAUD et al., 2002).

P. fulva foi coletada em duas áreas na cidade de São Paulo e suas populações estavam em equilíbrio. Esta espécie de formiga é reconhecida como invasora, mas nesses ambientes elas não se comportaram assim.

O gênero *Brachymyrmex* é constituído de muitas espécies que variam em distribuição e comportamento. Neste trabalho observou-se *B. pictus* causando sérios danos em vários locais na cidade de Barra Bonita, SP. Foram observadas invasões em áreas urbanizadas infestando residências e igrejas e estavam associadas a jardins, principalmente com a grama

esmeralda. Nestes locais, os ninhos encontravam-se superficiais e logo abaixo do gramado. Suas trilhas eram constantemente observadas nos cantos das calçadas e pelos jardins.

7.2 Ocorrência de entomopatógenos em colônias de formigas invasoras no Brasil

As coletas realizadas revelaram a presença de microrganismos entomopatogênicos nos ninhos das espécies de formigas invasoras, tanto fungos quanto nematóides entomopatogênicos.

Os entomopatógenos podem comumente ser encontrados infestando operárias (EVANS, 1974; SAMSOM et al., 1988; EVANS, 1989) e muitos têm sido coletados nesses insetos em várias regiões da América do Sul; tais isolados são comprovadamente patogênicos para as formigas do gênero *Solenopsis* (STIMAC et al., 1987; ALVES et al., 1988). *B. bassiana* foi isolado em operárias de *A. sexdens rubropilosa* (ALVES; SOSA GÓMES, 1983). Trabalhos anteriores também demonstraram a presença desses microrganismos em outras espécies de formigas como em *Solenopsis* spp. Em áreas sem cobertura florestal, os fungos *M. anisopliae* e *B. bassiana* foram encontrados infestando *S. invicta* e *A. sexdens piriventris* (ALLEN; BUREN, 1974, DIEHL-FLEIG et al., 1988; PEREIRA, 1993). Demonstra-se pela primeira vez a ocorrência de entomopatógenos em ninhos de *Linepithema* spp., *P. fulva* e *B. pictus*.

O Teste de McNemar, utilizado para avaliar a presença de entomopatógenos nos ninhos de formigas e no solo a uma distância de 3 metros (controle), só permite realizar análise com amostras pareadas, desta forma, foram retiradas amostras acidentalmente perdidas. Das 70 amostras totais, ficou-se com 61 amostras na área total (equilíbrio e infestada), sendo 31 em áreas em equilíbrio e 30 em áreas infestadas.

Um maior número de entomopatógenos foi isolado de amostras de solos controle, 49,18% (30), comparado às amostras de formigueiros, 34,43% (21) ($p=0.013$) (Tabela 6).

Essa diferença é atenuada ao se analisar as áreas separadamente, não havendo significância estatística ($p=0,058$ em áreas em equilíbrio e $p=0,083$ em áreas infestadas), provavelmente em virtude do tamanho da amostra em cada área. De qualquer forma, o número de entomopatógenos presentes em amostras de solo controle continua sendo maior do que em ninhos de formigas (Tabelas 7 e 8).

Tabela 6. Presença de entomopatógenos em ninhos de formigas e nos controles na área total (equilíbrio e infestadas).

Presença de Entomopatógenos Área Total		CONTROLE		Total
		NÃO	SIM	
NINHO	NÃO	29 (47,54%)	11 (18,03%)	40 (65,57%)
	SIM	2 (3,28%)	19 (31,15%)	21 (34,43%)
Total		31 (50,82%)	30 (49,18%)	61 (100%)

Tabela 7. Presença de entomopatógenos em ninhos de formigas e nos controles em áreas em equilíbrio.

Presença de Entomopatógenos Áreas em Equilíbrio		CONTROLE		Total
		NÃO	SIM	
NINHO	NÃO	16 (51,61%)	8 (25,81%)	24 (77,42%)
	SIM	2 (6,45%)	5 (16,13%)	7 (22,58%)
Total		18 (58,06%)	13 (41,94%)	31 (100%)

Tabela 8. Presença de entomopatógenos em ninhos de formigas e nos controles em áreas infestadas.

Presença de Entomopatógenos - Áreas Infestadas		CONTROLE		Total
		NÃO	SIM	
NINHO	NÃO	13 (43,33%)	3 (10%)	16 (53,33%)
	SIM	0 (0%)	14 (46,67%)	14 (46,67%)
Total		13 (43,33%)	17 (56,67%)	30 (100%)

7.3 Isolamento de Nematóides

7.3.1 Frequência de nematóides em áreas em equilíbrio e infestadas

Foram isolados os nematóides *Heterorhabditis* sp. e *Steinernema* sp. (Tabelas 9 e 10). Encontrou-se associado a ninhos de formigas apenas o nematóide *Steinernema* sp., 7,25% (5) (Tabela 9). Nas amostras de controle foram isolados os nematóides *Heterorhabditis* sp. e *Steinernema* sp., com maior frequência para *Steinernema* sp., 8,70% (6). A frequência de *Heterorhabditis* sp. foi de 2,90% (2) e não foram encontrados nematóides em 88,41% (61) das amostras (Tabela 10).

Tabela 9. Frequência de nematóides isolados de ninhos de formigas. Áreas em equilíbrio e infestadas.

Espécie de Nematóide	Frequência	Porcentagem
<i>Steinernema</i> sp.	5	7,25%
Nada encontrado	64	92,75%
Total	69	100%

Observação: Uma amostra perdida.

Tabela 10. Frequência de nematóides isolados de amostras controle. Áreas em equilíbrio e infestadas.

Espécie de Nematóide	Frequência	Porcentagem
<i>Steinernema a</i> sp.	6	8,70%
<i>Heterorhabditis</i> sp.	2	2,90%
Nada encontrado	61	88,40%
Total	69	100%

Observação: Uma amostra perdida.

Ao analisar os resultados dos nematóides isolados nas áreas separadamente, observou-se que associados aos ninhos de formigas, 4 deles (11,76%) estavam em áreas infestadas e apenas um (2,86%) em área em equilíbrio. Não foram isolados nematóides em 34 ninhos (97,14%) das coletas em áreas em equilíbrio e em 30 (88,24%) em áreas infestadas (Tabela 11).

Nas amostras controle, foi isolada a mesma quantidade de locais com presença de nematóides em ambas as áreas, 4 (11,76%) e 4 (11,43%) em áreas infestadas e em equilíbrio, respectivamente. Não houve presença de nematóides em 88,24% (30) em amostras controle de áreas infestadas e 88,57% (31) em áreas em equilíbrio (Tabela 12). O teste Exato de Fisher não revelou significância para esses resultados ($p=0,198$ para as amostras de ninhos e $p=1,000$ nas amostras controle).

Tabela 11. Presença de nematóides nas duas áreas de coleta. Amostras coletadas de ninhos de formigas.

	Áreas em Equilíbrio	Áreas Infestadas	Total
NÃO	34 (97,14%)	30 (88,24%)	64
SIM	1 (2,86%)	4 (11,76%)	5
Total	35	34	69

Observação: Uma amostra perdida na área infestada.

Tabela 12. Presença de nematóides nas duas áreas de coleta. Amostras de controle.

	Áreas em Equilíbrio	Áreas Infestadas	Total
NÃO	31 (88,57%)	30 (88,24%)	61
SIM	4 (11,43%)	4 (11,76%)	8
Total	35	34	69

Observação: Uma amostra perdida na área infestada.

A ocorrência de nematóides, tanto em ninhos, quanto nas amostras controle foi muito baixa. A sua presença em algumas amostras, entretanto, demonstra que dentre os demais fatores bióticos e abióticos que interferem nas populações de formigas, os nematóides podem ter representação. Os resultados não respaldam discussões aprofundadas sobre o papel desses entomopatógenos nas colônias de formigas.

7.3.2 Presença de nematóides nos ninhos de formigas e nas amostras controle

As Tabelas 13, 14 e 15 ilustram o cruzamento das informações da presença de nematóides entre os ninhos de formigas e seus controles.

Para a análise na área total de coletas (equilíbrio e infestadas), das 70 amostras originais, duas foram excluídas (amostras perdidas acidentalmente) totalizando 68 pares completos. Embora os dados pareçam revelar mais nematóides nas amostras a 3 m do ninho do que nos ninhos, o teste de McNemar mostrou que esta diferença não é significativa ($p=0,103$) (Tabela 13).

Quando as áreas em equilíbrio foram analisadas separadamente em 35 amostras, não foram encontradas diferenças significativas entre os nematóides isolados de ninhos e dos controles ($p=0,083$) (Tabela 14). Não houve, também, significância estatística no isolamento de amostras de ninhos e controle nas áreas infestadas, com 33 amostras (2 perdidas), (Tabela 15).

Tabela 13. Presença de nematóides em ninhos de formigas e nos controles na área total (equilíbrio e infestadas).

Presença de Nematóides - Área Total		CONTROLE		Total
		NÃO	SIM	
NINHO	NÃO	59 (86,76%)	5 (7,35%)	64 (94,12%)
	SIM	1 (1,47%)	3 (4,41%)	4 (5,88%)
Total		60 (88,24%)	8 (11,76%)	68 (100%)

Tabela 14. Presença de nematóides em ninhos de formigas e nos controles em áreas em equilíbrio.

Presença de Nematóides - Áreas em Equilíbrio		CONTROLE		Total
		NÃO	SIM	
NINHO	NÃO	31 (88,57%)	3 (8,57%)	34 (97,14%)
	SIM	0 (0%)	1 (2,86%)	1 (2,86%)
Total		31 (88,57%)	4 (11,43%)	35 (100%)

Tabela 15. Presença de nematóides em ninhos de formigas e nos controles em áreas infestadas.

Presença de Nematóides - Áreas Infestadas		CONTROLE		Total
		NÃO	SIM	
NINHO	NÃO	28 (84,85%)	2 (6,06%)	30 (90,91%)
	SIM	1 (3,03%)	2 (6,06%)	3 (9,09%)
Total		29 (87,88%)	4 (12,12%)	33 (100%)

7.3.3 Espécies de nematóides isoladas de formigueiros e de amostras controle

Steinernema sp. ocorreu com maior frequência em amostras de solos controle do que em ninhos de formigas. Esse resultado é observado nas amostras totais (equilíbrio e infestadas) e nas duas áreas separadamente (Tabelas 16 a 18). Pelo fato de o número de nematóides isolados ser pequeno, o teste McNemar não revelou significância para esses resultados ($p=0,317$; $p=0,317$ e $p=0,564$ em áreas total, equilíbrio e infestada, respectivamente).

Para a espécie *Heterorhabditis* sp. o teste de McNemar também não revelou significância para os resultados encontrados, sendo $p=0,157$; $p=0,157$ e $p=1,000$ em área total, equilíbrio e infestada, respectivamente. Os únicos dois exemplares desta espécie de nematóide encontravam-se em amostras controle de áreas em equilíbrio: 2 (5,71%). Em áreas infestadas não ocorreu nematóide em nenhuma das amostras (Tabelas 19 a 21).

Tabela 16. Presença de *Steinernema* sp. em ninhos de formigas e nos controles na área total (equilíbrio e infestada).

Presença de <i>Steinernema</i> sp. - Área Total		CONTROLE		Total
		NÃO	SIM	
NINHO	NÃO	61 (89,71%)	3 (4,41%)	64 (94,12%)
	SIM	1 (1,47%)	3 (4,41%)	4 (5,88%)
Total		62 (91,18%)	6 (8,82%)	68 (100%)

Tabela 17. Presença de *Steinernema* sp. em ninhos de formigas e nos controles em áreas em equilíbrio.

Presença de <i>Steinernema</i> sp. - Áreas em Equilíbrio		CONTROLE		Total
		NÃO	SIM	
NINHO	NÃO	33 (94,29%)	1 (2,86%)	34 (97,14%)
	SIM	0 (0%)	1 (2,86%)	1 (2,86%)
Total		33 (94,29%)	2 (5,71%)	35 (100%)

Tabela 18. Presença de *Steinernema* sp. em ninhos de formigas e nos controles em áreas infestadas.

Presença de <i>Steinernema</i> sp. - Áreas Infestadas		CONTROLE		Total
		NÃO	SIM	
NINHO	NÃO	28 (84,85%)	2 (6,06%)	30 (90,91%)
	SIM	1 (3,03%)	2 (6,06%)	3 (9,09%)
Total		29 (87,88%)	4 (12,12%)	33 (100%)

Tabela 19. Presença de *Heterorhabditis* sp. em ninhos de formigas e nos controles na área total (equilíbrio e infestada).

Presença de <i>Heterorhabditis</i> sp. - Área Total		CONTROLE		Total
		NÃO	SIM	
NINHO	NÃO	66 (97,06%)	2 (2,94%)	68 (100%)
Total		66 (97,06%)	2 (2,94%)	68 (100%)

Tabela 20. Presença de *Heterorhabditis* sp. em ninhos de formigas e nos controles em áreas em equilíbrio.

Presença de <i>Heterorhabditis</i> sp. - Áreas em Equilíbrio		CONTROLE		Total
		NÃO	SIM	
NINHO	NÃO	33 (94,29%)	2 (5,71%)	35 (100%)
Total		33 (94,29%)	2 (5,71%)	35 (100%)

Tabela 21. Presença de *Heterorhabditis* sp. em ninhos de formigas e nos controles em áreas infestadas.

Presença de <i>Heterorhabditis</i> sp. - Áreas Infestadas		CONTROLE	Total
		NÃO	
NINHO	NÃO	33 (100%)	33 (100%)
Total		33 (100%)	33 (100%)

7.3.4 Relação das espécies de nematóides isoladas por espécies de formigas

As tabelas 22 a 24 ilustram os resultados encontrados na avaliação dos nematóides isolados relacionando-se com as espécies de formigas analisadas em conjunto e separadamente, nas duas áreas de coleta.

Em ambas áreas observou-se uma maior frequência de nematóides nos ninhos quando as espécies foram agrupadas, 30,77% (4) (*Linepithema* spp., *B. pictus* e *P. fulva*) quando comparadas a 1,79% (1) em *Solenopsis* spp. Não foram encontrados nematóides em 98,21% (55) das amostras de formigueiros de *Solenopsis* spp. e 69,23% (9) das demais espécies agrupadas (Tabela 22).

Separando-se as áreas em equilíbrio, não foi verificada a presença de nematóides nas demais espécies, apenas um (3,03%) dos ninhos de *Solenopsis* spp.. Os demais nematóides isolados nesses ambientes não estavam em formigueiros e sim nas amostras de seus controles. Já nas áreas infestadas foram isolados nematóides em 4 ninhos (36,36%) das demais espécies

de formigas e em nenhum dos ninhos de *Solenopsis* spp.. Nessas áreas, 23 (100%) dos nematóides isolados estavam nas amostras controles das coletas de *Solenopsis* spp. (Tabela 23 e 24).

O teste Exato de Fischer revelou significância para o maior número de nematóides isolados nas espécies agrupadas ($p=0,004$) na avaliação das duas áreas juntas e nas áreas infestadas separadamente ($p=0,007$) e não revelou ser significativo para os resultados nas áreas em equilíbrio ($p=1,000$).

O isolamento de nematóides no solo não é tarefa fácil. Esses organismos precisam de muita umidade para que sobrevivam e completem seu ciclo biológico no solo até atingirem o hospedeiro. Dependendo do local onde foram realizadas as coletas, os formigueiros estavam em solo seco, e mesmo fazendo a coleta a 15 cm de profundidade não foi possível encontrar locais com umidade necessária para que o nematóide fosse capturado. Outras vezes, os nematóides poderiam estar presentes mas não foram capazes de infectar as larvas de *G. mellonella*, que serviram de isca, ou mesmo na Armadilha de White.

A presença dos nematóides no solo sob condições naturais e sua consequente patogenicidade podem ser influenciadas por vários fatores ambientais, incluindo a composição do solo (MOLYNEUX; BEDDING, 1984), radiação (GAUGLER; BOUSH, 1978), temperaturas extremas (MOLYNEUX, 1985, 1986) e a microfauna do solo (ISHIBASHI; KONDO, 1986, 1987). A baixa incidência de nematóides nos solos coletados para elaboração deste trabalho pode ser explicada por estes fatores ambientais.

Não podemos, ainda, deixar de considerar que as formigas e seus inúmeros mecanismos de defesa já relatados neste trabalho podem prevenir a infecção de toda sua colônia por esses organismos.

De qualquer forma, esse levantamento foi importante para revelar que nematóides entomopatogênicos podem estar associados a espécies de formigas invasoras.

Por se tratar de um trabalho inicial neste assunto, sugere-se que novos levantamentos sejam feitos, com outras metodologias, procurando-se utilizar como fontes de isolamento as próprias formigas (vivas ou mortas) considerando que as mesmas já podem estar infectadas por agentes mais específicos e mais virulentos. Ressalta-se também a necessidade de incrementar/expandir coleções/bancos de nematóides que permitam explorar a diversidade desses agentes para o controle de formigas.

Tabela 22. Nematóides isolados por espécie de formiga. Amostras geral (áreas em equilíbrio e infestadas).

	<i>Solenopsis</i> spp.	Demais formigas	Total
NÃO	55 (98,21%)	9 (69,23%)	64
SIM	1 (1,79%)	4 (30,77%)	5
Total	56	13	69

Observação: Uma amostra perdida nas demais formigas.

Tabela 23 Nematóides isolados por espécie de formiga. Amostras de áreas em equilíbrio.

	<i>Solenopsis</i> spp.	Demais formigas	Total
NÃO	32 (96,97%)	2 (100%)	34
SIM	1 (3,03%)	0 (0%)	1
Total	33	2	35

Tabela 24. Nematóides isolados por espécie de formiga. Amostras de áreas infestadas.

	<i>Solenopsis</i> spp.	Demais formigas	Total
NÃO	23 (100%)	7 (63,64%)	30
SIM	0 (0%)	4 (36,36%)	4
Total	23	11	34

Observação: Uma amostra perdida para as demais espécies.

7.4 Isolamento de Fungos

7.4.1 Frequência de fungos em áreas em equilíbrio e infestadas

Após análise das amostras para o isolamento de fungos entomopatogênicos, obtiveram-se as seguintes espécies: *B. bassiana*, *M. anisopliae* e *Paecilomyces* sp. (Tabelas 25 e 26).

Tabela 25. Frequência de fungos isolados de ninhos de formigas. Áreas em equilíbrio e infestadas.

Espécie de Nematóide	Frequência	Porcentagem
<i>Beauveria bassiana</i>	3	4,83%
<i>Metarhizium anisopliae</i>	6	9,68%
<i>Metarhizium anisopliae</i> , <i>Beauveria bassiana</i>	1	1,61%
<i>Paecilomyces</i> sp., <i>Metarhizium anisopliae</i>	1	1,61%
<i>Paecilomyces</i> sp., <i>Metarhizium anisopliae</i>	2	3,23%
<i>Paecilomyces</i> sp.	9	14,52%
Nada encontrado	40	64,52%
Total	62	100%

Observação: Oito amostras perdidas.

Tabela 26. Frequência de fungos isolados de amostras controle. Áreas em equilíbrio e infestadas.

Espécie de Nematóide	Frequência	Porcentagem
<i>Beauveria bassiana</i>	6	9,52%
<i>Beauveria bassiana</i> , <i>Paecilomyces</i> sp.	1	1,59%
<i>Beauveria bassiana</i> , <i>Metarhizium anisopliae</i>	1	1,59%
<i>Metarhizium anisopliae</i>	5	7,93%
<i>Metarhizium anisopliae</i> , <i>Paecilomyces</i> sp	1	1,59%
<i>Paecilomyces</i> sp. <i>Beauveria bassiana</i> , <i>Metarhizium anisopliae</i>	1	1,59%
<i>Paecilomyces</i> sp., <i>Beauveria bassiana</i>	1	1,59%
<i>Paecilomyces</i> sp., <i>Metarhizium anisopliae</i>	2	3,17%
<i>Paecilomyces</i> sp., <i>Metarhizium anisopliae</i> , <i>Beauveria bassiana</i>	1	1,59%
<i>Paecilomyces</i> sp.	12	19,05%
Nada encontrado	32	50,79%
Total	63	100%

Observação: Sete amostras perdidas.

As três espécies de fungos foram encontradas tanto nos ninhos de formigas quanto nos controles. Algumas amostras coletadas apresentaram mais de um fungo ocorrendo ao mesmo tempo. Essa situação foi observada muitas vezes (Tabelas 25 e 26).

Ao analisar os resultados dos fungos isolados de ninhos de formigas nas áreas infestadas e em equilíbrio separadamente, observou-se a presença de fungos em 48,39% (15) das amostras em áreas infestadas e 22,58% (7) em áreas em equilíbrio. Não foram isolados fungos em 77,42% (24) das coletas em equilíbrio e 51,61% (16) em áreas infestadas (Tabela 27).

Nas amostras controle foi isolada praticamente a mesma quantidade de fungos em ambas as áreas, 58,06% (18) e 40,63% (13) em áreas infestadas e em equilíbrio, respectivamente. Não houve presença de fungos em 41,94% (13) das amostras controle de áreas infestadas e 59,38% (19) das áreas em equilíbrio (Tabela 28).

O número de formigueiros com presença de fungos entomopatogênicos nas áreas infestadas é significativamente maior pelo teste de Qui-quadrado de Pearson ($p=0,34$). Nas amostras controle não houve diferença significativa para a presença ou não de fungos em ambas as áreas ($p=0,166$).

Tabela 27. Presença de fungos nas duas áreas de coleta. Amostras coletadas de ninhos de formigas.

	Áreas em Equilíbrio	Áreas Infestadas	Total
NÃO	24 (77,42%)	16 (51,61%)	40
SIM	7 (22,58%)	15 (48,39%)	22
Total	31	31	62

Observação: Oito amostras perdidas, quatro em cada área.

Tabela 28. Presença de fungos nas duas áreas de coleta. Amostras de controle.

	Áreas em Equilíbrio	Áreas Infestadas	Total
NÃO	19 (59,38%)	13 (41,94%)	32
SIM	13 (40,63%)	18 (58,06%)	31
Total	32	31	63

Observação: Sete amostras perdidas, três na área em equilíbrio e quatro na área infestada.

7.4.2 Presença de fungos nos ninhos de formigas e nas amostras controle

Para verificar se houve maior presença de fungos em um dos locais (ninhos de formigas e seus controles) as Tabelas 29 a 31 apresentam os quatro valores para o cruzamento dessa presença de fungos. O teste McNemar avaliou esses resultados.

Na área total, das 61 amostras (9 foram perdidas), observou-se uma diferença significativa entre o número de isolados de fungos entomopatogênicos nos ninhos e nos controles ($p=0,021$) (Tabela 29).

Para as duas áreas separadamente não houve diferença significativa dos resultados ($p=0,096$ em áreas em equilíbrio e $p=0,083$ em áreas infestadas).

Tabela 29 Presença de fungos entomopatogênicos em ninhos de formigas e nos controles na área total (equilíbrio e infestadas).

Presença de Fungos - Área Total		CONTROLE		Total
		NÃO	SIM	
NINHO	NÃO	30 (49,18%)	10 (16,39%)	40 (65,57%)
	SIM	2 (3,28%)	19 (31,15%)	21 (34,43%)
Total		32 (52,46%)	29 (47,54%)	61 (100%)

Tabela 30. Presença de fungos entomopatogênicos em ninhos de formigas e nos controles em áreas em equilíbrio.

Presença de Fungos - Áreas em Equilíbrio		CONTROLE		Total
		NÃO	SIM	
NINHO	NÃO	17 (54,84%)	7 (22,58%)	24 (77,42%)
	SIM	2 (6,45%)	5 (16,13%)	7 (22,58%)
Total		19 (61,29%)	12 (38,71%)	31 (100%)

Tabela 31. Presença de fungos entomopatogênicos em ninhos de formigas e nos controles em áreas infestadas.

Presença de Fungos - Áreas Infestadas		CONTROLE		Total
		NÃO	SIM	
NINHO	NÃO	13 (43,33%)	3 (10%)	16 (53,33%)
	SIM	0 (0%)	14 (46,67%)	14 (46,67%)
Total		13 (43,33%)	17 (56,67%)	30 (100%)

7.4.3 Espécies de fungos isolados de formigueiros e de amostras controle

A análise da ocorrência das diferentes espécies de fungos foi realizada e também avaliada pelo teste McNemar. *B. bassiana* foi significativamente mais comum nas amostras de solo controle das áreas infestadas ($p=0,046$). Nas demais coletas os resultados foram semelhantes ($p=0,655$ em áreas em equilíbrio e $p=0,096$ na área total) (Tabelas 32 a 34).

M. anisopliae foi coletado de forma homogênea nas duas áreas coletadas, tanto no ninho quanto nas amostras controle. Porém esses resultados não revelaram significância estatística ($p=1,000$, $p=0,655$ e $p=0,655$ na área total, equilíbrio e infestada, respectivamente. (Tabela 35 a 37).

Por fim, para a análise de *Paecilomyces* sp. houve um maior número de isolamentos desta espécie em solos de amostras controle quando analisadas a área total e a área em equilíbrio separadamente, sendo 19 (31,15%) e 7 (22,58%), respectivamente (Tabelas 38 e 39). Esses valores são significativos pelo teste McNemar, onde $p=0,021$ para a área total e $p=0,014$ em áreas em equilíbrio. Nas áreas infestadas *Paecilomyces* sp. também aparece mais em solos controle, 12 (40%), porém essa diferença não foi significativa ($p=0,414$) (Tabela 40).

Tabela 32. Presença de *Beauveria bassiana* em ninhos de formigas e nos controles na área total (equilíbrio e infestadas).

Presença de <i>Beauveria bassiana</i> - Área Total		CONTROLE		Total
		NÃO	SIM	
NINHO	NÃO	50 (81,97%)	7 (11,48%)	57 (93,44%)
	SIM	2 (3,28%)	2 (3,28%)	4 (6,56%)
Total		52 (85,25%)	9 (14,75%)	61 (100%)

Tabela 33. Presença de *Beauveria bassiana* em ninhos de formigas e nos controles em áreas em equilíbrio.

Presença de <i>Beauveria bassiana</i> - Áreas em Equilíbrio		CONTROLE		Total
		NÃO	SIM	
NINHO	NÃO	24 (77,42%)	3 (9,68%)	27 (87,10%)
	SIM	2 (6,45%)	2 (6,45%)	4 (12,90%)
Total		26 (83,87%)	5 (16,13%)	31 (100%)

Tabela 34. Presença de *Beauveria bassiana* em ninhos de formigas e nos controles em áreas infestadas.

Presença de <i>Beauveria bassiana</i> - Áreas Infestadas		CONTROLE		Total
		NÃO	SIM	
NINHO	NÃO	26 (86,67%)	4 (13,33%)	30 (100%)
Total		26 (86,67%)	4 (13,33%)	30 (100%)

Tabela 35. Presença de *Metarhizium anisopliae* em ninhos de formigas e nos controles na área total (equilíbrio e infestadas).

Presença de <i>Metarhizium anisopliae</i> - Área Total		CONTROLE		Total
		NÃO	SIM	
NINHO	NÃO	46 (75,41%)	5 (8,20%)	51 (83,61%)
	SIM	5 (8,20%)	5 (8,20%)	10 (16,39%)
Total		51 (83,61%)	10 (16,39%)	61 (100%)

Tabela 36. Presença de *Metarhizium anisopliae* em ninhos de formigas e nos controles em áreas em equilíbrio.

Presença de <i>Metarhizium anisopliae</i> - Áreas em Equilíbrio		CONTROLE		Total
		NÃO	SIM	
NINHO	NÃO	25 (80,65%)	3 (9,68%)	28 (90,32%)
	SIM	2 (6,45%)	1 (3,23%)	3 (9,68%)
Total		27 (87,10%)	4 (12,90%)	31 (100%)

Tabela 37. Presença de *Metarhizium anisopliae* em ninhos de formigas e nos controles em áreas infestadas.

Presença de <i>Metarhizium anisopliae</i> - Áreas Infestadas		CONTROLE		Total
		NÃO	SIM	
NINHO	NÃO	21 (70%)	2 (6,67%)	23 (76,67%)
	SIM	3 (10%)	4 (13,33%)	7 (23,33%)
Total		24 (80%)	6 (20%)	30 (100%)

Tabela 38. Presença de *Paecilomyces* sp. em ninhos de formigas e nos controles na área total (equilíbrio e infestada).

Presença de <i>Paecilomyces</i> sp. - Área Total		CONTROLE		Total
		NÃO	SIM	
NINHO	NÃO	40 (65,57%)	10 (16,39%)	50 (81,97%)
	SIM	2 (3,28%)	9 (14,75%)	11 (18,03%)
Total		42 (68,85%)	19 (31,15%)	61 (100%)

Tabela 39. Presença de *Paecilomyces* sp. em ninhos de formigas e nos controles em áreas em equilíbrio.

Presença de <i>Paecilomyces</i> sp. - Áreas em Equilíbrio		CONTROLE		Total
		NÃO	SIM	
NINHO	NÃO	24 (77,42%)	6 (19,35%)	30 (96,77%)
	SIM	0 (0%)	1 (3,23%)	1 (3,23%)
Total		24 (77,42%)	7 (22,58%)	31 (100%)

Tabela 40. Presença de *Paecilomyces* sp. em ninhos de formigas e nos controles em áreas infestadas.

Presença de <i>Paecilomyces</i> sp. - Áreas Infestadas		CONTROLE		Total
		NÃO	SIM	
NINHO	NÃO	16 (53,33%)	4 (13,33%)	20 (66,67%)
	SIM	2 (6,67%)	8 (26,67%)	10 (33,33%)
Total		18 (60%)	12 (40%)	30 (100%)

7.4.4 Relação das espécies de fungos isolados por espécies de formigas

As Tabelas 41 a 43 demonstram os resultados encontrados na avaliação dos fungos isolados relacionando-os com as espécies de formigas nas duas áreas de coleta, juntas e separadamente.

Houve uma presença maior de fungos associados às demais espécies de formigas, 72,73% (8), do que com *Solenopsis* spp., 27,45% (14), ($p = 0,012$) (Tabela 41), quando as duas áreas foram analisadas conjuntamente.

Nas áreas em equilíbrio, somente as amostras de *Solenopsis* spp. estavam associadas a fungos (Tabela 42) porém a análise do teste exato de Fisher não demonstrou significância ($p = 1,000$) para este resultado. Já nas áreas infestadas, 88,89% (8) das demais espécies de formigas apresentaram fungos e 31,82% (7) das amostras de *Solenopsis* spp. revelaram a presença desse entomopatógeno (Tabela 43). O resultado foi significativo nesta avaliação ($p=0,006$).

Tabela 41. Fungos isolados por espécie de formiga. Amostras geral (áreas em equilíbrio e infestadas).

	<i>Solenopsis</i> spp.	Demais formigas	Total
NÃO	37 (72,55%)	3 (27,27%)	40
SIM	14 (27,45%)	8 (72,73%)	22
Total	51	11	62

Observação: Oito amostras perdidas, sendo cinco para *Solenopsis* spp., e três para demais formigas.

Tabela 42 Fungos isolados por espécie de formiga. Amostras de áreas em equilíbrio.

	<i>Solenopsis</i> spp.	Demais formigas	Total
NÃO	22 (75,86%)	2 (100%)	24
SIM	7 (24,14%)	0 (0%)	7
Total	29	2	31

Observação: Quatro amostras perdidas para *Solenopsis* spp..

Tabela 43. Fungos isolados por espécie de formiga. Amostras de áreas infestadas.

	<i>Solenopsis</i> spp.	Demais formigas	Total
NÃO	15 (68,18%)	1 (11,11%)	16
SIM	7 (31,82%)	8 (88,89%)	15
Total	22	9	31

Observação: Uma amostra perdida para *Solenopsis* spp. e três para as demais espécies.

O isolamento de fungos em solos, ao contrário do que ocorre para nematóides, é mais fácil de ser realizado e neste estudo os resultados revelaram uma presença muito maior de fungos do que nematóides em toda as coletas. Os fungos, por sua biologia e ciclo de vida, são mais adaptados para sobreviver em condições adversas quando comparados aos nematóides. Sua presença farta, tanto em abundância quanto em diversidade nos revelou que esses organismos estão convivendo com as formigas em suas colônias e próximo a elas.

ZARZUELA, M.F.M., 2010.

A presença de fungos no solo foi estudada por Pereira e Stimac (1992) sendo descrito os problemas relacionados com a transmissão de entomopatógenos nos ninhos de *S. invicta*. Os autores observaram que a transmissão de *B. bassiana* das formigas infectadas para as não infectadas foi diminuída quando havia a presença de solo. O solo não influencia a suscetibilidade das formigas ao patógeno, mas age como uma prevenção física da disseminação dos propágulos de fungos. Além disso, mesmo que algumas formigas sejam infectadas por entomopatógenos presentes nos solos de seus ninhos, os comportamentos de higiene delas podem reduzir o crescimento dos fungos nos cadáveres das formigas que foram infectadas. Essa limitação de crescimento é feita pela adição de substâncias químicas, como o veneno com compostos alcalóides, que possui uma ação fungistática (STOREY, 1990).

Esta seria uma provável explicação para o fato de não encontrarmos formigas mortas com extrusão de fungos durante as coletas de solo que tiveram crescimento positivo de fungos.

O isolamento de fungos e nematóides a partir de solos de ninhos de formigas é um importante início para a utilização desses entomopatógenos como formas de controle biológico desses insetos. Uma hipótese proposta aqui é que a virulência dos fungos e nematóides isolados de formigas seja maior para o controle delas mesmas quando comparados a outros isolados de outros insetos, justamente por eles conseguirem burlar todos os comportamentos de defesa das formigas e, portanto, estar presentes em suas colônias.

Os resultados a seguir são uma tentativa de abordar essa questão: se os microrganismos entomopatogênicos isolados de formigas são melhores agentes de controle para as espécies de formigas invasoras do que os isolados de outros organismos.

7.5 Suscetibilidade de colônias de *Monomorium floricola* em laboratório aos entomopatógenos

Nesta parte da pesquisa procurou-se obter uma comparação entre os entomopatógenos isolados dos formigueiros e os isolados pertencentes à Coleção de Entomopatógenos Oldemar Cardim de Abreu do Instituto Biológico na mortalidade de colônias de formigas em condições de laboratório.

Os nematóides isolados dos formigueiros não puderam ser testados, uma vez que não se conseguiu mantê-los em criações de laboratório. Esses organismos são muito sensíveis e não tivemos sucesso na propagação de nenhum dos nematóides isolados neste trabalho.

Dessa forma, avaliou-se somente a mortalidade de colônias de formigas que receberam tratamento dos nematóides isolados pertencentes à coleção.

Para os fungos entomopatogênicos a manutenção em laboratório é menos complexa e neste caso, as cepas dos isolados foram mantidas congeladas com sucesso, inclusive para posteriores estudos. Portanto, conseguiu-se estabelecer uma comparação entre os isolados dos formigueiros e os da coleção.

7.5.1 Suscetibilidade a Nematóides Entomopatogênicos

Os nematóides utilizados, *S. carpocapse* (IBCB 02) e *Heterorhabditis* sp. (IBCB 24) ocasionaram uma mortalidade de operárias de *M. floricola* maior que a mortalidade observada no grupo controle (Figura 9). Para a elaboração do gráfico e da análise estatística os dados obtidos foram acumulados ao longo dos dias de avaliação.

O Teste de Tukey permitiu verificar que a mortalidade de formigas pelos dois isolados de nematóides testados foi significativamente maior que a do controle (efeito do grupo: $p=0,005$; efeito do tempo: $p<0,001$ e efeito da interação: $p=0,024$) ao longo dos 33 dias de avaliação.

O nematóide IBCB 24 causou maior mortalidade nas operárias de *M. floricola* nos primeiros 6 dias após a aplicação. Após este período, os dois isolados de nematóides testados tiveram uma curva de mortalidade semelhante. A curva de mortalidade observada no controle teve um aumento durante os 33 dias de avaliação, porém tal fato provavelmente deve-se ao estresse causado pelas condições laboratoriais (Figura 9).

Figura 9. Mortalidade acumulada de operárias de *Monomorium floricola* submetidas a aplicação de nematóides entomopatogênicos.

A utilização dos nematóides *S. carpocapse* e *Heterorhabditis* sp. para o controle de formigas tem sido relatada com sucesso por diversos pesquisadores (POOLE, 1976; LAUMOND et al., 1979; QUATTLEBAUM, 1980; JOUVENAZ et al., 1990; DREES et al., 1992). Neste trabalho, as operárias não apresentaram sinais de infecção por nematóides, porém, as formas imaturas foram infectadas nos primeiros dias de observação. Desde 1976, Poole já observara que crias e alados de *Solenopsis* spp. eram suscetíveis a um isolado de *S. carpocapse* quando confinadas em pequenos frascos contendo solo infectado. Entretanto, as operárias adultas não foram muito suscetíveis. Drees et al. (1992) também relataram que este nematóide causou mortalidade em larvas, pupas e alados de *Solenopsis* sp. e que embora as operárias adultas não tenham sido suscetíveis ao nematóide, elas lambem vigorosamente as crias, alados e a elas mesmas. Esse comportamento de defesa está relacionado com a limpeza e provavelmente as livrou da contaminação. Tal comportamento também foi observado neste trabalho.

Não se confirmou a morte das operárias que receberam a aplicação do nematóide. Todas as formigas mortas foram colocadas em placas de Petri com um papel filtro umedecido e colocadas em B.O.D. a 25°. C. Porém, nenhum nematóide foi observado nesta armadilha.

Apesar de os nematóides não terem sido observados nos cadáveres das operárias, a mortalidade destas permaneceu crescente ao longo dos 33 dias de observação, enquanto que no controle, a mortalidade permaneceu estável e significamente inferior. Isso sugere a continuidade dos levantamentos procurando-se obter nematóides mais adaptados aos insetos que demonstrem maior capacidade de reciclagem nos hospedeiros (formigas). Desta forma, o

uso de formigas como fontes de isolamento pode ser mais apropriado para se buscar nematóides mais adequados para o controle dos insetos.

A mortalidade observada na avaliação desses resultados refere-se apenas a operárias adultas de *M. floricola* ao longo do teste. Não houve redução da colônia em nenhum dos tratamentos (Figura 10). As condições gerais de todas as colônias foram analisadas e não foi observada a redução na quantidade de crias e rainhas (Figura 11 e 12). Durante todo o período de observações foram verificadas todas as formas de indivíduos imaturos (ovos, larvas e pupas) em todas as colônias (Figura 13). Não foi verificada a produção de indivíduos alados durante todo o teste. Tal fato não se correlaciona com a aplicação dos nematóides, uma vez que no controle e na criação de origem dessas formigas também não foram observados machos e fêmeas ergatóides durante o período do experimento.

As colônias como um todo não diminuíram em tamanho, tendo por vezes, um pequeno aumento de indivíduos. Esse aumento pode ser explicado como uma tentativa de recuperação das formigas frente a uma forma de controle. (Figura 10). Zarzuela (2005) também observou uma recuperação das colônias desta mesma espécie como resposta a aplicações de inseticidas químicos. Havendo uma perturbação, seja ela química ou biológica, as formigas tendem a responder aumentando o número de indivíduos.

Figura 10. Tamanho das colônias de *Monomorium floricola* durante o teste com os diferentes nematóides e controle.

Figura 11. Quantidade de crias das colônias de *Monomorium floricola* durante o teste com os diferentes nematóides e controle.

Figura 12. Quantidade de rainhas das colônias de *Monomorium floricola* durante o teste com os diferentes nematóides e controle.

Figura 13. Formas imaturas presentes nas colônias de *Monomorium floricola* durante o teste com os diferentes nematóides e controle.

Foi observado em operárias que receberam a aplicação de nematóides um comportamento de limpeza (*grooming*). Durante os primeiros dias de avaliação, as operárias movimentavam-se mais lentamente e limpavam-se constantemente.

O comportamento de auto limpeza (*self-grooming*) e de limpeza mútua (*allogrooming*) podem impedir ou facilitar a infecção e disseminação da doença (OI; PEREIRA, 1993). Embora a limpeza entre os indivíduos da colônia possa reduzir a infecção com a remoção do patógeno, poderá também colaborar na disseminação da doença para todos os indivíduos da colônia, já que a transferência deste patógeno pode ocorrer acidentalmente entre os indivíduos. A disseminação de patógenos por consequência do *grooming* não foi bem observada e relatada em formigas, já em cupins ela é muito comum (KRAMM et al., 1982).

Drees et al. (1992) reportaram que a incessante limpeza praticada pelas operárias de *Solenopsis* sp. em crias, alados e nelas mesmas após a exposição de *Steinernema* e *Heterorhabditis* é uma tentativa de remoção desses nematóides.

Em todos os grupos tratados com nematóides observou-se uma mudança da colônia inicialmente para as bordas da placa de Petri. Dessa forma, as formigas deixavam o centro da colônia vazio, provavelmente porque aquele era o local onde havia maior concentração de nematóides.

O comportamento de mudança da colônia frente à perturbação causada pelos nematóides também foi observada por outros autores. Jouvenaz et al. (1990) relataram que as colônias de *S. invicta* deslocaram o solo infectado após tratamento com *Steinernema* e *Heterorhabditis*. Drees e seus colaboradores (1992), também verificaram que um número

significante de formigas abandonou suas colônias quando receberam tratamento de nematóides, formando ninhos anexos. Esta tendência das formigas em mudar suas colônias após o tratamento com nematóides constitui uma limitação para a utilização destes organismos no controle de formigas.

Depois de observado esse comportamento de fuga, colocou-se mais uma placa de Petri para todas as colônias e pôde-se notar que em todos os grupos tratados as formigas moveram-se totalmente para o novo ambiente, enquanto no grupo controle as formigas ocuparam as duas placas igualmente. (Figuras 14 a 16).

Pode-se, portanto, concluir que as formigas percebem a perturbação causada pelos nematóides e rapidamente fogem fazendo com que apenas alguns poucos indivíduos infectados (crias em todos os casos) ficassem isolados naquele local tratado (Figura 17 e 18). Não houve tempo de o nematóide infectar os indivíduos antes que eles se mudassem para outro local livre de contaminação.

Figura 14 Colônia de *Monomorium floricola* mudando de local (da placa da esquerda para a direita) após tratamento por *Steinernema carpocapse* (IBCB 02). Foto: Justi Jr, J.

Figura 15. Colônia de *Monomorium floricola* mudando de local (da placa da esquerda para a direita) após tratamento por *Heterorhabditis* sp. (IBCB 24). Foto: Justi Jr, J.

Figura 16. Colônia de *Monomorium floricola* distribuindo-se igualmente nas duas placas. Colônia controle. Foto: Justi Jr, J.

Figura 17. Crias de *Monomorium floricola* infectadas por nematóides isoladas da colônia. Foto: Justi Jr, J.

Figura 18. Detalhe das crias de *Monomorium floricola* isoladas da colônia após infecção por nematóides. Foto: Justi Jr, J.

Após esse período de fuga, notado na primeira semana de avaliação, as colônias não apresentaram nenhum sinal de infecção. Na tentativa de recuperação das colônias, as rainhas ergatóides continuaram a oviposição e as colônias foram aos poucos aumentando o número de seus indivíduos.

As operárias mortas não foram separadas de forma diferente do que ocorre normalmente. Quando as operárias morreram, ficaram distribuídas por toda a bandeja e não foram separadas dos indivíduos sobreviventes de forma diferente da que ocorreu no controle.

O fato de não se constatar morte de formigas pelos nematóides não permite ainda afirmar que eles não surtiram efeito sobre as formigas. Respostas comportamentais como a mudança das colônias para outro local livre de contaminação, permite concluir que as formigas sofreram alguma interferência pelos nematóides. Além disso, a mortalidade de operárias foi significativamente maior que no controle. Neste trabalho, foi feita a aplicação de nematóides em apenas uma diluição (5600 juvenis infectivos por mL).

7.5.2 Suscetibilidade a Fungos Entomopatogênicos

Após a aplicação dos fungos entomopatogênicos em colônias de *M. floricola*, pôde-se verificar que o fungo que promoveu maior mortalidade em operárias foi *B. bassiana*, tanto a *B. bassiana* pertencente à coleção quanto a isolada de formigueiro, ambas nas duas concentrações (Figura 19). Para a elaboração do gráfico e da análise estatística os dados obtidos foram acumulados ao longo dos dias de avaliação.

Bb=*Beauveria bassiana*; Ma=*Metarhizium anizopliae*; P=*Paecilomyces* sp.

Figura 19. Mortalidade acumulada de operárias de *Monomorium floricola* submetidas a aplicação de fungos entomopatogênicos nas diferentes concentrações.

O Teste de Tukey mostrou que a mortalidade de formigas pelos dois isolados de *B. bassiana* foi significativamente maior que a do controle e dos outros fungos testados nas duas concentrações utilizadas (efeito do grupo: $p < 0,001$; efeito do tempo: $p < 0,001$ e efeito da interação: $p < 0,001$) ao longo dos 30 dias de avaliação.

Muitos trabalhos relatam a eficiência de *B. bassiana* no controle de formigas. Alves e Sosa-Gomés (1983) observaram maior agressividade deste fungo em *A. sexdens rubropilosa*. Utilizando o isolado 447 de *B. bassiana* em operárias de *S. invicta*, Pereira e seus colaboradores (1993) obtiveram 100% de infecção e mortalidade. Também para essa mesma espécie de formiga, Stimac et al. (1993) verificaram que o tratamento de colônias com esporos de *B. bassiana* matou pouco menos de 90% das formigas. Em 1995, Kelley-Tunis et al. descreveram uma maior mortalidade de operárias de *Camponotus pennsylvanicus* quando expostas a *B. bassiana* do que quando expostas a *M. anisopliae* (em dois isolados).

No presente estudo, a mortalidade decorrida das aplicações de *Paecilomyces* sp. (P 405 – isolados da Coleção do Instituto Biológico) foi consideravelmente grande. O mesmo não foi observado com essa mesma espécie de fungo isolado de formigueiros, tendo sua curva se assemelhado à curva da mortalidade no controle. Aplicações de *P. farinosus* em várias concentrações, dentre elas as mesmas utilizadas neste trabalho, mostraram-se eficientes, matando mais que 80% dos soldados de *A. sexdens sexdens* nos primeiros quatro dias (LOUREIRO; MONTEIRO, 2005).

Nenhum dos isolados de *M. anisopliae* em nenhuma das concentrações surtiu efeito significativo na mortalidade de formigas neste estudo. Todas as curvas de mortalidade permaneceram mais baixas que do controle. Porém, alguns trabalhos demonstram sucesso na aplicação deste fungo em formigas nas mesmas concentrações que neste trabalho e também em outras concentrações (KERMARREC; DECHARME, 1982; ALVES; SOSA-GOMÉZ, 1983; KERMARREC et al., 1986; LIMA et al., 1986; DIEHL-FLEIG et al., 1988; BLOWERS, 1994; JACCOUD, 1996; JACCOUD et al., 1999; LOUREIRO; MONTEIRO, 2005).

Pesquisas relatam que os fungos têm uma menor eficácia quando aplicados em colônias (KERMARREC; DECHARME, 1982; KERMARREC et al., 1986), como o ocorrido neste trabalho. Esta diminuição de eficácia tem sido atribuída a uma série de comportamentos e fatores químicos (JACCOUD et al., 1999).

Um dos fatores a ser considerado é o tipo de formulação utilizada. Silva e Diehl-Fleig (1988) obtiveram sucesso com aplicações de suspensões de esporos de *M. anisopliae* em pó, observando uma redução no forrageamento de *A. sexdens piriventris* em seis dias. Aplicações inundativas diretamente sobre os ninhos consomem tempo e se tornam impraticáveis como uma estratégia viável em grandes áreas (BLOWERS et al., 1992; SPECHT et al., 1994).

No trabalho de Stimac e seus colaboradores (1993) as maiores concentrações de conídios de *B. bassiana* resultaram em uma maior mortalidade de *S. invicta*. Os autores descrevem que a maneira com que os fungos são aplicados e os comportamentos das formigas são importantes fatores na determinação da dose ideal para uma maior mortalidade. Observou-se que quando há um grande número de operárias, ao receberem a aplicação dos fungos, elas tendem a recolher-se e amontoar-se formando uma esfera com os corpos unidos. Fica portanto difícil atingir todos os indivíduos com a suspensão de fungos. Por causa da composição de sua cutícula, as suspensões de fungos são em parte repelidas pela massa de formigas. Desta forma, as operárias que permaneceram no centro dessa esfera podem não ter recebido a mesma quantidade de fungos que as da periferia.

Durante as aplicações das suspensões de fungos, ao longo deste experimento, as operárias de *M. floricola* estavam dispostas de forma também amontoadas no interior das placas de Petri (local de suas colônias). Acredita-se que da mesma forma que ocorreu com *S. invicta*, esse comportamento possa ter diminuído a contaminação e penetração dos fungos em um número maior de indivíduos, inclusive das crias.

Uma alternativa considerada mais eficaz por diversos autores (DIEHL-FLEIG; LUCCHESI, 1991; BLOWERS et al., 1992; SPECHT et al., 1994; JACCOUD et al., 1999; WILLIAMS et al., 2003) é a formulação em iscas, para que as formigas possam transportá-las para o interior das colônias. Apesar de algumas vezes elas perceberem os entomopatógenos, sua presença pode ser disfarçada pela adição de alimentos atrativos (BLOWERS et al., 1992; SPECHT et al., 1994).

Além do tipo de formulação utilizada, outros fatores podem influenciar no sucesso da aplicação como as condições ambientais (FUXA; RICHTER, 2004) e também a viabilidade de um determinado isolado de fungo entomopatogênico aplicado nas diferentes regiões geográficas (BAIRD et al., 2007). Além disso, a grande variabilidade genética presente em fungos entomopatogênicos (ALVES, 1998) pode ser um dos principais fatores responsáveis pelas diferenças de virulência entre os isolados e espécies, como referido por DIEHL-FLEIG et al., (1988).

Observou-se que a mortalidade de operárias começou a aumentar a partir do terceiro dia após a aplicação. Esses resultados foram semelhantes aos encontrados por Stimac et al. (1993), onde colônias de *S. invicta* receberam tratamentos com suspensões de conídios diretamente. Neste trabalho também houve um aumento de mortalidade a partir do terceiro dia da aplicação.

O aumento das curvas de mortalidade a partir do terceiro dia após a aplicação dos fungos entomopatogênicos vem sendo descrito desde os estudos iniciais de Stimac et al. (1987) e Alves et al. (1988). Esses resultados são confirmados e estão relacionados com o tempo necessário para a adesão, germinação, penetração e crescimento dos fungos antes da morte dos insetos (ALVES, 1986).

A avaliação do crescimento dos fungos nos cadáveres das operárias de *M. floricola* também confirma a alta mortalidade por fungos a partir do terceiro dia (Figura 20). Os maiores índices de mortalidade confirmada foram obtidos do primeiro ao décimo dia após a aplicação. Após esse período as operárias continuaram a morrer em número maior que as do controle, porém a extrusão dos fungos em seus cadáveres não foi mais observada. Stimac et al (1993) também encontraram esses mesmos resultados, sendo que após 12 dias da aplicação não houve mais a ação dos fungos na mortalidade das formigas.

A esporulação em cadáveres de seus hospedeiros é uma prova da capacidade do fungo de penetrar e colonizar, causando-lhes a morte (DIEHL-FLEIG et al., 1988).

No presente estudo a mortalidade ocorrida no controle começou a aumentar a partir do 12º dia e se igualou com a mortalidade de alguns tratamentos ou mesmo foi maior que outros (Figura 20). Tal fato deve-se provavelmente à fadiga causada pelas condições laboratoriais em que as colônias se encontravam, não estando relacionado com a aplicação de fungos, uma vez que foi total a ausência de fungos nos cadáveres das formigas de colônias controle.

Os fungos crescidos nos cadáveres não foram identificados, porém considerando a baixa mortalidade observada no controle, pode-se supor que sejam realmente aqueles aplicados ou, caso não sejam, que cresceram como saprofíticos após os insetos serem mortos pelos entomopatógenos aplicados.

A análise estatística da mortalidade confirmada de formigas não diferiu da mortalidade total em todas as colônias em todos tratamentos, observando-se maior mortalidade confirmada nos grupos Bb 66 e Bb 25.

Bb=*Beauveria bassiana*; Ma=*Metarhizium anisopliae*; P=*Paecilomyces* sp.

Figura 20. Mortalidade confirmada acumulada de operárias de *Monomorium floricola* submetidas a aplicação de fungos entomopatogênicos nas diferentes concentrações.

Durante o experimento, a maioria das colônias não aumentou de tamanho, mas também não houve diminuição aparente. A maioria permaneceu do mesmo tamanho durante os 30 dias de avaliação (Figura 21). Notou-se que as operárias que receberam o tratamento por fungos limpavam-se constantemente e moviam-se lentamente. Não foi observada a diminuição no forrageamento.

A avaliação das condições gerais das colônias não revelou diminuição da quantidade de crias e rainhas em nenhuma colônia (Figuras 22 e 23). Todas as formas imaturas estiveram presentes durante o teste (Figura 24). Também não foi observada presença de formas sexuais, inclusive no controle.

O comportamento de auto limpeza assim como o de limpeza mútua também foram observados nesta etapa do trabalho. Durante os primeiros dias de avaliação as operárias limpavam-se provavelmente na tentativa de livrar-se da contaminação causada pelos conídios dos fungos aplicados.

Quando o comportamento de limpeza remove os conídios ou outras partículas de fungo da cutícula das formigas antes que ocorra a infecção, consequentemente reduz a taxa de infecção de toda a colônia. Observações em microscopia eletrônica de *S. invicta* inoculadas com conídios de *B. bassiana* demonstraram a remoção de conídios dos tegumentos das formigas adultas e de larvas (OI; PEREIRA, 1993). Siebeneicher et al. (1992) reportaram observações semelhantes, e Sacher-Pena e Thorvilson (1995) inferiram que o comportamento de limpeza previne a infecção das formigas por conídios de *Conidiobolus*.

Não foi observada a mudança das formigas para as bordas da placa de Petri, como no teste de nematóides.

Pereira e Stimac (1992) observaram a pilhas de cadáveres empilhados após a inoculação de fungos. Neste estudo não foi observado tal comportamento. As operárias não infectadas não separaram os cadáveres na tentativa de diminuir a contaminação.

Bb=*Beauveria bassiana*; Ma= *Metarhizium anizopliae*; P=*Paecilomyces* sp.

Figura 21. Tamanho das colônias de *Monomorium floricola* durante o teste com os diferentes fungos e controle.

Bb=*Beauveria bassiana*; Ma= *Metarhizium anizopliae*; P=*Paecilomyces* sp.

Figura 22. Quantidade de crias das colônias de *Monomorium floricola* durante o teste com os diferentes fungos e controle.

Bb=*Beauveria bassiana*; Ma= *Metarhizium anizopliae*; P=*Paecilomyces* sp.

Figura 23. Quantidade de rainhas das colônias de *Monomorium floricola* durante o teste com os diferentes fungos e controle.

Bb=*Beauveria bassiana*; Ma= *Metarhizium anizopliae*; P=*Paecilomyces* sp.

Figura 24. Formas imaturas presentes nas colônias de *Monomorium floricola* durante o teste com os diferentes fungos e controle.

Não foi verificada maior virulência dos fungos isolados de formigueiros do que dos isolados da coleção. Acreditava-se na hipótese de que pelo fato de os fungos estarem presentes nas colônias de formigas eles possuísem uma maior virulência, uma vez que conseguiram se manter vivos apesar de todos os comportamentos de defesa das formigas. Porém, tal hipótese não foi confirmada. Os resultados demonstraram que o fungo *B. bassiana* foi o que causou maior mortalidade nos dois isolados (de formigueiros e da coleção). Outros fungos isolados dos formigueiros tiveram uma mortalidade próxima da obtida no controle.

Assim como no caso do teste com nematóides, os fungos podem ser promissores para o controle de formigas urbanas. Porém, novos estudos devem ser conduzidos para se determinar outras concentrações ou até mesmo outras formas de aplicação que consigam burlar os vários comportamentos de defesa das formigas. Além disso, é necessário um estudo mais detalhado sobre a viabilidade dos isolados testados antes da aplicação.

Fica portanto registrada nesta pesquisa a necessidade da condução de novos experimentos para avaliar a virulência dos fungos e nematóides isolados de formigueiros, assim como avaliar esses agentes para o controle de outras pragas, inclusive.

8. CONSIDERAÇÕES FINAIS

Segundo alguns autores, o controle biológico no Brasil ainda enfrenta alguns problemas como a falta de estudos básicos relacionados à biologia, a falta de continuidade nos programas e projetos mal planejados. Além disso, esta forma de controle alternativo ainda conta com pouca credibilidade por parte de alguns produtores, sendo que em muitas regiões do Brasil ainda se acredita que o controle biológico não possa substituir o controle químico.

Sabe-se porém que um programa de controle biológico bem conduzido e que seja adequado ao problema, pode se comparar ao controle químico convencional. Esse processo envolve o treinamento de pessoas e a mudança de um processo cultural.

O controle biológico é viável, a julgar pela nossa biodiversidade e pelo número de pesquisadores dispostos a trabalhar nesta área, que vem crescendo ano a ano.

Este trabalho demonstrou que os entomopatógenos podem estar associados às formigas invasoras e têm potencial para ser utilizados como forma de controle das diferentes espécies. Apesar de muitos estudos terem sido conduzidos nesta área, principalmente para o controle de *Solenopsis* spp., ainda faltam resultados mais consistentes para que a utilização destes agentes de controle possa se tornar viável.

As formigas, por serem insetos sociais, possuem adaptações comportamentais únicas que favorecem sua sobrevivência. Muitas destas adaptações têm frustrado o homem na tentativa de controlá-las de várias maneiras. Entender tais adaptações é especialmente importante quando se deseja utilizar agentes de controle biológico. O sucesso do controle de formigas através do uso de parasitóides, predadores ou patógenos é pouco documentado, apesar da existência deles. Provavelmente, a baixa ocorrência de casos de sucesso no controle de formigas pragas deve-se aos inúmeros comportamentos de defesa desses insetos.

Após considerar os resultados de todos os trabalhos que utilizam os entomopatógenos para o controle de formigas e os efeitos dos comportamentos desses insetos, se torna claro que dois maiores problemas necessitam ser considerados: 1. superar os comportamentos, como o de limpeza, que previne a infecção quando os indivíduos são expostos à patógenos e 2. avaliar o comportamento de dispersão das formigas infectadas, que faz com que os outros indivíduos da colônia não sejam contaminados.

Uma das formas para avanço da utilização de fungos para o controle de formigas está no aprimoramento do contato entre a cutícula das formigas e os conídios, encontrando uma formulação que seja resistente à limpeza. Como medida adicional, deve haver o desenvolvimento de doses maiores de conídios para que estes possam escapar do comportamento de limpeza e da inativação através das secreções antibióticas das formigas.

Possibilitando uma boa dispersão através da colônia e utilizando-se de uma formulação que não possa ser limpada facilmente pelas formigas, é possível obter uma infecção em massa que oprimas a higiene delas, perturbando a ordem social e eliminando a colônia.

No caso da utilização de nematóides, também são necessários mais estudos com outras formulações que impeçam a percepção das formigas, fazendo com que elas não mudem de local. Concentrações mais altas de juvenis infectivos também são sugeridas para que esses patógenos possam infectar mais os indivíduos adultos e um maior número de crias.

Além disso, sugere-se uma alternativa de controle biológico associado com aplicações de inseticidas químicos. Propõe-se aplicação de um inseticida nos formigueiros em doses baixas seguido de um entomopatógeno, de forma que o inseticida desestruture a colônia tornando-a mais suscetível à ação dos entomopatógenos.

Avançando-se nessa linha de pesquisa não resta dúvida que os organismos entomopatogênicos podem ser formas promissoras para o controle de formigas pragas.

Com relação à presença destes entomopatógenos em formigueiros, ficou claro que eles provavelmente possuem uma capacidade de permanecer nas colônias destes insetos.

O presente estudo sugere portanto, um aprofundamento neste assunto para que se possa entender melhor a relação dos microrganismos entomopatogênicos e as colônias de formigas, bem como a sua utilização para o controle de insetos pragas.

9. CONCLUSÕES

Os fungos e nematóides entomopatogênicos estão presentes em colônias de formigas invasoras em áreas onde suas populações estão em equilíbrio e nas áreas infestadas. Observou-se que houve um maior número de amostras contendo entomopatógenos em solos de controle, não estando portanto, associados a formigas.

O nematóide *Steinernema* sp. foi isolado tanto em amostras de formigueiros quanto em amostras de controle. Já *Heterorhabditis* sp., foi isolado somente em amostras de controle. Com relação aos fungos, *Beauveria bassiana*, *Metarhizium anisopliae* e *Paecilomyces* sp., pôde-se verificar isolamentos em amostras de solos de formigueiros e de controle.

Em testes de laboratório, o fungo *Beauveria bassiana*, tanto o isolado de formigueiro quanto o isolado pertencente à Coleção de Entomopatógenos Oldemar Cardim de Abreu do Instituto Biológico, nas duas concentrações testadas apresentou maior mortalidade de operárias da espécie *M. floricola*. Os nematóides *Steinernema* sp. e *Heterorhabditis* sp. pertencentes a Coleção de Entomopatógenos Oldemar Cardim de Abreu do Instituto Biológico, apresentaram mortalidade semelhante em operárias de *M. floricola* em condições de laboratório.

As colônias de formiga que receberam a aplicação de nematóides mudaram-se de local na tentativa de manterem-se longe da infecção. Já as colônias que receberam fungos entomopatogênicos não apresentaram este comportamento de fuga, porém limpavam-se constantemente para livrarem-se dos conídios aplicados.

A aplicação tanto de fungos quanto de nematóides nas concentrações utilizadas neste trabalho não foram capazes de atingir as colônias das formigas da espécie *M. floricola*. Este trabalho conclui ainda que os comportamentos de defesa das formigas, como por exemplo o comportamento de limpeza e o comportamento de fuga dos ninhos devem ser considerados para a utilização de fungos e nematóides como formas de controle biológico.

10. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ADAMS, B.J.; FODOR, A.; KLEIN, M. G.; SMITH, H. L.; STACKEBRANDT, E.; STOCKS, S. P. Biodiversity and systematic of nematode-bacterium entomopathogens. Biological Control, v. 38, p. 4-21, 2006.
- ADAMS, C.T. Agricultural and medical impact of the imported fire ants. In: LOFGREN, C. S.; VANDER MEER, R.K. (Eds.). Fire ants and leaf-cuttings ants: biology and management. Westview Press, Boulder, p. 48-57, 1986.
- ALLEN, G. E.; BUREN, W. F. Microsporidian and fungal diseases of *Solenopsis invicta* Buren in Brazil. Journal of the New York Entomological Society, Lawrence, v. 82, p. 125-130, 1974.
- ALLEN, G. E.; KNELL, J.D. Pathogens associated with the *Solenopsis saevissima* complex in South America. Proceedings Tall Timbers Conference on Ecological Animal Control by Habitat Management, v.7, p.87-94, 1980.
- ALMEIDA, J.E.M.; BATISTA FILHO, A. Microrganismos no controle de pragas. In: Controle Biológico de pragas: na prática, PINTO, A.S.; NAVA, D.E.; ROSSI, M.M.; MALERBO-SOUZA, D.T. (Eds.). Piracicaba: CP, v.2, p.35-44, 2006.
- ALMEIDA, J.E.M.; MACHADO, L.A. Fungos entomopatogênicos. Boletim Técnico do Instituto Biológico, Controle Biológico de Insetos e Ácaros, São Paulo, SP, n.15, p.13-27, 2006.
- ALVES, S. B. Controle microbiano de insetos. Editora Manole, São Paulo, Brasil, 1986.
- ALVES, S. B. Fungos entomopatogênicos. In: ALVES, S.B (Ed.). Controle microbiano de insetos. Piracicaba: Fealq, cap 11, p. 289-381, 1998.
- ALVES, S. B., SOSA GÓMEZ. Virulência do *Metarhizium anisopliae* e *Beauveria bassiana* para duas castas de *Atta sexdens rubropilosa*. Poliagro, v.5, p.1-9, 1983.
- ALVES, S. B.; STIMAC, J. L.; CAMARGO, M. T. V. Suscetibilidade de *Solenopsis invicta* Buren e *S. saevissima* Fr. Smith a isolados de *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuill. Anais da Sociedade Entomológica Brasileira, v.17, p. 379-387, 1988.

ALVES, S. B.; LOPES, R.B.; PEREIRA, R.M.; TAMAI, M.A. O controle microbiano na América Latina. In: Controle microbiano de pragas na América Latina. Avanços e desafios. ALVES, S.B.; LOPES, R.B (Eds.). Fealq, v.14, p. 21-48, 2008.

AMANTE, E. A saúva *Atta capiguara*, praga das pastagens. Instruções Práticas-DPA, v.41, p. 1-12, 1967.

ATTYGALE, A.B.; SIEGEL, B.; VOSTROWSKY, O.; BESTMANN; H.J.; MASCHWITZ, V. Chemical composition and function of metapleural gland secretion of the ant *Crematogaster deformis* Smith (Hymenoptera: Formicidae). Journal of Economic Entomology, v. 15, p. 317-329, 1989.

BAER, B.; SCHMID-HEMPEL, P. Experimental variation in polyandry affects parasite loads and fitness in a bumble-bee. Ecology, v.397, p.151-154, 1999.

BAILEY, L. Viruses and Hymenoptera. In: GIBBS, A. J. (Ed.). Viruses and invertebrates. p. 442-454, North-Holland, Amsterdam, The Netherlands, 673 p., 1973.

BAIRD, R.; WOOLFLOK, S.; WATSON, C. E. Survey of bacterial and fungal associates of black/hybrid imported fire ants from mounds in Mississippi. Southeastern Naturalist, v.6, n.4, p. 615-632, 2007.

BANKS, W. A.; JOUVENAZ, D. P.; WOJCIK, D.P.; LOFGREN, C. S. Observations on fire ants, *Solenopsis invicta* ssp., in Mato Grosso, Brazil. Sociobiology, v.11, n. 2, p. 143-152, 1985.

BASIBUYUK, H. H.; QUICKE, D. L. J. Grooming behaviors in the Hymenoptera (Insecta): potential phylogenetic significance. Zoological Journal of the Linnean Society, v. 125, p. 349-382, 1999.

BATISTA-FILHO, A. Controle biológico: alternativa para uma agricultura sustentável. Boletim Técnico do Instituto Biológico, Controle Biológico de Insetos e Ácaros, São Paulo, SP. n.15, p. 1-3, 2006.

BAUER, M.E.; KAYA, H.K. Persistence of entomopathogenic nematodes. In: Environmental Persistence of Entomopathogens and Nematodes. Souther Associations of Experiment Station Directors, Oklahoma State University, Southern Cooperative Series Bulletin. In press. 1998.

BEATTIE, A.J.; TURNBULL, C.; HOUGH, T.; JOBSON, S.; KNOX, R.B. The vulnerability of pollen and fungal spores to ant secretions: evidence and some evolutionary implications. American Journal of Botany, v. 72, p. 606-614, 1985.

BEDDING, R. A. Nematode parasites of Hymenoptera. In: NICKLE, W. R. (Ed.), Plant and insect nematodes, p. 755-795, Marcel Dekker, New York, 925 p, 1984.

BELT, T. The naturalist in Nicaragua (1985 reprint). Chicago, IL: University of Chicago Press. 1974.

BIEMAN, D. N.; WOJCIK, D. P. Tracking ants in Florida: The results of a Florida ant survey and a key to common structure-invading ants. PCO, Florida Pest Control Service Management, p.11-13, 1990.

BILLEN, J. A survey of the glandular system of fire ants. In: VANDER MEER, R.K.; JAFFE, K.; CEDENO, A. (Eds.). Applied Myrmecology: a world perspective. p. 85-94, Westview Press. Boulder, San Francisco, 741p., 1990.

BLOWERS, M.C.; JACKSON, C.W.; KNAPP, J.J. Effect of composition of alginate granules on their potencial as carriers of microbial control agents against the leaf-cutting ant *Atta sexdens*. In: BILLEN, J. (Ed.), Biology and Evolution of Social Insects. Leuven University Press, Belgium, p. 145-151, 1992.

BLOWERS, M.C. The potencial of entomopathogenic fungi for the control of life-cutting ants. Ph.D. thesis, University of Southampton, UK, 1994.

BOARETTO, M. A. C.; FORTI, L. C. Perspectivas no Controle de Formigas Cortadeiras. Série Técnica IPEF, Departamento de Defesa Fitossanitária, FCA/UNESP, v.11, n. 30, p. 31-46. 1997.

BOFF, M. I.; WIEGERS, G.L.; GERRITSEN, L.J.M.; SMITS, P.H. Development of the entomopathogenic nematode *Heterorhabditis megidis* strain NHL-E87.3 in *Galleria mellonella*. Nematology, v.2, p. 303-308, 2000.

BOUCIAS, D.G.; PENDLAND, J.C. Principles of insect pathology. Kluwer, Dordrecht, 1998.

BOND, W.; SLINGSBY, P. Collapse of an ant-plant mutualism: The argentine ant (*Iridomyrmex humile*) and myrmecochorus Proteacea. Ecology, v.65, n.4, p.1031-1037. 1984.

BRANDÃO, C.R.F.; PAIVA, R.V.S. The Galapagos ant fauna and the attributes of colonizing ant species. In: WILLIAMS, D.F. (Ed.), Exotic ants: biology, impact and control of introduced species. Boulder, Westview Press, p. 1 – 10, 1994.

BRIANO, J.A.; WILLIAMS, D.F. Natural occurrence and laboratory studies of the fire ant pathogen *Vairimorpha invictae* (Microsporida: Burenellidae) in Argentina. Environmental Entomology, v. 31, p. 887-894, 2002.

BRIANO, J. A.; PATTERSON, R. S.; CORDO, H. A. Long-term studies of the black imported fire ant (Hymenoptera: Formicidae) infected with a Microsporidium. Environmental Entomology, v. 24, p. 1328-1332, 1995a.

BRIANO, J.A.; JOUVENAZ, D.P.; WOJCIK, D.P.; CORDO, H.A.; PATTERSON, R.S. Protozoan and fungal diseases in *Solenopsis richteri* and *S. quinquecupis* (Hymenoptera: Formicidae), in Buenos Aires province, Argentina, Florida Entomologist, v. 78, p. 531-537, 1995b.

BRIANO, J.A.; CALCATERRA, L.A.; VANDER MEER, R.; VALLES, S.M.; LIVORE, J.P. New survey for the fire ant microsporidia *Vairimorpha invictae* and *Thelohania solenopsae* in southern South America, with observations on their field persistence and prevalence of dual infections. Environmental Entomology, v. 35, p. 1358-1365, 2006.

BROME, J.R. Microbial control of the imported fire ant *Solenopsis richteri*, Ph.D. dissertation, Mississippi State University, Mississippi State, MS., 1974.

BROWN, W. L. An hypothesis concerning the function of metapleural glands in ants. The American Naturalist, v. 102, p. 188-191, 1968.

BRUCE, W. A.; LECATO, G. L. *Pyemotes tritici*: a potential new agent for biological control of the red imported fire ant, *Solenopsis invicta* (Acari: Pyemotidae). International Journal of Acarology, v. 4, p. 271-274, 1980.

BUENO, O.C.; CAMPOS-FARINHA, A.E.C. As formigas domésticas. In: MARICONI, F.A.M. (Eds.). Insetos e outros invasores de residências. Piracicaba: Fealq, p. 135-180, 1999.

BUREN, W. F. Artificial faunal replacement for imported fire ant control. Florida Entomologist, v. 66, p. 93-100, 1983.

BUSCHINGER, A.; MASCHWITZ, U. Defensive behavior and defensive mechanisms in ants. In: HENRY, R.; HERMANN (Eds.), *Defensive Mechanisms in social insects*. Praeger, New York, 95-150, 1984.

CAMPOS-FARINHA, A. E. C.; JUSTI JR., J.; BERGMAN, E.C.; ZORZENON, F.J.; NETTO, S.M.R. Formigas urbanas. Boletim Técnico do Instituto Biológico, v. 8, p.1-120, 1997.

CAMMAERTS, M.C.; CAMMAERTS, R. Marking of nest entrance vicinity in the ant *Pheidole pallidula* (Formicidae: Myrmicinae). Behavioural Processes, v.42, p.19-31, 1998.

CAMMELL, M. E.; WAY, M. J.; PAIVA, M. R. Diversity and structure of ant communities associated with oak, pine, eucalyptus and arable habitat in Portugal. Insectes Sociaux, v. 43, p. 37-46, 1996.

CHAME, M. Espécies exóticas invasoras que afetam a saúde humana. Ciência e Cultura, ano 61, n. 1, p. 30-34, 2009.

CHERRETT, J. M. The economic importance and control of leaf-cutting ants. In: VINSON, S. B. (Ed.). *Economic Impact and Control of Social Insects*, Praeger, New York, p. 165-192, 1986.

CICHE, T.A.; ENSIGN, J.C. For the insect pathogen *Photorhabdus luminescens*, which end of a nematode is out? Applied and Environmental Microbiology, p. 1890-1897, 2003.

CLARK, D. B.; GUAYSAMÍN, C.; PAZMINO, O.; DONOSO, C.; PAEZ DE VILLACÍS, Y. The tramp ant *Wasmannia auropunctata*: Autecology and effects on ant diversity and distribution on Santa Cruz Island, Galápagos. Biotropica, v. 14, p. 196-207, 1982.

CORNELIUS, M.L.; GRACE, J.K.; FORD, P.W.; DAVIDSON, B.S. Toxicity and repellence of semiochemicals extrates from a Dolichoderinae ant (Hymenoptera:Formicidae) to the Formosan subterranean termite (Isoptera:Rhinotermitidae). Environmental Entomology, v. 24, n. 5, p. 1263-1269, 1995.

CURRIE, C.R.; STUART, A.E. Weeding and grooming of pathogens in agriculture by ants. Proceedings Of The Royal Society Of London Series B-Biological Sciences, v. 268, p. 1033-1039, 2001.

CURRIE, C.R.; SCOTT, J.A.; SUMMERBELL, R.C.; MALLOCH, D. Fungus growing ants use antibiotic-producing bacteria to control garden parasites. Nature, v. 389, p. 701-704, 1999.

DALOZE, D.; BRAEKMAN, J.C.; VANHECKE, P.; BOEVÉ, J.L.; PASTEELS, J.M. Long chain electrophilic contact poisons from the Dufour's gland of the *Crematogaster scutellaris* (Hymenoptera:Mymicinae). Canadian Journal of Chemistry, v. 65, n. 2, p. 432-435, 1987.

DARWIN, C. The origin of the species: by means of natural selection. Londres: John Murray, p. 352, 1959.

DEBACH, P. Biological Control by Natural Enemies. Cambridge Univ. Press: London 323p. 1974.

DELABIE, J.H.C. Evolução das relações trofobióticas entre formigas e homópteros. In: Anais do XV Encontro de Mirmecologia, Londrina:UEL, n. 15, p. 153-157, 2001.

DIEHL-FLEIG, E.; LUCCHESI, M.E. Reações comportamentais de operárias de *Acromyrmex striatus* (Hymenoptera:Formicidae) na presença de fungos entomopatogênicos. Revista Brasileira de Entomologia, v. 35, p. 101-107, 1991.

DIEHL-FLEIG, E.; JUNQUEIRA, L.K. Seasonal variations of metapleura secretions in leaf-cutting ant *Atta sexdens piriventris* Santschi (Myrmicinae:Attini), and lack of fungicide effect on *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuillemin. Neotropical Entomology, v.30, n.4, p. 517-522, 2001.

DIEHL-FLEIG, E.; SILVA, M. E.; PACHECO, M. R. M. Testes de patogenicidade dos fungos *Beauveria bassiana* e *Metarhizium anisopliae* em *Atta sexdens piriventris* (Santschi, 1919) em diferentes temperaturas. Ciência e cultura, São Paulo, v. 40, n.11, p. 1103-1105, 1988.

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 de Entomologia do Brasil, v. 22, p. 281-285, 1993.

DISNEY, R. H. L. A new species of *Apocephalus* (Diptera: Phoridae) that parasitises *Atta texana* (Hymenoptera: Formicidae) in Texas. Zeitschrift fuer Angewandte Zoologie, v. 67, p. 47-50, 1980.

DOWDS, B.; PETERS, A. Virulence mechanisms. In: GAUGLER, R. (Ed.) Entomopathogenic Nematology. New York: Cabi Publishing, p. 79-98, 2002.

DREES, B.M.; MILLER, R.W.; VINSON, B.; GEORGIS, R. Susceptibility and behavioral response of red imported fire ant (Hymenoptera:Formicidae) to selected entomogenous nematodes (Rhabditida: Steinernematidae & Heterorhabditidae). Journal of Economic Entomology, v. 85, n. 2, p. 365-370, 1992.

EHRlich, P. R. Which animal will invade? In: MOONEY, H. A.; DRAKE, J. A. Ecology of biological invasions of North America and Hawaii. Springer-Verlag, New York, New York, USA. p. 79-95, 1986.

ELTON, C. S. The ecology of invasions by animals and plants. Methuen, London, 1958.

ERICKSON, J. M. The displacement of native ant species by the introduced Argentine ant *Iridomyrmex humilis* Mayr. Psyche, v. 78, p. 257-268, 1971.

EVANS, H. C. Natural Control of arthropods, with special reference to ants (Formicidae), by fungi in the tropical high forest of Ghana. Journal of Applied Ecology, v. 11, p. 37-49, 1974.

EVANS, H. C. Entomogenous fungi in tropical forest ecosystems: an appraisal. Ecological Entomology, v. 7, p. 47-60, 1982.

EVANS, H. C. Mycopathogens of insects in epigeal and aerial habitats. In: WILDING, N.; COLLINS, N. M.; HAMMOND, P. M.; WEBER, J. F. (Eds.), Insect-Fungus Interactions. London Academic Press, London, p. 205-238, 1989.

EVANS, H. C.; SAMSOM, R. A. *Cordyceps* species and their anamorphs pathogenic on ants (Formicidae) in tropical forest ecosystems II. the *Camponotus* (Formicinae) complex. Transactions Of The British Mycological Society, v. 82, p. 127-150, 1984.

FEENER, D. H., Jr. Competitions between ant species: outcome controlled by parasitic flies. Science, v. 214, p. 815-817, 1981.

FERNÁNDEZ-MARÍN, H., ZIMMERMAN, J. K ; REHNER, S.A.; A.R.; WCISLO, W. T. Active use of the metapleural glands by ants in controlling fungal infection. Proceedings Of The Royal Society B-Biological Sciences, v. 273, p.1689-1695, 2006.

FORTI, L. C., BOARETTO M. A. C. Formigas cortadeiras: biologia, ecologia, danos e controle. Botucatu: Universidade Estadual Paulista, 61p. 1997.

FOWLER, H. G.; FORTI, L. C.; PEREIRA-DA-SILVA, V.; SAES, N.B. Economics of grass-cutting ants. In: LOFGREN, C. S.; VANDER MEER, R. K. (Eds.). Fire Ants & Leaf-Cutting Ants, Biology & Management. Westview Press, Boulder., p. 18-35, 1986.

FUXA, J.R.; RICHTER, A.R. Effects of soil moisture and composition and fungal isolate on prevalence of *Beauveria bassiana* in laboratory colonies of the red imported fire ant (Hymenoptera:Formicidae). Environmental Entomology, v. 33, n. 4, p. 975-981, 2004.

GIRAULD, T.; PEDERSEN, J. S.; KELLER, L. Evolution of supercolonies: The argentine ants in Southern Europe. Proceedings Of The National Academy Of Sciences Of The United States Of America, v. 99, p. 6075-6079, 2002.

GAUGLER, R; BOUSH, G. M. Effects of ultraviolet radiation and sunlight on the entomopathogenic nematode, *Neoplectana carpocapse*. Journal of Invertebrate Pathology, v. 32, p. 291-296, 1978.

HAJEK, A.E. Invasive arthropods and approaches for their microbial control. In: HAJEK, A.E. et al. (Eds.), Use of microbes for control and eradication of invasive arthropods, Springer Science Business Media B.V., p. 3-15, 2009.

HARRIS, R.J. Potencial impact of argentine ant (*Linepithema humile*) in New Zealand and opinions for control. Science of Conservation, 196p., 2002.

HERVEY, A.; NAIR, M. S. R. Antibiotic metabolite of a fungus cultivated by gardening ants. Mycologia, v. 71, p. 1064-1066, 1979.

HÖLLDOBLER, D.; ENGEL-SIEGEL, H. On metapleural gland of ants. Psyche, v.91, p. 201-224, 1984.

HÖLLDOBLER, D.; WILSON, E. O. The number of queens: an important trait in ant evolution. Naturwissenschaften, v. 64, p. 8-15, 1977.

HÖLLDOBLER, D.; WILSON, E. O. The ants. Harvard University Press, Cambridge, Massachusetts. 732p., 1990.

HOLWAY, D. A. Factors governing rate of invasion: a natural experiment using argentine ants. Oecologia, v. 115, p. 206-212, 1998.

HOLWAY, D. A.; LACH, L.; SUAREZ, A.V.; TSUTSUI, N. D.; CASE, T.J. The causes and consequences of ant invasion. Annual Review of Ecology and Systematics, v. 33, p. 181-233, 2002.

HOMINICK, W. M.; REID, A. P.; BOHAN, D.A.; BRISCOE, B.R. Entomopathogenic nematodes: Biodiversity, geographical distribution and convention on biological diversity. Biocontrol Science and Technology, v. 6, p. 371-331, 1996.

HUFBAUER, R.A.; TORCHIN, M.E. Integrating ecological and evolutionary theory of biological invasions. In: NENTWING, W. (Ed.), Biological invasions. Springer, Berlin, p. 79-96, 2007.

HUGUES, W. O. H., EILENBERG, J.; BOOMSMA, J. J. Trade-offs in group living: transmission and disease resistance in leaf-cutting ants. Proceedings Of The Royal Society B-Biological Sciences, v. 269, p. 1811-1819, 2002.

HUMAN, K. G.; GORDON, D. M. Exploitation and interference competition between the invasive Argentine ant, *Linepithema humile*, and native ant species. Oecologia, v. 105, p. 405-412, 1996.

INSTITUTO BIOLÓGICO. Disponível em www.biologico.sp.gov.br. Acesso em 29 jan. 2010.

ISHIBASHI, N.; KONDO, E. *Steinernema feltiae* (DD-138) and *S. glaseri*: persistence in soil and bark compost and their influence on native nematodes. Journal of Nematology, v. 18, p. 310-316, 1986.

ISHIBASHI, N.; KONDO, E. Dynamics of the entomopathogenic nematode, *Steinernema feltiae*, applied to soil with and without nematicide treatment. Journal of Nematology, v. 19, p. 404-412, 1987.

JACCOUD, D.B. Biological control of leaf-cutting ants, *Atta sexdens*: laboratory studies on the pathogen *Metarhizium anisopliae*. MSc. Thesis. University of London, UK, 1996.

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.

JACOB, L. Seleção de ingredientes ativos para o controle de formigas urbanas. Rio Claro, SP. Dissertação de mestrado apresentada ao Instituto de Biociências da Universidade Estadual Paulista, 146p, 2002.

JAFFÉ, K.; PUCHE, H. Colony-specific territorial marking with the metapleural gland secretion in the ant *Solenopsis germinata* (Fabr.) F. Insect Physiology, v. 30, p. 265-270, 1984.

JAROZS, J.; BALCERZAK, M.; SKRZYPEK, H. Involvement of laticidal toxin in pathogenesis of insects parasitism with the rhabditid nematodes, *Steinernema faltiae* and *Heterorhabditis bacteriophora*. Entomophaga, v. 36, p. 361-368, 1991.

JEMAL, A.; HUGHES-JONES, M. A review of the red imported fire ant (*Solenopsis invicta* Buren) and its impacts on plant, animal, and human health. Preventive Veterinary Medicine, v. 17, p. 19-32, 1993.

JOUVENAZ, D. P. Natural enemies of fire ants. Florida Entomologist, v. 66, p. 111-121, 1983.

JOUVENAZ, D.P. Diseases of fire ants: problems and opportunities. In LOFGREN, C.S.; VANDER MEER, R.K. (Eds.) Fire ants and leaf-cutting ants: biology and management. Westview Press, Boulder, CO, p. 327-338, 1986.

JOUVENAZ, D. P. Approaches to biological control of fire ants in the United States. In: VANDER MEER, R. K.; JAFFE, K.; CEDENO, A. (Eds.). Applied myrmecology: a world perspective, p. 620-627. Westview Press, Boulder, Colorado, 741 p., 1990.

JOUVENAZ, D.P.; WOJCIK, D.P. Biological control of the imported fire ants. Semi Annual Report of Research Conducted on Imported Fire Ants. SEA, Agrc. Res. Gainesville, FL and Gulfport, MS. Report, v. 81, n. 1, p. 54-55, 1981.

JOUVENAZ, D.P.; LOFGREN, C.S. Steinernematid nematode drenches for control of fire ants, *Solenopsis invicta*, in Florida. Florida Entomologist, v.73, n.1, p.190-193, 1990.

JOUVENAZ, D. P.; MARTIN, W. R. Evaluation of the nematode *Steinernema carpocapsae* to control fire ants in nursery stock. Florida Entomologist, v. 75, p. 148-151, 1992.

JOUVENAZ, D. P.; BLUM, M. S.; MACCONNEL J. G. Antibacterial activity of venom alkaloids from the imported fire ant, *Solenopsis invicta* Buren. Antimicrobial Agents and Chemotherapy, v. 2, p. 291-293, 1972.

JOUVENAZ, D. P.; BANKS, W. A.; ATWOOD, J. D. Incidence of pathogens in fire ants: *Solenopsis* spp., in Brazil. Florida Entomologist, v. 63, p. 345-346, 1980.

JOUVENAZ, D. P.; LOFGREN, C. S.; BANKS, W. A. Biological control of imported fire ants: a review of current knowledge. Bulletin of the Entomological Society of America, v. 27, p. 203-208, 1981.

JOUVENAZ, D.P.; LOFGREN, C. S.; MILLER, R. Steinernematid nematode drenches for control of fire ants, *Solenopsis invicta*, in Florida. Florida Entomologist, v. 73, n. 1, p. 190-193, 1990.

KAYA, H. K.; GAUGLER, R. Entomopathogenic nematodes. Annual Review of Entomology, v. 38, p. 181-206, 1993.

KELLEY-TUNIS, K.K.; REID, B.L.; ANDIS, M. Activity of entomopathogenic fungi in free-foraging workers of *Camponotus pennsylvanicus* (Hymenoptera:Formicidae). Journal of Economic Entomology, v. 88, n. 4, p. 937-943, 1995.

KERMARREC, A.; DECHARME, M. Ecopathological aspects in the control of *Acromyrmex octospinosus* Reich (Form., Attini) by entomophagous fungi. In: BREED, M.D.; MICHENER, C.D.; EVANS, H.E. (Eds.). *Biology of Social Insects*. Westview Press, Boulder, Colorado, 148p. 1982.

KERMARREC, A.; FEBUAY, G.; DE CHARME, M. Protection of leaf-cutting ants from biohazards: is there future for microbiological control? In: LOFGREN, C.S.; VANDER MEER, R.K. *Fire ants and leaf-cutting ants – biology and management*. Westview Press, p. 339-56. 1986.

KRAMM, K. R.; WEST, D.F.; ROCKENBACH, P.G. Termite pathogens: transfer of the entomopathogen *Metharhizium anisopliae* between *Reticulitermes* sp. Termites. Journal of Invertebrate Pathology, v. 40, p. 1-6, 1982.

KUGLER, C. A comparative study of the Myrmicinae sting apparatus (Hymenoptera:Formicidae). Studia Entomology, v. 20, n. 1, p. 413-543, 1978.

LACEY, L.A; FRUTOS, R.; KAYA, H.K.; VAIL, P. Insect pathogens as biological control agents: Do they have a future? Biological Control, v. 21, p. 230-248, 2001.

LAUMOND, C.; MAULEON, H.; KERMARREC, A. New data on the host spectrum and the parasitism of the entomophagous nematode, *Neoaplectana carpocapse*. Entomophaga, v. 24, p. 13-27, 1979.

LAURENT, P.; HAMDANI, A.; BRAEKMAN, J.C.; DALOZE, D.; ISBELL, L.A.; DE BISEAU, J.C.; PASTEELS, J.M. New 1-alk(en)yl-1,3 5-trihydroxycyclohexanes from Dufour gland of the African ant *Crematogaster nigriceps*. Tetrahedron Letters, v. 44, p. 1383-1396, 2003.

LECLERCQ, S.; BRAEKMAN, J.C.; KAISIN, M.; DALOZE, D.; DETRAIN, C.; DE BISEAU, J.C.; PASTEELS, J.M. Venom constituents of three species of *Crematogaster* ants from Papua New Guinea. Journal of Natural Products, v. 60, n. 11, p. 1143-1147, 1997.

LECLERCQ, S.; BRAEKMAN, J.C.; DALOZE, D.; PASTEELS, J.M. The defensive chemistry of ants. Progress In The Chemistry Of Organic Natural Products, v. 79, p. 115-229, 2000a.

LECLERCQ, S.; DE BISEAU, J.C.; BRAEKMAN, J.C.; DALOZE, D.; QUINET, Y.; LUHMER, M.; SUNDIN, A.; PASTEELS, J.M. Furanocembranoid diterpenes as defensive compounds in the Dufour gland of the ant *Crematogaster brevispinosa rochai*. Tetrahedron Letters, v. 56, p. 2037-2042, 2000b.

LECLERCQ, S.; De BISEAU, J.C.; DALOZE, D.; BRAEKMAN, J.C.; QUINET, Y.; PASTEELS, J.M. Five new furanocembrenoids from the venom of the ant *Crematogaster brevispinosa ampla* from Brazil. Tetrahedron Letters, v.41, p. 633-637, 2000c.

LEITE, L;G. Nematóides entomopatogênicos. Boletim Técnico do Instituto Biológico, Controle Biológico de Insetos e Ácaros, São Paulo, SP. n.15, p. 42-51. 2006.

LEITE, L.G.; TAVARES, F.M.; GINARTE, C.M.A.; CARREGARI, L.; BATISTA FILHO, A. Nematóides entomopatogênicos no controle de pragas. In: PINTO, A.S.; NAVA, D.E.; ROSSI, M.M.; MALERBO-SOUZA, D.T. (Eds.). Controle Biológico de pragas: na prática. Piracicaba: CP 2, p. 45-53, 2006.

LELLO, E.R.; PATEL, M.N.; MATHEW, G.A.; WRIGHT, D.T. Application technology for entomopathogenic nematodes against foliar pests. Crop Protection, v. 15, p. 567-574, 1996.

LEVIN, B.R.; BONTEN, M.J.M. Cycling antibiotics may not be good for your health. Proceedings of the National Academy of Sciences, USA101, v.13, p. 101-113, 2004.

LIMA, A.F.; VIEGAS, E.C.; RACCA, F.F. *Metharhizium anisopliae* (Metch.) Sorokin no controle de *Atta sexdens rubropilosa* Forel, 1908 (Hymenoptera:Formicidae). In: Resumos de X Congresso Brasileiro de Entomologia, Brasil, 196p., 1986.

- LODGE, D. M. Biological invasions, lessons for Ecology, Tree, v. 8, n. 4, p. 133-137, 1993.
- LOFGREN, C. S. The economic importance and control of imported fire ants in the United States. In: VINSON, S. B. (Ed.). Economic impact and control of social insects. Praeger, New York, New York, USA, p. 227-255, 1986.
- LOFGREN, C. S.; WILLIAMS, D.F. polygynous colonies of the red imported fire ant, *Solenopsis invicta* (Hymenoptera: Formicidae) in Florida. Florida Entomologist, v. 67, n. 3, 1984.
- LOFGREN, C. S.; BANKS, W. A.; GRANCEY, B. M. Biology and control of imported fire ants. Annual Review of Entomology, v. 20, p. 1-30, 1975.
- LOPIAN, R. The international plant protection convention and invasive alien species. Proceedings of the workshop on invasive alien species and the international plant protection convention. Braunschweig, Germany: FAO. 22-26, p. 6-16, 2005.
- LOUREIRO, E. S.; MONTEIRO, A.C. Seleção de isolados de *Beauveria bassiana*, *Metarhizium anisopliae* e *Paecilomyces farinosus*, patogênicos para operárias de *Atta sexdens* (Linnaeus, 1758) (Hymenoptera:Formicidae). Arquivos do Instituto Biológico, v.71, p. 35-40, 2004.
- LOUREIRO, E. S.; MONTEIRO, A.C. Patogenicidade de três fungos entomopatogênicos a soldados de *Atta sexdens* (Linnaeus, 1758) (Hymenoptera:Formicidae). Revista Árvore, v. 29, p. 553-561, 2005.
- LUBIN, Y. D. Changes in the native fauna of the Galápagos Islands following invasión by the little red fire ant, *Wasmannia auropunctata*. Biological Journal of the Linnean Society, v. 21, p. 229-242, 1984.
- LUNZ, A. M.; HARADA, A.Y.; AGUIAR, T. S.; CARDOSO, A.S. *Solenopsis saevissima* F. Smith (Hymenoptera: Formicidae) – Um novo inseto praga para a cultura do paricá. Comunicado técnico (EMBRAPA), p 1-5, 196p., 2007.
- LUNZ, A.M; HARADA, A.Y; AGUIAR, T.S.; CARDOSO, A.S. Danos de *Solenopsis saevissima* F. Smith (Hymenoptera: Formicidae) em Paricá, *Schizolobium amazonicum*. Neotropical Entomology [ONLINE]. 2009, v. 38, n.2, p. 285-288, 2009.
- LUZ, V. P. Técnicas agrícolas. Editora Ática. São Paulo, v. 2, p. 56-58, 1991.

MACHADO, C.J.S.; OLIVEIRA, A.E.S. Espécies exóticas invasoras: problema nacional ainda pouco conhecido. Ciência e Cultura, ano 61, n. 1, p. 22-23, 2009.

MADI, L.F.C.; SALLES FILHO, S.L.M.; ALBUQUERQUE, R.H.P.L. Pesquisa e inovação agrícola – Uma dupla agenda para o futuro da agricultura paulista. Revista da Agência Paulista de Tecnologia dos Agronegócios, 18p, 2006.

MAJER, J. D. Recolonization by ants of rehabilitated mineral sand mines in North Stradbroke Island, Queensland, with particular reference to seed removal. Australian Journal of Ecology, v. 10, p. 31-48, 1985.

MAJER, J. D. Spread of argentine ants (*Linepithema humile*), with special reference to Western Australia. In: WILLIAMS, D.F. (Ed.): Exotic ants: biology, impact and control of introduced species. Boulder: CO., Westview Press, p. 163-173. 1994.

MALCOM, T.E.; PORTER S.D. Comparison of polygyne and monogyne red imported fire ant (Hymenoptera: Formicidae) population densities. Annal of the Entomological Society of America, v.89, p. 535 – 543, 1996.

MEYERSON, L.A.; MOONEY, H. A. Invasive alien species in an era of globalization. Frontiers in Ecology Environment, v.5, n.4, p. 199-208, 2007.

MILLER, S. R.; BROWN. L. R. Studies on microbial fire ant pathogens. Developments in Industrial Microbiology, v. 24, p. 443-445, 1983.

MILKS, M.L.; FUXA, J.R.; RICHTER, A.R.; MOSER, E.B. Multivariate analyses of the factors affecting the distribution, abundance and social form of Louisiana fire ants, *Solenopsis invicta*. Insectes Sociaux, v. 54, p. 283 –292, 2007.

MOLYNEUX, S. Survival of infective juveniles of *Heterorhabditis* spp. And *Steinernema* spp. (Nematoda:Rhabditida) at various temperatures and their subsequent infectivity for insects. Review Nematology, v. 8, p.165-170, 1985.

MOLYNEUX, S. *Heterorhabditis* spp. And *Steinernema* (= *Neoaplectana*) spp.: temperature, and aspects of behavior and infectivity. Experimental Parasitology, v. 62, p. 169-180, 1986.

MOLLER, H. Lessons for invasion theory from social insects. Biological Conservation, v.78, p.125-142, 1996.

MOONEY, H. A.; DRAKE, J. A. Ecology of biological invasions of North America and Hawaii. Springer-Verlag, New York, New York, USA. 1986.

MOONEY, H. A.; MACK, R.N.; McNEELY, J.A.; NEVILLE, L.E.; SCHEI, P.J.; WAGE, J.K. Invasive alien species: a new synthesis. SCOPE Series, Island Press, Washington, 2005.

NASCIMENTO, R.R., SCHOTERS, E.; MORGAN, E.D.; BILLEN, J.; STRADLING, D. Chemistry of metapleural gland secretions of three attine ants, *Atta sexdens rubropilosa*, *Atta cephalotes* and *Acromyrmex octospinosus* (Hymenoptera:Formicidae). Journal of Chemical Ecology v. 22, p. 987-1000. 1996.

NENTWING, W. Pathways in animal invasions. In: NENTWING, W. (Ed.), Biological invasions. Springer, Berlin, p. 11-27, 2007.

NICHOLS, B. J.; SITES, R. W. Ant predators of founder queens of *Solenopsis invicta* (Hymenoptera: Formicidae) in central Texas. Environmental Entomology, v. 20, p. 1024-1029, 1991.

NORTH, R. D., JACKSON, C. W.; HOWSE, P. E. Evolutionary aspects of ant-fungus interactions in leaf-cutting ants. Trends in Ecology & Evolution, v. 12, p. 386-389, 1997.

OI, D.H.; PEREIRA, R.M. Ant behaviour and microbial pathogens (Hymenoptera: Formicidae). Florida Entomologist, v.76, n.1, p.63-75, 1993a.

OI, D. H.; PEREIRA, R. M. Oral toxicity of chlordane, hydramethylnon, and omidacloprid to free foraging workers of *Camponotus pennsylvanicus* (Hymenoptera: Formicidae). Journal of Economic Entomology, v. 86, p. 1730-1737, 1993b.

OI, D. H.; WILLIAMS, D.F. Impact of *Thelohania solenopsae* (Microsporidia: Thelohannidae) on polygyne colonies of red imported fire ants (Hymenoptera:Formicidae). Journal of Economic Entomology, v. 95, p. 558-562, 2002.

OI, D. H.; VALLES, S.M. Fire ant control with entomopathogens in the USA. In: Progress in biological control: Use of microbes for control and eradication of invasive arthropods. HAJEK, A.E.; GLARE, T.; O'CALLAGHAN, M. (Eds.). Springer, v.6, p. 237-257, 2009.

OI, D. H.; PEREIRA, R. M.; STIMAC, J. L.; WOOD, L. A. Field Applications of *Beauveria bassiana* for control of the red imported fire ant (Hymenoptera: Formicidae). Journal of Economic Entomology, v. 87, n.3, p. 623-630, 1994.

OI, D. H.; BECNELL, J.J.; WILLIAMS, D.F. Evidence of intra-colony trasmission of *Thelohania solenopsae* (Microsporidia: Thelohaniidae) in red imported fire ants (Hymenoptera:Formicidae) and the first report of a new spore type from pupae. Journal of Invertebrate Pathology, v.78, p. 128-134, 2001.

OLIVEIRA, A.E.S.; MACHADO, C.J. A experiência brasileira diante das espécies exóticas invasoras e a perspectiva de formulação de uma política pública nacional. Ciência e Cultura, ano 61, n. 1, p. 23-26, 2009.

ORTIUS-LECHNER, D.; MAILE, R.; MORGAN, E.D.; BOOSMA, J.J. Metapleural gland secretions of the leaf-cutter ant *Acromyrmex octospinosus*: new compounds and their functional significance. Journal of Chemical Ecology, v. 26, p. 1667-1683, 2000.

PASSERA, L. Characteristics of tramp species. In: WILLIAMS, D.F. (Ed.). Exotic ants: biology, impact and control of introduced species. Boulder: Westview, p. 23-43, 1994.

PATEL, M.N.; STOLINSKI, M.; WRIGHT, D.J. Neutral lipids and the assessment of infectivity in entomopathogenic nematodes: observations on four *Steinernema* species. Parasitology, v.114, p. 489-496, 1997.

PATTERSON, R.S. Biological control of introduced ant species. In: WILLIAMS, D.F (Ed.). Exotic ants: biology, impact, and control of introduced species. p. 293-307, Westview Press, Boulder, Colorado, 332p, 1994.

PEREIRA, R. M.; STIMAC, J. L. Transmission of *Beauveria bassiana* wthin nests of *Solenopsis invicta* (Hymenoptera: Formicidae) in the laboratory. Environmental Entomology, v. 21, n. 6, p. 1427-1432, 1992.

PEREIRA, R. M.; STIMAC, J. L. Biocontrol options for urban pests. Journal of Agricultural Entomology, v. 14, p. 231-248, 1997.

PEREIRA, R. M., ALVES, S. B., STIMAC, J. L. Growth of *Beauveria bassiana* in fire ant nest soil with amendements. Journal of Invertebrate Pathology, Orlando, v. 62, n. 1, p. 9-14, 1993a.

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

PETERS, A. The natural host range of *Steinernema* and *Heterorhabditis* spp. And their impact on insect populations. Biocontrol Science and Technology, v. 6, p. 389-402, 1996.

PIMENTEL, D.; McNAIR, S. et al. Economic and environmental threats of alien plant, animal, and microbe invasions. Agriculture, Ecosystems and Environment, v. 84, p.1-20, 2001.

PIMENTEL, D.; ZUNIGA, R.; MORRISON, D. Update on the environmental and economic costs associated with alien species in the United States. Ecological Economics, v. 52, p. 273-288, 2005.

POINAR, G. O., Jr. Entomogenous nematodes: a manual and host list of insect-nematode associations. BRILL, E. J. (Ed.), Leiden, The Netherlands, 317 p., 1975.

POINAR, G.O. Nematodes for biological control of insects. CRC Press, Boca Raton, FL. 1979.

POINAR, G.O. Biology and taxonomy of Steinernematidae and Heterorhabditidae. In GAUGLER, R.; KAYA, H.K. (Eds.). Entomopathogenic nematodes in biological control. Boca Raton, FL: CRC Press Inc., p. 23-58, 1990.

POINAR, G.O.; THOMAS, G.M. Significance of *Achromobacter nematophilus* Poinar and Tomas (Achromabacteraceae: Eubacteriales) in the development of the nematode, DD-136 (*Neoplectana* sp. Steinernematidae). Parasitology, v. 56, p. 385-390, 1966.

POINAR, G. O., Jr., CHABAUD, A. G.; O. BAIN. *Rabbium paradoxus* sp. N. (Seuratidae: Skrbabinelaziinae) maturing in *Camponotus castaneus* (Hymenoptera: Formicidae). Proceedings Of The Helminthological Society Of Washington, v. 56, p. 120-124, 1989.

POOLE, M. A. Survey and control efficacy of endoparasites of *Solenopsis richteri* Forel and *S. invicta* Buren in Mississippi. Ph.D. Dissertation, Mississippi State University, Mississippi State, 92p., 1976.

PORTER, S. D. Impact of temperature on colony growth and developmental rates of the ant, *Solenopsis invicta*. Journal of Insect Physiology, v. 34, p. 1127-1133, 1988.

PORTER, S.D. Frequency and distribution of polygyne fire ants (Hymenoptera, Formicidae) in Florida. Florida Entomologist, v. 75, p. 248 – 257, 1992.

PORTER, S. D.; TCHINKEL, W. R. Fire ant polymorphism (Hymenoptera: Formicidae): factors affecting worker size. Annal of the Entomological Society of America, v. 78, p. 381-386, 1985.

PORTER, S. D.; SAVIGNANO, D. A. Invasion of polygyne fire ants decimates native ants and disrupts arthropod community. Ecology, v. 71, n. 6, p. 2095-2106, 1990.

PORTER, S. D.; BHATKAR, A.; MULDER, R.; VINSON S. B.; CLAIR, D. J. Distribution and density of polygyne fire ants (Hymenoptera: Formicidae) in Texas. Journal of Economic Entomology, v.84, p. 866-874, 1991.

PORTER, S. D.; FOWLER, H. G.; McKEY, W.P. Fire ant mound densities in the United States and Brazil (Hymenoptera: Formicidae). Journal of Economic Entomology, v. 85, p. 1154-1161, 1992.

PORTER, S.D.; FOWLER, H.G.; CAMPIOLO, S.; PESQUERO, M.A. Host specificity of several *Pseudacteon* (Diptera: Phoridae) parasites of fire ants (Hymenoptera:Formicidae) in South America. Fla Entomol, v. 78, p.70-75, 1995.

PORTER, S. D., WILLIAMS, D. F. PATTERSON, R. S, FOWLER, H.G. Intercontinental differences in the abundance of *Solenopsis* fire ants (Hymenoptera: Formicidae): escape from natural enemies? Environtal Entomology, v. 26, p. 373-384, 1997.

POULSEN, M.; BOR, A.N.M.; NIELSEN, M.G.; BOOMSMA, J.J. Experimental evidence for the costs and hygienic significance of the antibiotic metapleural gland secretion in leaf-cutting ants. Behavioral Ecology and Sociobiology, v. 52, p.151-157, 2002.

QUATTLEBAUM, E. C. Evaluation of fungal and nematode pathogens to control the red imported fire ant, *Solenopsis invicta* Buren. Ph.D. Dissertation, Clemson University, Clemson, S.C. 54p., 1980.

QUIROZ, L. J. V. Factores de mortalidad natural de reinas de *Atta mexcana* (Fr. Smith) en el Estado de Morelos, Mexico. In: Congreso Latinoamericano de Entomologia, 6, Mérida, Yucatán. Memórias. Mérida: Sociedad Mexicana de Entomologia, 56p., 1996.

RIBEIRO, F. M. Avaliação da dispersão e do impacto de *Linepithema humile* (Hymenoptera:Formicidae) sobre a comunidade de formigas em área antrópica no município de Limeira. Dissertação de mestrado apresentada ao Instituto de Biociências da UNESP – Campus de Rio Claro, 66p., 2004.

RIBEIRO, F. M.; CAMPOS-FARINHA, A. E. C. Invasões biológicas e insetos sociais invasores. O Biológico, São Paulo, v. 67, n. 1/2, p. 11-17, 2005.

ROBINSON, W.H. Urban entomology: insect and mite pests in the human environment, London: Chapman & Hall, 430p., 1996.

RODRIGUES-SILVA, R.; DAIPERT-GARCIA, D.; KNOFF, D. Helminths. In: CHAME, M.; BRANDÃO, M.L.; BATOULI-SANTOS, A.; JUSTO, R. (Eds.). Espécies exóticas invasoras que afetam a saúde humana – Relatório final. Fundação para o desenvolvimento científico e tecnológico, Fundação Oswaldo Cruz, Ministério do Meio Ambiente/SBF/Probio, Bird, GEF, CNPq, p. 69-73, 2006.

ROOTS, C. Animal invaders. Universe Books, New York, New York, USA, 1976.

SAMSOM, R. A.; EVANS, H. C.; LATGÉ, J. P. Atlas of entomopathogenic fungi. Springer-Verlag, Berlin, 1988.

SÁNCHEZ-PEÑA, S.R. Entomopathogenic fungi against red imported fire ant, *Solenopsis invicta* Buren (Hymenoptera:Formicidae). MS thesis, Texas Tech University, Lubbock, TX., 1992.

SÁNCHEZ-PEÑA, S. R.; THORVILSON, H. G. Two fungi infecting red imported fire ant founding queens from Texas. Southwestern Entomological, v. 17, p. 181-182, 1992.

SÁNCHEZ-PEÑA, S.R.; THORVILSON, H.G. Effects of long term cryogenic storage and conidial suspending agents on the virulence of *Beauveria bassiana* toward *Solenopsis invicta*. Journal of Invertebrate Pathology, v. 65, p. 248-252, 1995.

SCHULTZ, T. R., MUELLER, U. G., CURRIE, C. R.; REHNER, S. A. Reciprocal illumination: a comparison of agriculture in humans and in fungus-growing ants. In Insect-fungal associations: ecology and evolution, VEGA, F. E.; BLACWELL, M. (Ed.). New York, NY: Oxford University Press., p. 149-190, 2005.

SHERMAN, P.W.; SEELEY, T.D.; REEVE, H.K. Parasites, pathogens, and polyandry in social Hymenoptera. American Naturalist, v. 131, p. 602-610, 1988.

SIEBENEICHER, S.R.; VINSON, S.B.; KENERLEY, C.B. Infection of the red imported fire ant by *Beauveria bassiana* through various routes of exposure. Journal of Invertebrate Pathology, v. 59, p. 280-285, 1992.

SICARD, M.; FERDY, J.B.; PAGES, S.; LE BRUN, N.; GODELLE, B.; BOEMARE, N. When mutualists are pathogens: an experimental study of the symbioses between *Steinernema* (entomopathogenic nematodes) and *Xenorhabdus* (bacteria). Journal of Evolutionary Biology, v. 17, p. 985-993, 2004.

SIEBENEICHER, S. R.; VINSON, S.B.; KENERLEY, C.M. Infection of the red imported fire ant by *Beauveria bassiana* through various routes of exposure. Journal of Invertebrate Pathology, v. 59, p. 280-285, 1992.

SILVA, G.E. MACHADO, V.; DIEHL-FLEIG, E.; SILVA, M.E.; SPECHT, A. Potencial de *Beauveria bassiana* como agente de controle de formigas cortadeiras em áreas de reflorestamento, Acta Biologica Leopoldensia, v. 15, p. 87-94, 1993.

SILVA, M.E.; DIEHL-FLEIG, E. Avaliação de diferentes linhagens de fungos entomopatogênicos para o controle da formiga *Atta sexdens piriventris* (Santschi, 1919). (Hymenoptera: Formicidae). Anais da Sociedade de Entomologia do Brasil, v. 23, p. 99-104. 1988.

SMITS, P.H. Post-application persistence of entomopathogenic nematodes. Biocontrol Science and Technology, v. 6, p. 379-387, 1996.

SPECHT, A.; DIEHL-FLEIF, E.; SILVA, M.E. Atratividade de iscas de *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuill. A formiga do gênero *Acromyrmex* (Hymenoptera:Formicidae). Anais da Sociedade de Entomologia do Brasil, v. 23, p. 99-104, 1994.

STIMAC, J. L.; ALVES, S. D. Ecology and biological control of fire ants. In: ROSEN, D.; BENNET, F. D.; CAPINERA, J.L. (Eds.) Pest management in the subtropics: biological control – a Florida perspective. Ltd., Andover, England, UK, p. 353-380, 1994.

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

STIMAC, J. L.; ALVES, S. D.; PEREIRA, R.M. Mortality in laboratory colonies of *Solenopsis invicta* (Hymenoptera:Formicidae) treated with *Beauveria bassiana* (Deuteromycetes). Journal of Economic Entomology, v. 86, n. 4, p. 1083-1087, 1993.

STOREY, G. K. Chemical defenses of the fire ant, *Solenopsis invicta* Buren, Ph.D. dissertation, Clemson University, Clemson, SC., 1990.

STOREY, G. K.; VANDER MEER, R.K.; BOUCIAS, D.G.; McCOY, C. W. Effect of fire ant (*Solenopsis invicta*) venom alkaloids on the in vitro germinations and development of selected entomogenous fungi. Journal of Insect Pathology; v. 58, p. 88-95, 1991.

SUAREZ, A.V.; BOLGER, D. T.; CASE, T.J. Effects of fragmentation and invasion on native ant communities in coastal southern California. Ecology, v. 79, p. 2041-2056, 1998.

SUAREZ, A. V.; TSUTSUI, N. D.; HOLWAY, D. A.; CASE, T. J. Behavioral and genetic differentiation between native and introduced populations of the Argentine ant. Biological Invasions, v. 1, p. 43-53, 1999.

SUAREZ, A.V.; HOLWAY, D.A.; CASE, T.J. Predicting patterns of spread in biological invasions dominated by jump dispersal: lessons from Argentine ants. Proceedings of the National Academy of Sciences, v. 98, p. 1095-1100, 2001.

SUMMER, S.; HUGHES, W. O. H.; BOOMSMA, J. J. Evidence for differential selection and potential adaptive evolution in the worker caste of an inquiline social parasite. Behavioral Ecology and Sociobiology, v. 54, p. 256-263, 2003.

TORCHIN, M.E.; MITCHELL, C.E. Parasites, pathogens, and invasions by plants and animals. Frontiers in Ecology and the Environment, v.2, p. 183-190, 2004.

TOUTAMA, Y.; OGATA, K.; SUGIYAMA, T. The argentine ant *Linepithema humile*, in Japan: Assessment of impact on diversity of ant communities in urban environments. Entomological Science, v. 6, p. 57-62, 2003.

THOMPSON, C. R. Ants that have pest status in the United States. In: VANDER MEER, R. K.; JAFFÉ, K.; CEDEN, A. (Eds.). Applied myrmecology: a world perspective. Westview, Boulder, Colorado, USA. p. 51-67, 1990.

TRAGER, J. C. A revision of the fire ants, *Solenopsis germinata* group (Hymenoptera: Formicidae, Myrmicinae). Journal of New York Entomological Society, v. 99, p. 141-198, 1991.

TSCHINKEL, W. R. Distribution of the fire ants *Solenopsis invicta* and *S. geminata* (Hymenoptera: Formicidae) in southern Florida in relation to habitat and disturbance. Annals of the Entomological Society of America, v. 81, p. 76-81, 1988.

TSUTSUI, N. D.; SUAREZ, A. V.; HOLWAY, D. A.; CASE, T. J. Reduced genetic variation and the success of an invasive species. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, v. 97, p. 5948-5953, 2000.

TSUTSUI, N. D.; SUAREZ, A. V.; HOLWAY, D. A.; CASE, T. J. Relationships among native and introduced populations of the Argentine ant (*Linepithema humile*) and the source of introduced populations. Molecular Ecology, v. 10, p. 2151-2161, 2001.

VALLES, S.M.; OI, D.H.; PEREIRA, O.P.; WILLIAMS, D.F. Detection of *Thelohania solenopsae* (Microsporidia: Thelohaniidae) in *Solenopsis invicta* (Hymenoptera: Formicidae) by multiplex PCR. Journal of Invertebrate Pathology, v. 81, p. 196-201, 2002.

VILCINSKAS, A.; GOTZ, P. Parasitic and their interactions with the insect immune system. Advances in Parasitology, v. 43, p. 267-313, 1999.

VINSON, S. B.; GREENBERG, L. The biology, physiology, and ecology of imported fire ants,. In: VINSON, S. B. (Ed.). Economic impact and control of social insects. Praeger, New York, New York, USA. p. 193-226, 1986.

WALLER, D.A.; MOSER, J.C. Invertebrate enemies and nest associates of the leaf-cutting ant *Atta texana* (Buckley) (Formicidae: Attini), In: VANDER MEER, R.K.; JAFFE, K.; CEDENO, C. (Eds.), p. 255-273, Applied mirmecology, a world perspective. Westview Press, Boulder, Colorado, 741p., 1990.

WARD, P. S. Distribution of the introduced Argentine ant (*Iridomyrmex humili*) in natural habitats of the Lower Sacramento Valley and its effects on the indigenous ant fauna. Hilgardia, v. 55, p. 1-16, 1987.

WHEELER, W. M. Colonies of ants (*Lasius neoniger* Emery) infested with *Laboulbenia formicarum* Thaxter. Psyche, v. 17, p. 83-86, 1910.

WHITCOMB, W.H.; BHATKAR, A.; NICKERSON, J.C. Predators of *Solenopsis invicta* queens prior to successful colony establishment. Environmental Entomology, v.2, p.1101-1103, 1973.

WHITMORE, R.W.; KELLY, J.E.; Reading, P.L. National home and garden pesticide use survey, final report, volume I: executive summary, results, and recommendations. Research Triangle Institute/U.S. EPA, Research Triangle Park, North Carolina, 1992.

WILLIAMS, D.F.; OI, D.H.; PORTER, S.D.; PEREIRA, R.M.; BRIANO, J.A. Biological control of imported fire ants (Hymenoptera:Formicidae). American Entomologist, v. 49, p. 150-163, 2003.

WILSON, E. O. The defining traits of fire ants and leaf-cutting ants: biology and management. Westview Press, Boulder, CO., 1986.

WOJCIK, D.P. Behavioural interactions between ants and theirs parasites. Florida Entomologist, v. 72, p.43-51, 1989.

ZARZUELA, M.F.M. Controle químico de *Monomorium floricola* por meio de produtos microencapsulados. Dissertação de mestrado apresentada ao Instituto de Biociências da Universidade Estadual Paulista, 49p, 2005.

ZENNER-POLANÍA, I. Biological aspects of the “hormiga loca”, *Paratrechina (Nylanderia) fulva* (Mayr) in Colombia. In: VANDER MEER, R. K.; JAFFÉ K, CEDEN, A. (Eds.). Applied myrmecology: a world perspective. Westview, Boulder, Colorado, USA, 1990.

ZENNER de POLANÍA, I.; RUIZ-BOLAÑOS, N. Habitos alimenticios y relaciones simbióticas de la “hormiga loca” *Nylanderia fulva* con otros artropodos. Revista Colombiana de Entologia, v. 11, p. 1-10, 1985.