

UNIVERSIDADE TECNOLÓGICA FEDERAL DO PARANÁ  
CAMPUS DOIS VIZINHOS  
CURSO DE ENGENHARIA FLORESTAL

ADRIANA DA SILVA RICARDO

**ASSOCIAÇÃO DE *Beauveria bassiana* E DO ÓLEO ESSENCIAL DE  
*Pogostemon cablin* PARA O CONTROLE DE *Atta sexdens***

Trabalho de conclusão de curso II

DOIS VIZINHOS - PR

2019

ADRIANA DA SILVA RICARDO

**ASSOCIAÇÃO DE *Beauveria bassiana* E DO ÓLEO ESSENCIAL DE  
*Pogostemon cablin* PARA O CONTROLE DE *Atta sexdens***

Trabalho apresentado à disciplina de Trabalho de Conclusão de Curso II, do curso de Engenharia Florestal, da Universidade Tecnológica Federal do Paraná, como requisito para obtenção da aprovação na disciplina.

Orientadora: Prof<sup>a</sup> Dra. Michele Potrich

Co-orientador: Wilson Reis Filho

DOIS VIZINHOS – PR

2019



---

## TERMO DE APROVAÇÃO

Título: ASSOCIAÇÃO DE *Beauveria bassiana* E DO ÓLEO ESSENCIAL DE *Pogostemon cablin* PARA O CONTROLE DE *Atta sexdens*

por

ADRIANA DA SILVA RICARDO

Este Trabalho de Conclusão de Curso foi apresentado em 17 de maio de 2019 como requisito parcial para a obtenção do título de Bacharel em Engenharia Florestal. A candidata foi arguido pela Banca Examinadora composta pelos professores abaixo assinados. Após deliberação, a Banca Examinadora considerou o trabalho aprovado.

---

Profa. Dra. Michele Potrich  
Membro titular (UTFPR)  
(Presidente da banca)

---

Profa. Dra. Daiara Manfio  
Membro titular (UTFPR)

---

MSc. Flávia Galvan Tedesco  
Membro externo

## **AGRADECIMENTOS**

Agradeço a Deus, que me guiou e deu forças em todos os momentos de desesperos e angústias.

Agradeço a minha mãe, Laurinete Maria da Silva Pontillo por toda educação, confiança, apoio e luta pela minha formação.

Agradeço ao meu irmão, Anderson da Silva Ricardo por todo incentivo e por me servir de exemplo à vida inteira.

Agradeço a minha cunhada, Karolina Almeida Martins e Silva que sempre esteve disposta em me dar dicas e tirar dúvidas.

Agradeço o meu padrasto, José Baltazar Pontillo que sempre esteve ao lado a minha mãe enquanto eu estava longe.

Agradeço a minha professora, amiga e orientadora, Dra. Michele Potrich por ter despertado em mim o amor pela entomologia, a todos os ensinamentos, aprendizagens, conversas e conselhos transmitidos durante todo período de orientação.

Agradeço o meu co-orientador, Wilson Reis Filho pela parceria e experiência compartilhada que foi fundamental para realização deste trabalho.

Agradeço a todos os colegas do laboratório de Controle Biológico da UTFPR-DV, por terem me ajudado nos experimentos e avaliações, e também pelas risadas nos momentos de descontrações.

Agradeço a todos os meus amigos que sempre estiveram comigo me auxiliando, mesmo que indiretamente durante todo meu percurso na graduação.

Agradeço o meu irmão que a graduação deu Henrique Moura Dias, por sempre estar ao meu lado. Pelos conselhos e puxões de orelha, por todos os almoços em “família”, pelas aventuras doidas e bizarras que passamos juntos e pelas conversadas que iam desde coisas superficiais, até mesmo as mais íntimas.

Agradeço o meu grande amigo, Lucas Ramon (mais conhecido como Chicó) dono de um coração enorme e bondoso, que desde o início da graduação foi meu parceiro e que sempre esteve disposto a me ajudar em qualquer coisa que fosse.

Agradeço a minha melhor amiga, Camilla Andrade que mesmo de longe sempre se fez presente, me ouvindo, aconselhando e dando apoio.

Agradeço a todos que acreditaram e caminharam junto comigo para realização desse sonho.

## RESUMO

RICARDO, Adriana da Silva. **ASSOCIAÇÃO DE *Beauveria bassiana* E DO ÓLEO ESSENCIAL DE *Pogostemon cablin* PARA O CONTROLE DE *Atta sexdens***. 2019. 27 f. Trabalho de Conclusão do Curso (Graduação em Engenharia Florestal) – Universidade Tecnológica Federal do Paraná. Dois Vizinhos, 2019.

O uso de métodos alternativos para o controle de formigas cortadeiras é uma opção viável para diminuir o uso de inseticidas químicos que podem ocasionar danos ao ambiente. Portanto, o presente trabalho objetivou avaliar a associação de *Beauveria bassiana* (Bals. Vuill) e do óleo essencial de *Pogostemon cablin* Benth para o controle de operárias de *Atta sexdens* L. Foram testados os seguintes tratamentos: 1- Água destilada esterilizada; 2- Água destilada esterilizada + Tween 80<sup>®</sup> (0,01%); 3- Óleo essencial de *P. cablin* (patchouli) a 1%; 4- Fungo *B. bassiana* utilizado na concentração de  $2,5 \times 10^8$  conídios.mL<sup>-1</sup>; e 5- Associação de *B. bassiana* ( $2,5 \times 10^8$  conídios.mL<sup>-1</sup>) e óleo essencial de *P. cablin* a 1%. Os bioensaios consistiram na pulverização de 750 µL de cada tratamento sobre grupos de 15 operárias de *A. sexdens* com auxílio de um aerógrafo Pneumatic Sagyma<sup>®</sup> acoplado a uma bomba Tecnal<sup>®</sup> (pressão constante de 1,2 kgF/cm<sup>2</sup>). As formigas foram alocadas em caixa poliestireno do tipo gerbox (11 × 11 × 3,5 cm), juntamente com dieta sólida e foram acondicionadas em câmara climatizada (26 ± 2 °C, U.R. de 60 ± 10% e fotofase de 12 horas) durante todo o período de avaliação, que ocorreu a cada 24 horas, por 10 dias. O isolado IBCB 66 de *B. bassiana* e o óleo essencial de *P. cablin* não apresentaram potencial inseticida para o controle de *A. sexdens* quando testados isoladamente, por causarem taxa de mortalidade de 21,67% e 43,33%, respectivamente. E a associação destes dois tratamentos provocou 66,67% de mortalidade em operárias de *A. sexdens*. Portanto a associação do isolado IBCB 66 de *B. bassiana* e o óleo essencial de *P. cablin*, foi considerada significativa para o controle de operárias de *A. sexdens* em condições de laboratório.

**Palavras-chave:** Formiga cortadeira; Fungo entomopatogênico; Patchouli.

## ABSTRACT

RICARDO, Adriana da Silva. **ASSOCIATION OF *Beauveria bassiana* AND ESSENTIAL OIL OF *Pogostemon cablin* FOR THE CONTROL OF *Atta sexdens*.** 2019. 27 f. Trabalho de Conclusão do Curso (Graduação em Engenharia Florestal) – Universidade Tecnológica Federal do Paraná. Dois Vizinhos, 2019.

The use of alternative methods for the control of leaf-cutting ants can become a viable option to reduce the use of chemical insecticides that can cause ecological damage to the environment. Therefore, the present study aimed to evaluate the association of *Beauveria bassiana* (Bals). Vuill and the essential oil of *Pogostemon cablin* Benth for the control of *Atta sexdens* L. The following treatments were be tested: 1- Sterilized distilled water; 2- Sterilized distilled water + Tween<sup>®</sup> 80 (0.01%); 3- Essential oil of *P. cablin* (patchouli) a 1%; 4- fungus *B. bassiana* used in the concentration of  $2,5 \times 10^8$  conidia.mL<sup>-1</sup>; and 5- Association of *B. bassiana* ( $2,5 \times 10^8$  conídios.mL<sup>-1</sup>) and essential oil of *P. cablin* a 1%. The bioassays consisted of the spraying of 750 µl of each treatment on groups of 15 factory workers of *A. sexdens* using a Pneumatic Sagyma<sup>®</sup> airbrush coupled to a Tecnal<sup>®</sup> pump (constant pressure of 1,2 kgF/cm<sup>2</sup>). After the ants were allocated in polystyrene box of the gerbox type (11 × 11 × 3,5 cm), along with solid diet and were conditioned in an air-conditioned room (26 ± 2 °C, U.R. de 60 ± 10% e fotofase de 12 horas) throughout the evaluation period, which occurred every 24 hours, for 10 days. The isolate IBCB 66 of *B. bassiana* and the essential oil *P. cablin* showed no insecticidal potential for the control of *A. sexdens* when tested in isolation, they cause a mortality rate of 21.67% and 43.33%, respectively. And the association of these two treatments caused 66.67% of mortality in factory workers of *A. sexdens*. Therefore the association of the isolate IBCB 66 of *B. bassiana* and the essential oil *P. cablin*, was considered significant for the control of *A. sexdens* workers under laboratory conditions.

**Keywords:** Leaf-Cutting ant; Entomopathogenic fungus; Patchouli.

## Sumário

|  |    |
|--|----|
| <b>1 INTRODUÇÃO</b> .....  | 1  |
| <b>2 OBJETIVOS</b> .....   | 3  |
| 2.1 OBJETIVO GERAL .....   | 3  |
| 2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS .....  | 3  |
| <b>3 REFERENCIAL TEÓRICO</b> .....   | 4  |
| 3.1 EUCALIPTO .....  | 4  |
| 3.2 INSETOS PRAGAS DA CULTURA DO EUCALIPTO .....   | 5  |
| 3.3 FORMIGAS CORTADEIRAS ( <i>Atta sexdens</i> ) .....   | 6  |
| 3.3.1 Sintomas e prejuízos do ataque de formigas cortadeiras na cultura do eucalipto .....   | 7  |
| 3.4 CONTROLE BIOLÓGICO .....   | 8  |
| 3.4.1 Fungos entomopatogênicos .....   | 9  |
| 3.5 CONTROLE ALTERNATIVO .....   | 10 |
| 3.5.1 Óleos essenciais .....   | 11 |
| <b>4 MATERIAL E MÉTODOS</b> .....  | 13 |
| 4.1 OBTENÇÃO DE <i>Atta sexdens</i> , DO ISOLADO DE <i>Beauveria bassiana</i> E DO ÓLEO<br>ESSENCIAL DE <i>Pogostemon cablin</i> ..... | 13 |
| 4.2 BIOENSAIO COM <i>Beauveria bassiana</i> E <i>Pogostemon cablin</i> SOBRE <i>Atta sexdens</i> .                                     | 14 |
| <b>5 RESULTADOS E DISCUSSÃO</b> .....  | 16 |
| <b>6 CONCLUSÃO</b> .....   | 21 |
| <b>REFERÊNCIAS</b> .....   | 23 |

## 1 INTRODUÇÃO

As florestas plantadas são importantes para sociedade e economia brasileira, por darem origem a produtos e subprodutos como papel, celulose, painéis de madeira, biomassa, entre outros. Além disso, geram empregos e bem-estar que são promovidos pela mitigação das mudanças climáticas, preservação e conservação dos recursos naturais. No Brasil a área total ocupada por árvores plantadas em 2017 correspondia a 7,84 milhões de hectares, sendo que destes, 5,7 milhões (ha) são equivalentes às florestas de eucalipto, aproximadamente 1,6 milhões (ha) de pinus e 0,59 milhões (ha) de outras espécies. O setor de árvores plantadas movimenta parte da economia brasileira, o qual, no ano 2017, teve participação de 1,1% no valor do Produto Interno Bruto (PIB) de toda riqueza produzida no país (IBÁ, 2018).

Para continuar aumentando a participação desse setor no PIB é necessário ter plantios com alta produtividade, portanto é fundamental realizar o controle de insetos pragas que possam causar danos econômicos, dependendo do grau de intensidade do ataque. Segundo Santos et al. (2017), formigas cortadeiras podem devastar florestas adultas dependendo da densidade populacional e intensidade de ataque desses insetos.

Os gêneros de formigas cortadeiras são *Atta* (saúvas) e *Acromyrmex* (quenquéns), ambas pertencentes à Ordem Hymenoptera, família Formicidae e tribo Attini que caracteriza formigas que cultivam o seu próprio alimento no interior dos seus ninhos, que é o fungo *Leucoagaricus gongylophorus* Singer (ZANETTI et al., 2002). Segundo Santos et al. (2017) o cultivo deste fungo é realizado através de fragmentos vegetais, principalmente das folhas que as formigas operárias cortam das plantas e levam até seus ninhos para usarem como nutrientes para o desenvolvimento deste.

Dentre as maneiras de ter sucesso no controle das formigas cortadeiras cita-se a inibição do desenvolvimento do fungo simbiote ou a intoxicação desses insetos. Ambos os procedimentos podem ser realizados a partir de produtos oriundos de óleos essenciais de plantas que apresentam ação inseticida e fungicida ou através do uso de outros fungos ou bactérias que tenham capacidade patogênica sobre as formigas (HOWARD et al., 1988; TESSER et al., 2014).



Em testes com o fungo entomopatogênico *Beauveria bassiana* sobre *Atta sexdens sexdens* Linnaeus (Hymenoptera: Formicidae), foi comprovada a virulência e patogenicidade do mesmo (LOUREIRO; MONTEIRO, 2005). Em outro trabalho realizado por Castilho et al. (2010), foi verificada a patogenicidade de quatro isolados de *B. bassiana* sobre *A. sexdens rubropilosa* Forel, e *Atta bisphaerica* Forel.

Ribeiro et al. (2012) verificaram 50% de mortalidade em *Atta bisphaerica* após quatro dias de aplicação do fungo *B. bassiana* (isolado de formiga cortadeira). Semelhante a este estudo, Travaglini et al. (2016) testou o isolado LESF-231 de *B. bassiana* em *A. sexdens*, o quais verificaram 50% de mortalidade em operárias, 72h após inoculação.

Pesquisas com métodos de controle alternativos para pragas também são realizadas, a fim de minimizar o uso de inseticidas químicos em larga escala. As plantas por possuírem metabólitos secundários são fonte de estudos, em destaques os óleos essenciais que são extraídos das mesmas. Plantas pertencentes às famílias Meliaceae, Annonaceae, Asteraceae, Rutaceae, Canellaceae e Lamiaceae são promissoras por apresentarem potencial inseticida (JACOBSON, 1989; CORRÊA; SALGADO, 2011).

O óleo essencial de patchouli *Pogostemon cablin* Benth, (Lamiaceae) provocaram 50% de mortalidade sobre formigas cortadeiras das espécies *Atta opaciceps* Borgmeier, *A. sexdens* e *A. sexdens rubropilosa* (ROCHA et al., 2018). Marques (2015) comprovou a eficiência da associação do óleo comercial de mamona com o isolado cepa CG1229 de *B. bassiana* sobre ninfas de mosca-branca *Bemisia tabaci* Genn (Hemiptera: Aleyrodidae).

O uso de óleos essenciais e fungos entomopatogênicos compatíveis podem ser uma alternativa no controle de insetos pragas, incluindo formigas cortadeiras, uma vez que inseticidas comerciais podem afetar o ambiente de maneira negativa, reduzindo a diversidade e modificando a estrutura biótica do mesmo. Este estudo foi objetivado pela busca da potencialização do efeito inseticida do fungo *B. bassiana* e *P. cablin* no controle de *A. sexdens*, pela possibilidade de ser uma alternativa promissora para o controle desse inseto. Visando à redução do uso do controle químico e servindo de alternativa para empresas, principalmente as com certificação florestal (FSC) que buscam minimizar o uso de inseticidas químicos sintéticos em diversas culturas para mitigar os danos causados ao meio ambiente.

## 2 OBJETIVOS

### 2.1 OBJETIVO GERAL

Avaliar a associação de *Beauveria bassiana* e do óleo essencial de *Pogostemon cablin* para o controle de operárias de *Atta sexdens*.

### 2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Avaliar a patogenicidade do isolado IBCB 66 do fungo *B. bassiana* na concentração de  $2,5 \times 10^8$  conídios.mL<sup>-1</sup> sobre formigas operárias da espécie *A. sexdens*;
- Analisar a atividade inseticida do óleo essencial de *P. cablin* a 1% (patchouli) sobre *A. sexdens*;
- Avaliar o potencial da associação do isolado IBCB 66 do fungo *B. bassiana* ( $2,5 \times 10^8$  conídios.mL<sup>-1</sup>) com o óleo essencial de *P. cablin* a 1% no controle de operárias de *A. sexdens*.

### 3 REFERENCIAL TEÓRICO

#### 3.1 EUCALIPTO

O eucalipto é a nomeação utilizada para diversas espécies vegetais do gênero *Eucalyptus*, pertencentes à família Myrtaceae (VITAL, 2007). No Brasil esse gênero tem importância para o setor florestal, devido as suas características e aos avanços do melhoramento genético das espécies desse gênero que favorece a produtividade dos plantios em termos quantitativos e qualitativos, através do uso de técnicas de clonagem e hibridação. Essas técnicas visam árvores que apresentem características desejáveis superiores que facilitem e aumentem a produção, tais como: versatilidade de uso, facilidade de adaptação, rápido crescimento e maior taxa volumétrica (PEREIRA et al., 2016).

Dentre as culturas florestais cultivadas no Brasil em grande escala, o eucalipto destaca-se com 5,7 milhões (ha) de área plantada (IBÁ, 2017). Esse destaque é devido aos aspectos propícios para sua produção como as condições climáticas, condições de solo e topografia do país, do qual a espécie adaptou-se bem, demonstrando um rápido crescimento, além dos avanços no melhoramento genético. A diversidade do uso da madeira dessa espécie (lenha, carvão, serrados, estacas, papel e celulose) também, é um dos fatores responsáveis pela sua produção em larga escala (CHICHORRO et al., 2017).

A contribuição econômica do setor florestal é significativa para a economia do Brasil, pois geram empregos, renda e tributos. No ano de 2016 este setor gerou 510 mil empregos, além de gerar benefícios intangíveis, tais como mitigação dos efeitos das mudanças climáticas, sequestro de carbono, diminuição da erosão, regulação dos fluxos hídricos e qualidade do solo (IBÁ, 2017).

De acordo com Basso et al. (2012), o incentivo da produção de eucalipto é uma das maneiras de fomento e escape para que os produtores de pequeno e médio porte obtenham desenvolvimento rural. Porém há entraves que afetam a produtividade da floresta, como o ataque de insetos praga.

### 3.2 INSETOS PRAGAS DA CULTURA DO EUCALIPTO

São denominados insetos pragas aqueles que atacam as plantas causando danos, desde as sementes e frutos, até as raízes. O grau dos danos pode variar de acordo com a espécie e densidade da população do inseto, do período de duração do ataque, da estrutura vegetal atacada e do seu estágio de desenvolvimento (SANTANA et al., 2005). A desfolha é um dos danos ocasionados por determinados insetos. E na cultura do eucalipto, a desfolha pode gerar reduções no crescimento tanto em diâmetro, quanto em altura, além de em alguns casos promover a morte de mudas a campo (REIS FILHO et al., 2011).

Dentre as principais pragas dos plantios de eucalipto destacam-se as lagartas desfolhadoras (Lepidoptera), essas lagartas consomem o limbo foliar, interferindo diretamente em crescimento da árvore. A espécie com maior importância dentre as lagartas desfolhadoras para a cultura de eucalipto é *Thyriniteina arnobia* Stoll, (Lepidoptera: Geometridae) (ZANUNCIO et al., 1992; SANTOS et al., 2008).

Outros insetos que também merecem destaques são os da ordem Coleoptera, pois além de ocasionarem danos na cultura do eucalipto, interferindo no desenvolvimento das árvores, também dentro dessa ordem existem várias espécies consideradas pragas (SANTOS et al., 2008; GARLET et al., 2015). Em plantios de eucalipto foram observados surtos de besouros desfolhadores *Costalimaita ferruginea* Fabricius e *Costalimaita lurida* Lefèvre, (Coleoptera: Chrysomelidae) ocasionando injúrias foliares (MAFIA; MENDES; CORASSA, 2014). *Gonipterus platensis* (Coleoptera: Curculionidae), conhecido popularmente por gorgulho-do-eucalipto também é um coleoptera importante para a cultura do eucalipto, pois seus ataques podem diminuir a produtividade e crescimento dos plantios (SOUZA et al., 2016).

*Thaumastocoris peregrinus* Carpintero & Dellapé, (Hemiptera, Thaumastocoridae), conhecido popularmente por percevejo-bronzeado, do mesmo modo, é considerado inseto praga para culturas de eucalipto (BARBOSA et al., 2010). Estes mesmos autores verificaram que as árvores atacadas por esses insetos apresentam copa bronzeada, prateamento das folhas e desfolha.

Os cupins também são considerados insetos pragas da cultura do eucalipto, os ataques ocorrem tanto em mudas a campo e em árvores adultas. No Brasil as principais espécies desses insetos que atacam a cultura do eucalipto, pertencem às

famílias Kalotermitidae, Rhinotermitidae e Termitidae (SANTOS et al., 2008). Ainda de acordo com esses mesmos autores plantios de eucalipto sofrem com ataques de grilos da espécie *Gryllus assimilis* Fabricius (Orthoptera: Gryllidae) que se alimentam de raízes, caule e folhas de espécies de eucaliptos, causando danos às árvores atacadas.

De acordo com Costa et al. (2011), no Brasil as formigas cortadeiras do gênero *Atta* e *Acromyrmex* são as principais pragas de áreas florestais e agrícolas, por serem de difícil controle, ocasionarem ataques intensos e por apresentarem grande quantidade de indivíduos por colônia e colônias por área.

O ataque dessas formigas pode devastar ou danificar todo plantio, dependendo da idade da cultura e intensidade populacional da colônia, refletindo em perdas econômicas para os silvicultores (FUJIHARA; SILVA; FORTI, 2013). De acordo Gallo et al. (2002), as formigas cortadeiras são consideradas pragas generalistas, pois atacam diversos tipos de culturas, sendo fator limitante na produção de várias culturas. Entretanto Moutinho, Nepstad e Davidson (2003) ressaltam que as formigas cortadeiras desempenham um papel importante para o enriquecimento do solo, devido ao acúmulo de nutrientes em áreas com seus ninhos.

### 3.3 FORMIGAS CORTADEIRAS

Esses insetos pertencem à ordem Hymenoptera, família Formicidae e Subfamília Myrmicinae. As formigas têm seu desenvolvimento completo, ou seja, são holometábolos, portanto apresentam as seguintes fases de desenvolvimentos: ovo, larva, pupa e adultos. Os dois gêneros mais importantes das formigas cortadeiras são as do gênero *Atta* (conhecida popularmente por saúvas) e as do gênero *Acromyrmex* (quenquéns) (ZANETTI et al., 2002).

Os ninhos das formigas cortadeiras recebem o nome de saueiros e são compostos por indivíduos permanentes e temporários dentro das colônias. A rainha que é a casta reprodutora e as operárias estéreis são indivíduos permanentes e os temporários são as fêmeas (iças) e machos (bitus) gerados de maneira sexuadas aladas, que sairão para o voo nupcial (COSTA et al., 2011).

De acordo com Zanetti et al. (2002), as castas são divididas de acordo com a morfologia dos indivíduos e refere-se à função que exerce dentro da colônia. As castas das operárias são divididas nas seguintes categorias: soldados (formigas grandes) tem função de defender a colônia de inimigos naturais; cortadeiras/carregadeiras (médias) realizam o corte e transporte de fragmentos vegetais; e as jardineiras (pequenas) têm como função cultivar o fungo.

As formigas cortadeiras são cultivadoras do fungo simbiote *Leucoagaricus gongylophorus*, o qual é usado para alimentação de todos os indivíduos da colônia. Essas formigas carregam para dentro de seus ninhos fragmentos vegetais para o cultivo deste fungo simbiote (SANTOS et al., 2017).

Os ninhos das formigas cortadeiras, encontrados na natureza apresentam câmaras subterrâneas interligadas que facilitam a manutenção do formigueiro, ou seja, há câmaras com cultivo do fungo, câmaras vazias para uso futuro, câmaras para o descarte (lixo) e câmaras com terra solta (COSTA et al., 2011).

Segundo Fujihara, Silva e Forti (2013), as formigas cortadeiras são classificadas como insetos pragas nas florestas, na pecuária e na agricultura por ocasionarem prejuízos. Dentre as espécies de formigas cortadeiras do gênero *Atta* presentes no Brasil, com importância econômica destaca-se a *A. sexdens*; *A. opaciceps*; *A. bisphaerica* Forel; *Atta laevigata* Smith; *Atta robusta* Borgmeier; *Atta vollenweideri* Forel; *Atta capiguara* Gonçalves e *Atta cephalotes* Linnaeus.

### 3.3.1 Sintomas e prejuízos do ataque de formigas cortadeiras na cultura do eucalipto

Na silvicultura as formigas cortadeiras são elencadas como importantes pragas, por causarem danos em plantios florestais. Esses insetos causam danos nas árvores de eucalipto, desde mudas em viveiros até o último ano de rotação da cultura. As formigas cortadeiras causam desfolha nas árvores, devido à ação de cortarem suas folhas e galhos (SANTOS et al., 2008). De acordo com Cantarelli et al. (2008), o desfolhamento ou até mesmo a redução da área foliar limita o pleno crescimento e desenvolvimento das árvores por comprometer a capacidade fotossintética, pois a fotossíntese para ser realizada necessita das folhas.

A desfolha gerada por formigas cortadeiras depois de um ano pode diminuir a produção de madeira em um terço, se o ataque acontecer no primeiro ano do plantio

e, em ecossistemas tropicais, o consumo médio das formigas cortadeiras é de 15% da produção total da florestal (SANTOS et al., 2008). Em mudas de eucalipto as consequências do desfolhamento total mostraram que a ela está diretamente relacionada com a produção, ou seja, quanto maior for o grau de intensidade da desfolha, maior será a perda em produção (SANTOS et al., 2017). Os prejuízos oriundos do ataque intenso e constante de formigas cortadeiras, não se limitam a diminuição da produção, mas também com custos para controle desses insetos (COSTA et al., 2011).

O controle deste inseto é feito pelo método químico por ser considerado prático, porém esse método além de envolver um alto custo, pode vir a contaminar o meio ambiente (BOARETTO; FORTI, 1997). Tanto por questões econômicas, como ambientais, empresas de reflorestamento vêm investindo em novas metodologias para o controle de formigas cortadeiras, com o intuito de minimizar os impactos gerados ao meio ambiente (ARAÚJO; DELLA LUCIA; SOUZA, 2003). Desde a década de 50, os prejuízos gerados por formigas cortadeiras têm incentivado linhas de pesquisas com diversos métodos de controle além do químico, como os com produtos oriundos de origem botânica, métodos de controle cultural e biológico (BRITTO et al., 2016).

### 3.4 CONTROLE BIOLÓGICO

O controle biológico, de acordo com Cruz (1995) é a atuação de patógenos, parasitoides e predadores no gerenciamento da densidade populacional de outros indivíduos. Ou seja, é um fenômeno natural ou provocado pela intervenção do homem para diminuir organismos indesejáveis através da utilização de inimigos naturais. Moraes e Berti Filho (2005) define controle biológico como uma ocorrência natural do controle de pragas por meio de inimigos naturais das mesmas.

Este método de controle apresenta vantagens quando comparado a outros métodos, por ser específico a organismos alvos, apresenta baixo custo para aplicação no campo (MAIA; DIREITO; FIGUEIRÓ, 2014), por não deixar resíduos em alimentos e não contaminar o meio ambiente (MORAES; BERTI FILHO, 2015).

O controle biológico já é considerado promissor para o controle formigas cortadeiras e assim como os outros métodos de controle, visa reduzir o índice

populacional da espécie considerada praga. No entanto desde sempre o método mais utilizado para o controle de formigas cortadeiras é o químico (BOARETTO; FORTI, 1997). Porém o uso de inseticidas químicos pode poluir o meio ambiente, contaminar o lençol freático, recursos hídricos e causar toxicidade em organismos não alvos.

Portanto novas perspectivas para o controle de formigas cortadeiras, como o controle microbiano que é realizado por fungos entomopatogênicos, pode ser uma estratégia ambientalmente promissora para controle desses insetos (SANTOS; OLIVEIRA; SAMUELS, 2007).

#### 3.4.1 Fungos entomopatogênicos

O controle biológico pode ser realizado com fungos entomopatogênicos que de acordo com Alves (1998) são micro-organismos que causam doenças nos insetos. Esses fungos apresentam alta plasticidade de ação, pois podem afetar tanto insetos que habitam o solo quanto aqueles que apresentam hábitos de voo. Além disso, seu mecanismo de ação independe da fase de desenvolvimento do inseto, isto é, suas estruturas permitem a infecção de ovos, larvas, pupas e até adultos. A maioria dos fungos entomopatogênicos infectam por meio da penetração do tegumento dos insetos. É importante ressaltar que, os conídios e esporos disseminam-se por vento, chuva e até mesmo por outros insetos. Portanto, o ciclo da relação fungo-hospedeiro depende, significativamente, de condições ambientais como umidade e temperatura.

De acordo com Esposito e Azevedo (2010), no processo infeccioso do fungo em insetos hospedeiros, inicialmente ocorre à adesão e a germinação dos conídios na cutícula do inseto, na sequência os conídios penetram no tegumento do hospedeiro (esses procedimentos acontecem por ação mecânica e enzimática). O fungo, assim adentra o hospedeiro, em seguida suas hifas propagam-se e entram em contato com a hemolinfa do inseto, onde rapidamente se alastram e colonizam o inseto.

Em bioensaios realizados em laboratório com seis isolados do fungo *B. bassiana* sobre *A. bisphaerica* e *A. sexdens rubropilosa* foi possível verificar que quatro desses isolados causaram morte em mais da metade das formigas de ambas



as espécies, em um período de 72h depois da inoculação, sendo que dois desses isolados tiveram a taxa de mortalidade, nesse mesmo período de tempo de 100 % em soldados da espécie *A. bisphaerica* (CASTILHO et al., 2010).

De acordo com Santos, Oliveira e Samuels (2007) a espécie *A. sexdens rubropilosa* apresenta suscetibilidade a infecção por *B. bassiana*. Contudo, é necessário continuar realizando pesquisas com isolados desse fungo, pois o tempo de morte das formigas pode estar relacionado com a origem e variabilidade genética do isolado.

### 3.5 CONTROLE ALTERNATIVO

Controle alternativo engloba a utilização de um método isoladamente ou o uso de mais métodos em conjunto para realizar o controle de pragas. Segundo Araújo, Della Lucia e Souza (2003), o uso integrado de métodos alternativos para o controle de insetos-pragas vem como uma opção para minimizar a utilização de produtos químicos.

O uso intenso de produtos químicos sintéticos tem como consequência a resistência dos insetos aos produtos e danos ambientais (MORAES; BERTI FILHO, 2005). Por isso, a utilização de inseticidas botânicos com óleos essenciais e extratos vegetais são promissores para o controle de insetos pragas. Incentivos para realização de estudos com uso desses produtos naturais em laboratório e a campo, são fundamentais para que o interesse dos produtores em utilizar métodos alternativos no manejo de pragas aumente cada vez mais (SOUSA et al., 2014).

De acordo com Araújo et al. (2015) produtores que utilizam produtos químicos sintéticos, principalmente para o controle de formigas cortadeiras, estão questionando o seu uso e optando por investir em produtos que minimizem os impactos ambientais.

Pesquisas com o uso de novas tecnologias, como o controle alternativo de insetos pragas são necessárias para que haja avanços em produtos ambientalmente seguros. De acordo com Zanetti et al. (2014), ao buscar novas maneiras de controlar pragas usando meios que reduza os custos e não causem grande impacto ao ambiente, as pesquisas com métodos alternativos vêm sendo desenvolvidas cada vez mais.

### 3.5.1 Óleos essenciais

Os óleos essenciais são produtos de origem vegetal que podem ser adquiridos através da destilação à pressão reduzida ou destilação por arraste com vapor de água de partes do vegetal como folhas e sementes (ANVISA, 2007). Eles apresentam propriedade antifúngica (CARMO; LIMA; SOUZA, 2008) inseticida (FAZOLIN et al., 2007) e antibacteriana (MIRANDA et al., 2016). Alguns dos propósitos de se utilizar óleos essenciais são diminuir a intensidade populacional e os danos causados pelos insetos, visando reduzir o uso de produtos químicos que poluem o meio ambiente.

*Pogostemon cablin* Benth, nome popular patchouli, é uma planta arbustiva da família Lamiaceae, tem origem nas Filipinas. Essa planta perene, com adaptação ao clima quente e úmido, na Ásia utiliza-se muito o seu óleo essencial para fabricação de sabonetes e perfumes apreciados pela população (EPAGRI, 2004). O óleo essencial de *P. cablin* possui propriedades repelente e inseticida (ALBUQUERQUE et al., 2013), antimicrobiana e antibacteriana (PULLAGUMMI et al., 2014).

Zhu et al. (2003), relatou a repelência e toxicidade do óleo essencial de *P. cablin* para *Coptotermes formosanus* Shiraki (cupins) e Pavela (2008), relatou a toxicidade deste mesmo óleo essencial para *Musca domestica* L. O óleo essencial de *P. cablin* também demonstrou repelência e atividade inseticida para *Aedes aegypti* Linnaeus, *Anopheles stephensi* Liston e *Culex quinquefasciatus* Say (Diptera; Culicidae) (GOKULAKRISHNAN et al., 2013).

Rocha et al. (2018) comprovou que há eficiência na atividade inseticida do óleo essencial de *P. cablin* para as três espécies de formigas cortadeiras *A. opaciceps*, *A. sexdens* e *A. sexdens rubropilosa*. O autor afirma que as concentrações entre 1,30 a 1,45  $\mu\text{L L}^{-1}$  foram eficientes para se atingir 50% de taxa de mortalidade, após 48h de aplicação.

Rondelli et al. (2011) realizaram bioensaios para verificar a compatibilidade entre o isolado ESALQ - 447 do fungo entomopagênico *B. bassiana* (concentração de  $3 \times 10^5$  conídios.mL<sup>-1</sup>) e o óleo essencial de mamona (concentração de 2%) e se, o uso em conjunto de ambos apresentavam potencial para o controle da traça-da-crucíferas *Plutella xylostella*, Linnaeus (Lepidoptera: Plutellidae). Os autores constataram que existe compatibilidade entre ambos agentes testados, pois o óleo essencial de mamona não interferiu na patogenicidade do fungo *B. bassiana* e essa

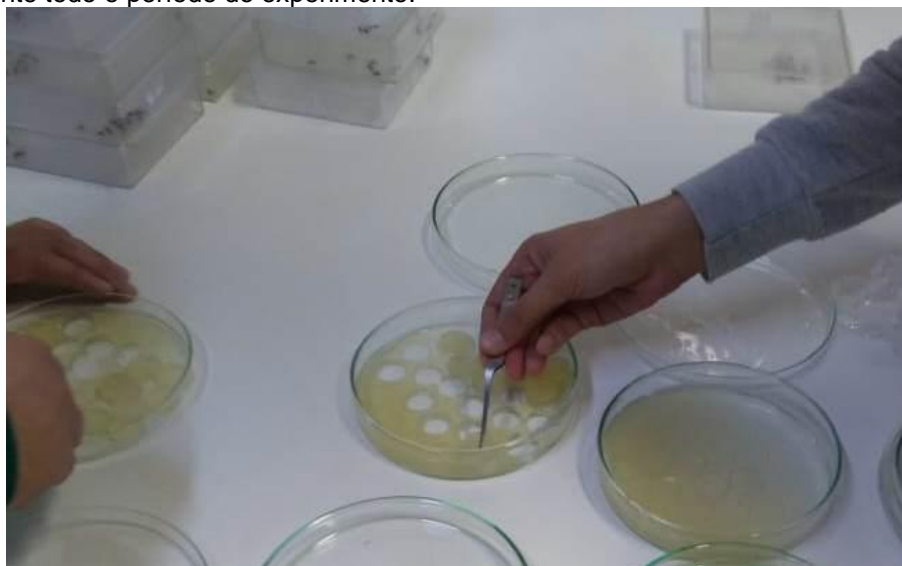
associação foi eficiente para o controle da traça-da-crucíferas, provocando 74,90% de mortalidade desse inseto.

## 4 MATERIAL E MÉTODOS

### 4.1 OBTENÇÃO DE *Atta sexdens*, DO ISOLADO DE *Beauveria bassiana* E DO ÓLEO ESSENCIAL DE *Pogostemon cablin*

As operárias de *Atta sexdens* foram fornecidas pela Empresa A, a qual possui criação de formigas cortadeiras estabelecida em laboratório. Para a manutenção das formigas durante o experimento foi fornecido uma dieta sólida composta por água destilada (100 ml), dextrose (1,5 g) e ágar (0,5 g). Para o preparo da dieta, todos estes compostos foram misturados, autoclavados e a mistura foi vertida em placas de petri para que houvesse a solidificação da mesma. Depois de solidificada, a dieta foi recortada em discos de 2,0 cm de diâmetro com auxílio de um vazador conforme Figura 1 (metodologia adaptada de Jung et al., 2013).

**Figura 1** – Discos de 2,0 cm de diâmetro da dieta sólida fornecida para alimentação das operárias de *A. sexdens* durante todo o período do experimento.



Fonte: A autora (2018)

O isolado IBCB 66 em pó do fungo entomopatogênico *B. bassiana* foi fornecido pela Empresa B e utilizado na concentração de  $2,5 \times 10^8$  conídios.mL<sup>-1</sup> para os experimentos. O óleo essencial de *P. cablin* (patchouli) foi fornecido pela Instituição C, sendo o mesmo utilizado na concentração de 1%.

#### 4.2 BIOENSAIO COM *Beauveria bassiana* E *Pogostemon cablin* SOBRE *Atta sexdens*

Foram preparados cinco diferentes tratamentos: 1) água destilada esterilizada; 2) água destilada esterilizada + Tween 80<sup>®</sup> (0,01%); 3) óleo essencial de *P. cablin* (patchouli) (1%); 4) isolado IBCB 66 do fungo *B. bassiana* utilizado ( $2,5 \times 10^8$  conídios.mL<sup>-1</sup>); e 5) associação de *B. bassiana* ( $2,5 \times 10^8$  conídios.mL<sup>-1</sup>) e óleo essencial de *P. cablin* (1%) (Figura 2).

**Figura 2** - Soluções preparadas dos tratamentos T1-água destilada esterilizada; T2-água destilada esterilizada + Tween 80<sup>®</sup> (0,01%); T3-óleo essencial de *P. cablin* (patchouli) (1%); T4-isolado IBCB 66 do fungo *B. bassiana* utilizado ( $2,5 \times 10^8$  conídios.mL<sup>-1</sup>); e T5-associação de *B. bassiana* ( $2,5 \times 10^8$  conídios.mL<sup>-1</sup>) e óleo essencial de *P. cablin* (1%) utilizados para pulverização sobre as operárias de *A. sexdens*.



Fonte: A autora (2018)

As operárias foram anestesiada com CO<sub>2</sub> por 90 segundos, na sequência grupos de 15 operárias de *A. sexdens* foram alocadas em caixas de poliestireno do tipo gerbox (11 × 11 × 3,5 cm), sendo posteriormente submetidas a pulverização dos tratamentos com auxílio do aerógrafo Pneumatic Sagyma<sup>®</sup> acoplado a uma bomba Tecnal<sup>®</sup> de pressão constante de 1,2 kgF/cm<sup>2</sup> (Figura 3). Para cada grupo de operárias foram pulverizados 750 µl de cada solução de tratamento.

**Figura 3** - Pulverização dos tratamentos T1-água destilada esterilizada; T2-água destilada esterilizada + Tween 80<sup>®</sup> (0,01%); T3-óleo essencial de *P. cablin* (patchouli) (1%); T4-isolado IBCB 66 do fungo *B. bassiana* utilizado ( $2,5 \times 10^8$  conídios.mL<sup>-1</sup>); e T5-associação de *B. bassiana* ( $2,5 \times 10^8$  conídios.mL<sup>-1</sup>) e óleo essencial de *P. cablin* (1%) sobre grupos de 15 operárias de *A. sexdens*.



Fonte: A autora (2018)

As operárias submetidas aos tratamentos foram retiradas da caixa de pulverização e alocadas em uma nova caixa tipo gerbox (11 × 11 × 3,5 cm), junto com a dieta sólida, e então acondicionadas em sala climatizada (26 ± 2 °C, U.R. de 60 ± 10% e fotofase de 12 horas) durante todo o experimento. As avaliações foram realizadas a cada 24 horas por 10 dias, quantificado-se o número de indivíduos mortos.

Os insetos mortos foram retirados e imersos por cinco segundos em álcool 70%, para desinfecção superficial, e, na sequência, em água destilada esterilizada por mais cinco segundos. Posteriormente foram acondicionados em câmara úmida (recipiente de acrílico, com uma camada de papel filtro umedecido com água destilada esterilizada) (Figura 4) e mantidos em câmara climatizada (26 ± 2 °C, U.R. de 60 ± 10% e fotofase de 12 horas) por sete dias, para confirmação da mortalidade pelo patógeno.

**Figura 4** – Câmara úmida de *A. sexdens* com esporulação do fungo *B. bassiana* em sua superfície tegumentar, após dois dias de morte pelo tratamento T5 - associação de *B. bassiana* ( $2,5 \times 10^8$  conídios.mL<sup>-1</sup>) e óleo essencial de *P. cablin* (1%).



Fonte: A autora (2018)

O delineamento experimental foi inteiramente casualizado com quatro repetições por tratamento e os dados coletados foram submetidos aos pressupostos teóricos e analisados quanto a normalidade pelo teste de Shapiro-Wilk. Atendendo a normalidade dos dados, os mesmos foram submetidos à análise de variância (ANOVA) e as médias foram comparadas pelo teste de Tukey ( $p < 0,05$ ), com uso do software estatístico Minitab®17.

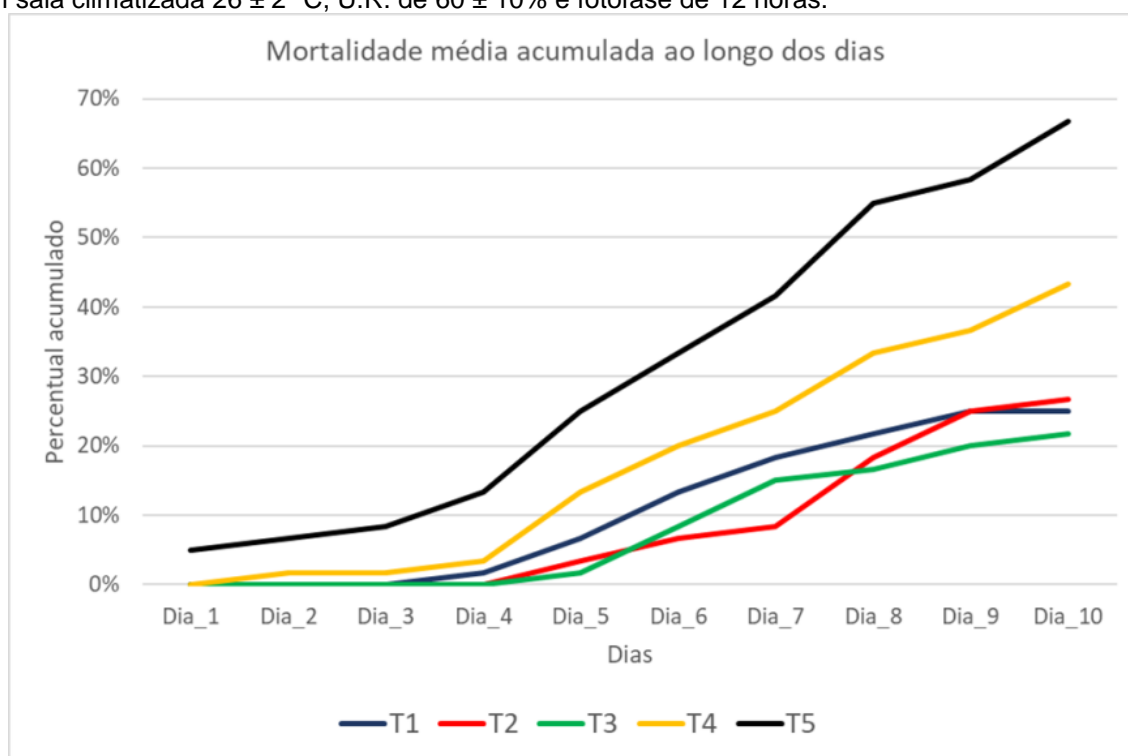
## 5 RESULTADOS E DISCUSSÃO



### 5.1 EFEITO DO ÓLEO ESSENCIAL DE *Pogostemon cablin* E *Beauveria bassiana* SOBRE *Atta sexdens*

Verificou-se que a ação do fungo *B. bassiana* na concentração de  $2,5 \times 10^8$  conídios.mL<sup>-1</sup> (T4) ocorre efetivamente no quarto dia após a inoculação e causa mortalidade superior à apresentada pelo grupo que recebeu o tratamento T1 - água destilada esterilizada e o tratamento T2 - água destilada e esterilizada e Tween 80% (ambos tratamentos correspondentes a testemunha). Comparando o tratamento T3 - óleo essencial de *P. cablin* a 1% com o tratamento T4, observa-se também que até o final do experimento a taxa de mortalidade de T4 foi superior (Gráfico 1).

**Gráfico 1** – Mortalidade acumulada (%) de *A. sexdens*, tratadas com *B. bassiana*, óleo essencial de *P. cablin*, a associação destes e as respectivas testemunhas ao longo do tempo (10 dias), mantidas em sala climatizada  $26 \pm 2$  °C, U.R. de  $60 \pm 10\%$  e fotofase de 12 horas.



Fonte: A autora (2018)

Dentre os tratamentos, o T5 (associação entre óleo essencial de *P. cablin* a 1% e *B. bassiana*  $2,5 \times 10^8$  conídios.mL<sup>-1</sup>) foi o que apresentou efeito significativo na taxa de mortalidade de formigas operárias de *A. sexdens*, seguido do T4 (fungo *B. bassiana*). Entretanto o tratamento (T3) composto por óleo essencial de *P. cablin* a



1% não diferiu das testemunhas, provocando mortalidade média de 21,67% em operárias de *A. sexdens* (Tabela 1).

**Tabela 1** – Mortalidade média (%) das operárias de *A. sexdens* ( $\pm$  EP) por tratamentos: *B. bassiana*, óleo essencial de *P. cablin*, a associação destes e suas respectivas testemunhas, 10 dias após aplicação (condições do experimento  $26 \pm 2$  °C, U.R. de  $60 \pm 10\%$  e fotofase de 12 horas).

| Identificação | Tratamento   | Mortalidade $\pm$ EP (%) |
|---------------|--|--------------------------|
| T1            | Água destilada esterilizada  | 25,00 $\pm$ 4,19 b       |
| T2            | Água destilada esterilizada + Tween <sup>®</sup> 80 (0,01%)        | 26,67 $\pm$ 9,81 b       |
| T3            | Óleo essencial de <i>P. cablin</i>                                 | 21,67 $\pm$ 7,88 b       |
| T4            | Isolado IBCB 66 ( <i>B. bassiana</i> )                             | 43,33 $\pm$ 13,70 ab     |
| T5            | Associação do Isolado IBCB 66 + Óleo essencial de <i>P. cablin</i> | 66,67 $\pm$ 9,43 a       |
|               | p  | 0,024                    |

Médias seguidas pela mesma letra minúscula na coluna, não diferem entre si pelo teste Tukey ( $p < 0,05$ ).

Fonte: A autora (2018)

Rocha et al. (2018), ao avaliar a atividade inseticida do óleo essencial de *P. cablin* através do método de fumigação (nas concentrações 1,30; 1,36 e 1,45  $\mu\text{L L}^{-1}$ ) respectivamente para as espécies *A. sexdens rubropilosa*, *A. opaciceps*, e *A. sexdens*, obtiveram como resultado uma taxa de mortalidade de 50%, valor diferente do resultado obtido neste trabalho que foi de 21,67%. Entretanto, os métodos de aplicação do tratamento diferem, bem como a concentração do óleo essencial utilizado. Estes autores ainda verificaram que apesar do óleo essencial de *P. cablin* não repelir as formigas, causou irritabilidade, até mesmo na concentração de 0,1%.

Zhu et al. (2003), em estudos de toxidez e efeito repelente do óleo essencial de *P. cablin* na concentração de 40  $\mu\text{g}$  sobre *Coptotermes formosanus* Shiraki, Isoptera: Rhinotermitidae (cupim), destacaram a atividade neurotóxica desde óleo nos insetos, causando paralisia, tremores e até mesmo incapacidade de manter a coordenação motora das pernas.

As operárias de *A. sexdens* submetidas ao tratamento (T4) com isolado IBCB 66 de *B. bassiana* apresentaram taxa de mortalidade de 43,33% (Tabela 1 e Figura 5). Apesar de a mortalidade apresentada ser de quase 50% dos insetos, T4 não diferiu das testemunhas. Esse fator pode estar relacionado ao isolado utilizado, pois há variação entre isolados da mesma espécie de fungo. Castilho et al. (2010)

comprovaram que essa variação entre isolados de uma mesma espécie de fungo existe, pois em testes com seis isolados de *B. bassiana* (ENA06; ENA07; ENA08; ENA13; ENA14 e ENA15) na concentração de  $1 \times 10^8$  conídios  $\text{mL}^{-1}$  sobre soldados de *A. sexdens rubropilosa* e *A. bisphaerica*, foi verificado que a taxa de mortalidade oscilou entre  $\leq 47\%$  até  $90\%$  dentre os seis isolados utilizados.

Santos, Oliveira e Samuels (2007) analisaram o tempo letal médio (tempo em que o isolado do fungo entomopatogênico consegue causar mortalidade em 50% dos insetos) ( $TL_{50}$ ) de *A. sexdens rubropilosa*. Os autores avaliaram cinco isolados de *B. bassiana* (LPP1; LPP2; CG11; CG24 e CG46), com a mesma concentração de  $2 \times 10^7$  conídios  $\text{mL}^{-1}$  para todos os tratamentos, verificando que a  $TL_{50}$  variou entre 3,5 e 4,4 dias para isolados testados.

**Figura 5** – Esporulação do fungo *B. bassiana* na superfície tegumentar de *A. sexdens* depois de três dias da aplicação do tratamento T4 - isolado IBCB 66 do fungo *B. bassiana* utilizado ( $2,5 \times 10^8$  conídios. $\text{mL}^{-1}$ ) e do tratamento T5 - associação de *B. bassiana* ( $2,5 \times 10^8$  conídios. $\text{mL}^{-1}$ ) e óleo essencial de *P. cablin* (1%); (Estereomicroscópio ZEISS Stemi 508, aumento 8:1).



Fonte: A autora (2018)

A associação de *B. bassiana* e o óleo essencial de *P. cablin* (T5) provocou a maior taxa de mortalidade em operárias de *A. sexdens*, com  $66,67\%$  no final do

período de avaliação (Tabela 1 e Figura 5). Isso pode indicar que a ação bem sucedida do fungo *B. bassiana* pode estar atrelada ao estresse causado pela aplicação do óleo essencial de *P. cablin*, como relatado por Rocha et al. (2018), onde observaram que formigas que entraram em contato com o óleo essencial de *P. cablin* apresentavam irritabilidade.

Embora sejam apresentados efeitos positivos na associação de fungos entomopatogênicos e óleos essenciais no controle de insetos. Pouco se sabe a respeito das vias bioquímicas desta interação, visto que existe uma complexidade química presente nos diferentes óleos essenciais, e que atuam em vias distintas da biologia do inseto.

A utilização de fungos entomopatogênicos integrados a outros métodos é possível. Em bioensaios realizados por Celestino et al. (2018), foi comprovado que há potencial na associação do óleo de mamona com isolados de *B. bassiana* (isolados CCA-UFES/Bb-4; CCA-UFES/Bb-11; CCA-UFES/Bb-15 e CCA-UFES/Bb-18). Todos esses isolados testados em associação com o óleo de mamona indicaram potencial para utilização no controle da broca-do-café *Hypothenemus hampei* Ferrari (Coleoptera: Scolytidae), visto que todos foram considerados compatíveis pelo Índice Biológico (IB). Além de Celestino et al. (2015) verificarem que óleo essencial de cultivares de mamona Paraguaçu (na concentração de 2%) provoca mortalidade acima de 50% em adultos da broca-do-café, quando aplicado isoladamente.

Em estudo com tratamento de associação do isolado Bb62 de *B. bassiana* ( $1 \times 10^7$  conídios.mL<sup>-1</sup>) com inseticida botânico de nim 0,5%, mostraram que há um aumento na taxa de mortalidade de ninfas de mosca-branca *Bemisia tabaci* Gennadius (Hemiptera: Aleyrodidae), do que quando esses dois agentes são aplicados isoladamente (ISLAM; CASTLE; REN, 2010). No presente trabalho foi utilizado à associação de *B. bassiana* e óleo essencial de *P. cablin*, diferente do trabalho citado acima, entretanto os resultados do uso integrado de *B. bassiana* são semelhantes. Pois em ambos os trabalhos a associação dos agentes com *B. bassiana* aumentaram as taxas de mortalidade dos insetos que foram aplicados, em relação ao uso isoladamente.

Rondelli et al. (2011) comprovaram a eficiência da associação do óleo essencial de mamona a 2% com o isolado ESALQ - 447 de *B. bassiana* ( $3 \times 10^5$

conídios.mL<sup>-1</sup>) para o controle de traça-das-crucíferas *Plutella xylostella* Linnaeus (Lepidoptera: Plutellidae), como uma taxa de mortalidade de 74,90% desse inseto.

O resultado da associação (*B. bassiana* e óleo essencial de *P. cablin*) testada neste trabalho foi positiva sobre *A. sexdens*, apresentando uma taxa de mortalidade de 66,67% das operárias. Entretanto também é interessante verificar a compatibilidade entre fungos entomopatogênicos e óleos essenciais *in vitro*, pois há óleos que podem ser tóxicos para determinados fungos.

Gonçalves (2017), que testou a compatibilidade de diferentes óleos essenciais, dentre eles o óleo essencial de alho (*Allium sativum* Linn, família Amaryllidaceae), melaleuca (*Melaleuca alternifolia* Cheel, família Myrtaceae) e citronela (*Cymbopogon winterianus* Jowitt, família Poaceae) com o fungo entomopatogênico *B. bassiana*, verificou que na concentração de 1% o óleo essencial de alho, de acordo com IB (Índice Biológico de Toxicidade), é compatível com o fungo *B. bassiana*; o de melaleuca é moderadamente compatível e o óleo de citronela é tóxico para este fungo.

Sugere-se que novas pesquisas sejam realizadas em relação ao teste de compatibilidade de *B. bassiana* e óleo essencial de *P. cablin* com diferentes concentrações de ambos os agentes, a fim, de encontrar uma concentração que potencialize da ação do fungo e seja eficaz para o controle de *A. sexdens*. Estudos de associação com outros fungos entomopatogênicos e óleos essenciais também podem ser promissores na busca de encontrar um método de controle alternativo para esses insetos.

## 6 CONCLUSÃO

A associação do isolado IBCB 66 de *B. bassiana* ( $2,5 \times 10^8$  conídios mL<sup>-1</sup>) e o óleo essencial de *P. cablin* (1%) foi considerada eficiente para o controle de operárias de *A. sexdens* em condições de laboratório.

## REFERÊNCIAS

- AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA. **ANVISA**. Resolução da diretoria colegiada – RDC nº 2, 2007. Disponível em: <[http://www.cidasc.sc.gov.br/inspecao/files/2012/08/resolu%C3%A7%C3%A3o-2\\_2007.pdf](http://www.cidasc.sc.gov.br/inspecao/files/2012/08/resolu%C3%A7%C3%A3o-2_2007.pdf)>. Acesso em: 25 mai. 2018.
- ALBUQUERQUE, E. L. D. *et al.* Insecticidal and repellence activity of the essential oil of *Pogostemon cablin* against urban and species. **Acta Tropica**, v. 127, p. 181-186, 2013.
- ALVES, Sergio Batista. **Controle microbiano de insetos**. 2. ed. Piracicaba: FEALQ, 1998. 1163 p.
- ARAÚJO, M. S. *et al.* Controle biológico de formigas-cortadeiras: o caso da predação de fêmeas de *Atta* spp. por *Canthon virens*. **Revista de Agricultura Neotropical**, Cassilândia-MS, v. 2, n. 3, p. 8–12, 2015.
- ARAÚJO, M. da S.; DELLA LUCIA, T. M. C.; SOUZA, D. J. Estratégias alternativas de controle de formigas cortadeiras. **Bahia Agrícola**, v. 6, n. 1, p. 71-74, 2003.
- BARBOSA, L. R. *et al.* Registro de *Thaumastocoris peregrinus* (Hemiptera: Thaumastocoridae) no Estado do Paraná. **Pesquisa Florestal Brasileira**, Colombo, v. 30, n. 61, p. 75-77, 2010.
- BASSO, V. M. *et al.* Programa do fomento rural no Brasil. **Pesquisa Florestal Brasileira**, v. 32, n. 71, p. 321-334, 2012.
- BOARETTO, M. A.; FORTI, L. C. Perspectivas no controle de formigas cortadeiras. **Série técnica IPEF**, v. 11, n. 30, p. 31-46, 1997.
- BRITTO, J. S. *et al.* Use of alternatives to PFOS, its salts and PFOSF for the control of leaf-cutting ants *Atta* and *Acromyrmex*. **International Journal of Research in Environmental Studies**, v. 3, p. 11-92, 2016.
- CANTARELLI, E. B. *et al.* Quantificação das perdas no desenvolvimento de *Pinus taeda* após o ataque de formigas cortadeiras. **Ciência Florestal**, v. 18, n. 1, p. 39-45, 2008.
- CARMO, E. S.; LIMA, E. O.; SOUZA, E. L. The potential of *Origanum vulgare* L. (Lamiaceae) essential oil in inhibiting the growth of some food-related *Aspergillus* species. **Brazilian Journal of Microbiology**, v. 39, n. 2, p. 362-367, 2008.
- CASTILHO, A. M. C. *et al.* Seleção de isolados de *Metarhizium anisopliae* e *Beauveria bassiana* patogênicos a soldados de *Atta bisphaerica* e *Atta sexdens rubropilosa* em condições de laboratório. **Ciência Rural**, v.40, n.6, p. 1243-1249, 2010.

CELESTINO, F. N. *et al.* Toxicidade do óleo de mamona à broca-do-café [*Hypothenemus hampei* (Ferrari) (Coleoptera: Curculionidae: Scolytinae)]. **Coffee Science**, Lavras, v. 10, n. 3, p. 329-336, 2015.

CELESTINO, F. N. *et al.* Compatibilidade in vitro entre *Beauveria bassiana* e o óleo de mamona. **Revista Brasileira de Ciências Agrárias**, Recife, v. 13, n. 4, p. 1-9, 2018.

CHICHORRO, J. F. *et al.* Custos e índices econômicos de povoamentos de eucalipto do programa produtor florestal no Espírito Santo. **Pesquisa Florestal Brasileira**, Colombo, v. 37, n. 92, p. 447-456, 2017.

CORRÊA, J. C. R.; SALGADO, H. R. N. Atividade inseticida das plantas e aplicações: revisão, **Revista Brasileira Plantas Mediciniais**, Botucatu, v.13, n.4, p.500-506, 2011.

COSTA, Ervandil Corrêa. *et al.* **Entomologia florestal**. 2. ed. Santa Maria: Ed. Da UFMS, 2011. 244p.

CRUZ, Ivan. Manejo integrado de pragas de milho com ênfase para o controle biológico. *In*: CICLO DE PALESTRAS SOBRE CONTROLE BIOLÓGICO DE PRAGAS, 4., 1995, Campinas. **Anais**. Campinas: Sociedade Entomológica do Brasil, 1995, p. 48-92.

GALLO, Domingos. *et al.* **Entomologia agrícola**. Piracicaba: FEALQ, 2002, v. 10, 920 p.

GARLET, J. *et al.* Fauna de Coleoptera edáfica em eucalipto sob diferentes sistemas de controle químico da matocompetição. **Floresta e Ambiente**, v. 22, n. 2, p. 239-248, 2015.

GONÇALVES, Vanessa Pinto. **Compatibilidade de agrotóxicos e óleos essenciais a *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuill e *Metarhizium anisopliae* (Metsch.) Sorokin**. 2017. 57 f. Dissertação (Mestrado em Fitossanidade) – Universidade Federal de Pelotas, Pelotas/RS, 2017.

GOKULAKRISHNAN, J. *et al.* Pupicidal and repellent activities of *Pogostemon cablin* essential oil chemical compounds against medically important human vector mosquitoes. **Asian Pacific Journal of Tropical Disease**, v. 3, n. 1, p. 26–31, 2013.

IBÁ. **Indústria brasileira de árvores, relatório IBÁ 2017**. Brasília, 2017, 78 p. Disponível em: <[http://iba.org/images/shared/Biblioteca/IBA\\_RelatorioAnual2017.pdf](http://iba.org/images/shared/Biblioteca/IBA_RelatorioAnual2017.pdf)>. Acesso em: 28 mar. 2019.

IBÁ. **Indústria brasileira de árvores, sumário executivo IBÁ 2018**. Brasília, 2018, 6 p. Disponível em: <<https://www.iba.org/datafiles/publicacoes/relatorios/digital-sumarioexecutivo-2018.pdf>>. Acesso em 10 abr. 2019.

ISLAM Md. T.; CASTLE S. J.; REN S. Compatibility of the insect pathogenic fungus *Beauveria bassiana* with neem against sweetpotato whitefly, *Bemisia tabaci*, on eggplant. **Entomologia Experimentalis et Applicata**, v. 134, n. 1, p. 28-34, 2010.

EPAGRI. **Normas técnicas para cultivo de capim-limão, citronela, palma-rosa e patchuli**. Florianópolis, 2004. 58 p. (Epagri. Sistemas de Produção, 37).

ESPOSITO, Elisa.; AZEVEDO, João Lúcio. **Fungos: uma introdução à biologia, bioquímica e biotecnologia**. 2. ed. Caxias do Sul: Educs, 2010. 638 p.

FAZOLIN, M. *et al.* Propriedade inseticida dos óleos essenciais de *Piper hispidinervum* C.DC.; *Piper aduncum* L. e *Tanaecium nocturnum* (Barb. Rodr.) Bur. & K. Shum sobre *Tenebrio molitor* L., 1758<sup>(1)</sup>. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 31, n. 1, p. 113-120, 2007.

FUJIHARA, R. T.; SILVA, M. S.; FORTI, L. C. Manejo de formigas cortadeiras. *In*: BALDIN, E. L. L. et al. (Orgs). **Tópicos Especiais em Proteção de Plantas**. Botucatu, 2013. cap. 10 p. 103-113.

HOWARD, J. J.; CAZIN JR, J.; WIEMER. D. F. Toxicity of terpenoid deterrents to the leaf-cutting ant *Atta cephalotes* and its mutualistic fungus. **Journal of Chemical Ecology**, v. 14, n. 1, p. 59-69, 1988.

JACOBSON, M. Botanical pesticides: past, present and future. *In*: ARNASON, J. T.; PHILOGÈNE, B. J. R.; MORAND, P. Insecticide of plant origin. Washington, DC, American Chemical Society, v. 387, p. 1-10, 1989. Disponível em: <<https://pubs.acs.org/doi/abs/10.1021/bk-1989-0387.ch001>>. Acesso em 30 abr. 2019.

JUNG, P. H. *et al.* Atividade inseticida de *Eugenia uniflora* L. e *Melia azedarach* L. sobre *Atta laevigata* Smith. **Floresta e Ambiente**, v. 20, n. 2, p. 191-196, 2013.

LOUREIRO, E. S.; MONTEIRO, A. C. Patogenicidade de isolados de três fungos entomopatogênicos a soldados de *Atta sexdens sexdens* (Linnaeus, 1758) (Hymenoptera: Formicidae). **Revista Árvore**, v. 29, n. 4, p. 553-561, 2005.

MAFIA, R. G; MENDES, J. E. P; CORASSA, J. de N. Análise comparativa dos surtos e danos causados pelos besouros desfolhadores *Costalimaita ferruginea* (Fabricius, 1801) e *Costalimaita lurida* (Lefèvre, 1891) (Coleoptera: Chrysomelidae) em plantios de eucalipto. **Revista Árvore**, Viçosa-MG, v. 38, n. 5, p. 829-836, 2014.

MAIA, A.; DIREITO, I. C. N., FIGUEIRÓ, R. Controle biológico de simuliídeos (Diptera: Simuliidae): panorama e perspectivas. Cadernos UniFOA, Volta Redonda, n. 25, quadrimestral, p. 89-104, ago. 2014. Disponível em: <<http://revistas.unifoa.edu.br/index.php/cadernos/article/view/116>>. Acesso em: 04 jun. 2019.

MARQUES, Míriam de Almeida. **Compatibilidade e associação do óleo de mamona a *Beauveria bassiana* no controle de *Bemisia tabaci* biótipo b e**



**seletividade a *Trichogramma pretiosum***. 2015. 136 f. Tese (Doutorado em Agronomia: Fitossanidade) – Universidade Federal de Goiás, Goiânia-GO, 2015.

MIRANDA, C. A. S. *et al.* Óleos essenciais de folhas de diversas espécies: propriedades antioxidantes e antibacterianas no crescimento espécies patogênicas. **Revista Ciência Agronômica**, Fortaleza, v. 47, n. 1, p. 213-220, 2016.

MORAES, G. J.; BERTI FILHO, E. Dossiê Brasil rural: controle biológico de pragas no Brasil. **Revista USP**, São Paulo, n. 64, p. 144-155, 2005.

MOUTINHO, P.; NEPSTAD D. C.; DAVIDSON, E. A. Influence of leaf-cutting ant nests on secondary forest growth and soil properties in Amazonia. **Ecology**, v. 84, n. 5, p. 1265-1276, 2003.

PAVELA, Roman. Insecticidal properties of several essential oils on the house fly (*Musca domestica* L.). **Phytotherapy Research**, v. 22, n. 2, p. 274–278, 2008.

PEREIRA, A. R. S. *et al.* Modelagem volumétrica para *Eucalyptus urograndis* no município de Porto Grande, Amapá, Brasil. **Biota Amazônia**, Macapá-AP, v. 6, n. 4, p. 10-14, 2016.

PULLAGUMMI, C. *et al.* Comparitive studies on antibacterial activity of patchouli [*Pogostemon cablin* (Blanco) Benth] and geranium (*Pelargonium graveolens*) aromatic medicinal plants. **African Journal of Biotechnology**, v. 13, n. 23, p. 2379-2384, 2014.

REIS FILHO, W. *et al.* Danos causados por diferentes níveis de desfolha artificial para simulação do ataque de formigas cortadeiras em *Pinus taeda* e *Eucalyptus grandis*. **Pesquisa Florestal Brasileira**, v. 31, n. 65, p. 37-42, 2011.

RIBEIRO, M. M. R. *et al.* Diversity of fungi associated with *Atta bisphaerica* (Hymenoptera: Formicidae): the activity of *Aspergillus ochraceus* and *Beauveria bassiana*. **Psyche: A Journal of Entomology**, v. 3, p. 1-6, 2012.

ROCHA, A. G. *et al.* Lethal effect and behavioral responses of leaf-cutting ants to essential oil of *Pogostemon cablin* (Lamiaceae) and its nanoformulation. **Neotropical Entomology**, v. 47, n. 6, p. 769-779, 2018.

RONDELLI, V. M. *et al.* Associação do óleo de mamona com *Beauveria bassiana* no controle da traça-das-crucíferas. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 46, n. 2, p. 212-214, 2011.

SANTANA, D. L. Q. *et al.* Danos causados por *Ctenarytaina spatulata* Taylor, 1977 (Hemiptera: Psyllidae) em *Eucalyptus grandis* Hill. ex Maiden. **Boletim de Pesquisa Florestal**, n. 50, p. 11-24, 2005.

SANTOS, A. C. *et al.* Formigas cortadeiras na cultura do eucalipto. **Revista Conexão Eletrônica**, Três Lagoas-MS, v. 14, n. 1, p. 535-547, 2017.

SANTOS, A. V.; OLIVEIRA, L. O.; SAMUELS, R. I. Selection of entomopathogenic fungi for use in combination with sub-lethal doses of imidacloprid: perspectives for the control of the leaf-cutting ant *Atta sexdens rubropilosa* Forel (Hymenoptera: Formicidae). **Mycopathologia**, v. 163, n. 4, p. 223-240, 2007.

SANTOS, G. P. *et al.* Pragas do eucalipto. **Informe Agropecuário**, Belo Horizonte, v. 29, n. 242, p. 43-57, 2008.

SOUSA, T. P. *et al.* Utilização de plantas como repelentes e inseticidas naturais: alternativa de produção orgânica e sustentável na agricultura familiar. **Revista Verde**, Pombal, v. 9, n. 4, p. 05-07, 2014.

SOUZA, N. M. *et al.* **Ressurgência de uma antiga ameaça: gorgulho-do-eucalipto *Gonipterus platensis* (Coleoptera: Curculionidae)**. Instituto de Pesquisas e Estudos Florestais – IPEF, Circular técnica, n. 209, p. 1-20, 2016. Disponível em: <<https://www.ipef.br/publicacoes/ctecnica/nr209.pdf>>. Acesso em: 04 jun. 2019.

TESSER, A. A. *et al.* Análise do efeito de extratos naturais na inibição do desenvolvimento do fungo simbiote *Leucoagaricus gongylophorus* para determinação do potencial na utilização como formicida com base ecológica. **RIES**, v. 3, n. especial, p. 26-34, 2014.

TRAVAGLINI, R. V. *et al.* Mapping the adhesion of different fungi to the external integument of *Atta sexdens rubropilosa* (Forel, 1908). **International Journal of Agriculture Innovations and Research**, v. 5, n. 1, p. 118-125, 2016.

VITAL, Marcos H. F. Impacto ambiental de florestas de eucalipto. **Revista do BNDES**, Rio de Janeiro, v. 14, n. 28, p. 235-276, 2007.

ZANETTI, Ronald. *et al.* **Manejo integrado de formigas cortadeiras**. Lavras: UFLA, 17 p., 2002. Disponível em: <[http://www.den.ufla.br/attachments/article/73/Aula6\\_MIP\\_FORMIGAS.pdf](http://www.den.ufla.br/attachments/article/73/Aula6_MIP_FORMIGAS.pdf)>. Acesso em: 14 mai. 2018.

ZANETTI, R. *et al.* An overview of integrated management of leaf-cutting ants (Hymenoptera: Formicidae) in brazilian forest plantations. **Forests**, v. 5, n. 3, p. 439-454, 2014.

ZANUNCIO, J. C. *et al.* Monitoramento de Lepidopteros, associados a plantios de eucalipto da região de Açailândia (Maranhão), no período de agosto/90 a julho/91. **Acta Amazônia**, v. 22, n. 4, p. 615-622, 1992.

ZHU, B. C. R. *et al.* Toxicity and repellency of patchouli oil and patchouli alcohol against formosan subterranean termites *Coptotermes formosanus* Shiraki (Isoptera: Rhinotermitidae). **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 51, n. 16, p. 4585-4588, 2003.