

## Seleção de isolados de *Metarhizium anisopliae* e *Beauveria bassiana* patogênicos a soldados de *Atta bisphaerica* e *Atta sexdens rubropilosa* em condições de laboratório

Selection of *Metarhizium anisopliae* and *Beauveria bassiana* isolates pathogenic to *Atta bisphaerica* and *Atta sexdens rubropilosa* soldiers under laboratory conditions

Alzimiro Marcelo Conteiro Castilho<sup>I</sup> Marcelo Elias Fraga<sup>II\*</sup> Elen de Lima Aguiar-Menezes<sup>III</sup>  
Carlos Alberto da Rocha Rosa<sup>II</sup>

### RESUMO

As formigas do gênero *Atta* são pragas importantes de diversas culturas agrícolas, pastagens e reflorestamentos. Os fungos entomopatogênicos estão entre os fatores naturais de mortalidade dessas formigas e por isso apresentam potencial para serem usados no controle biológico dessa praga. O presente trabalho teve como objetivo selecionar isolados de *Metarhizium anisopliae* e *Beauveria bassiana* patogênicos a soldados de *Atta bisphaerica* e *Atta sexdens rubropilosa* em condições de laboratório. Para a avaliação da patogenicidade, foram utilizados oito isolados de *M. anisopliae* e seis de *B. bassiana*. O experimento foi conduzido em DIC, sendo a parcela composta por um grupo de 10 soldados por espécie de formiga, sendo utilizadas três repetições por tratamento. Para cada isolado, três grupos de soldados foram pulverizados com suspensão de  $1,0 \times 10^8$  conídios  $ml^{-1}$  e mantidos em câmara úmida ( $25 \pm 1^\circ C$ ,  $80 \pm 1\%$  de UR e no escuro) sem alimentação, sendo a mortalidade verificada diariamente. Dos 14 isolados testados, quatro de *M. anisopliae* e quatro de *B. bassiana* foram patogênicos aos soldados de ambas as espécies de formigas. A virulência foi avaliada para os isolados que causaram mortalidade igual ou maior a 50%. Para cada isolado, suspensões contendo  $1,0 \times 10^6$  a  $1,0 \times 10^{11}$  conídios  $ml^{-1}$  foram pulverizadas sobre três grupos de 10 soldados e igualmente acondicionados como no teste de patogenicidade. A porcentagem de mortalidade foi calculada a cada 24 horas para determinação do  $TL_{50}$ . O isolado ENA04 de *M. anisopliae* foi mais patogênico, causando mais de 80% de mortalidade nos primeiros três dias após a inoculação, apresentou maior capacidade de esporular nos cadáveres dos soldados e foi o mais virulento para os soldados de *A. bisphaerica*, com um  $TL_{50}$  de 1,15 dias. Todos os isolados patogênicos aos soldados de *A. sexdens rubropilosa* foram igualmente virulentos.

**Palavras-chave:** formigas cortadeiras, fungos entomopatogênicos, patogenicidade, virulência.

### ABSTRACT

The ants of the genus *Atta* are important pests of several crops, pastures and planted forests. The entomopathogenic fungi are among the natural mortality factors of these ants and because of that they have potential to be used in biological control of this pest. The present research aimed to select isolates of *Metarhizium anisopliae* and *Beauveria bassiana* pathogenic to soldiers of *Atta sexdens rubropilosa* and *Atta bisphaerica* under laboratory conditions. To evaluate the pathogenicity, eight isolates of *M. anisopliae* and six of *B. bassiana* were used. The experiment was carried out in a completely randomized design, being the plots composed by a group of ten soldiers per each ant species, and three replicates per treatment. For each isolate, three groups of soldiers were sprayed with conidial suspensions containing  $1.0 \times 10^8$  conidia  $ml^{-1}$ , kept in moist chamber ( $25 \pm 1^\circ C$ ,  $80 \pm 1\%$  of RH in the dark) without food, and the mortality was evaluated every day. From the 14 isolates tested, four of *M. anisopliae* and four of *B. bassiana* were pathogenic to soldiers of the both ant species. The virulence was evaluated to the isolates that caused mortality equal or higher than 50%. For each isolate, suspensions containing  $1.0 \times 10^6$  to  $1.0 \times 10^{11}$  conidia  $ml^{-1}$  were sprayed on three groups of ten soldiers, and equally kept as on the pathogenicity test. The mortality percentage was calculated each 24 hours for determining  $TL_{50}$ . The isolate ENA04 of *M. anisopliae* was the most pathogenic, causing more than 80% of mortality in the first three days after inoculation, showed higher capacity of spore production on ant cadavers, and was the most virulent to the soldiers of *A. bisphaerica*, with a  $TL_{50}$  of 1.15 days. All pathogenic isolates of *A. sexdens rubropilosa* soldiers were equally virulent.

**Key words:** leaf-cutting ants, entomopathogenic fungi, pathogenicity, virulence.

<sup>I</sup>Programa de Pós-graduação em Microbiologia Veterinária, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro (UFRRJ), Seropédica, RJ, Brasil.

<sup>II</sup>Departamento de Microbiologia e Imunologia Veterinária, Instituto de Veterinária, UFRRJ, Rodovia BR 465, km 7, 23890-000, Seropédica, RJ, Brasil. E-mail: fraga@ufrj.br. \*Autor para correspondência.

<sup>III</sup>Departamento de Entomologia e Fitopatologia, Instituto de Biologia, UFRRJ, Seropédica, RJ, Brasil.

## INTRODUÇÃO

As formigas cortadeiras do gênero *Atta* Fabricius (Hymenoptera: Formicidae), conhecidas por saúvas, podem causar grande prejuízo econômico ao desfolharem parcial ou totalmente culturas de importância para a agricultura e a silvicultura (BOARETTO & FORTI, 1997). No Brasil, destaca-se a espécie *Atta sexdens rubropilosa* Forel, conhecida como saúva-limão, que forrageia uma variedade de culturas agrícolas e é uma das principais pragas dos reflorestamentos (JACCOUD, 2000), e a espécie *Atta bisphaerica* Forel, que ataca pastagens, sendo conhecida como saúva-mata-pasto, mas tem se destacado como praga de cana-de-açúcar (BOARETTO & FORTI, 1997; JACCOUD, 2000).

O método químico é a forma sistemática e tradicional de controle das saúvas, sendo considerado prático, mas nem sempre eficiente e pode envolver alto custo operacional, tendo demonstrado inconveniências devido à falta de especificidade, contaminação do meio ambiente e toxicidade para o aplicador (JACCOUD, 2000; LOUREIRO & MONTEIRO, 2004).

Dessa forma, por razões econômicas e ambientais, tem crescido a demanda por tecnologias alternativas que contribuam para uma agricultura sustentável. Como resposta, a pesquisa científica tem avançado no desenvolvimento de soluções tecnológicas alternativas para o controle de formigas cortadeiras, entre elas, cita-se o controle microbiano por fungos entomopatogênicos (LOUREIRO & MONTEIRO, 2004; 2005; SANTOS et al., 2007).

Certos fungos entomopatogênicos apresentam potencial de serem utilizados no controle biológico de saúvas (JACCOUD, 2000). De acordo com SILVA & DIEHL-FLEIG (1988), os fungos entomopatogênicos das espécies *Metarhizium anisopliae* (Metsch.) e *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuill. têm demonstrado eficiência e outras vantagens sobre os formicidas químicos no controle de saúvas.

Todavia, levantamentos e testes de seleção de isolados desses fungos entomopatogênicos continuam sendo importantes e necessários para descoberta de isolados promissores como agentes de controle microbiano de formigas cortadeiras, visto que, além da grande variabilidade genética entre os isolados que resulta em diferenças de patogenicidade e virulência, os isolados necessitam possuir uma capacidade de vencer a organização social desse inseto (SANTOS et al., 2007).

No presente estudo, isolados de *B. bassiana* e *M. anisopliae* foram avaliados em bioensaios de laboratório com o objetivo de selecionar isolados

patogênicos a *Atta sexdens rubropilosa* e *Atta bisphaerica* com potencial para o controle microbiano dessas saúvas.

## MATERIAL E MÉTODOS

### Procedência dos insetos experimentais

Soldados de *A. sexdens rubropilosa* e *A. bisphaerica* foram obtidos de saúveiros em intensa atividade localizados no Campus de Seropédica da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro (UFRRJ) (22°45'S, 43°41'W). Os soldados foram transportados para o laboratório em Erlenmeyer de 250ml com tampa telada, sendo esses materiais previamente esterilizados. Os soldados foram mantidos no laboratório por um dia antes do início dos bioensaios, em condições ambientais de temperatura e umidade relativa do ar (26±1°C, 80±1% de UR).

### Procedência dos isolados

Dois isolados foram provenientes de uma coleção de fungos (UFRRJ), e 12 isolados foram obtidos de soldados de formigas do gênero *Atta* coletados em diferentes localidades do Estado do Rio de Janeiro (Tabela 1). O isolamento dos fungos foi realizado por meio da transferência de estruturas fúngicas (micélio e esporos) para meio BDA (batata-dextrose-ágar), de acordo com ALVES (1998). Para a utilização nos bioensaios, os isolados foram repicados na mesma data para tubos de ensaio contendo 5ml de meio BDA sólido inclinado e mantidos a 25±1°C, 80±1% de UR e no escuro por 15 dias para o desenvolvimento das colônias fúngicas. A viabilidade dos isolados foi determinada em ensaio anterior, ficando maior que 95%.

### Teste de patogenicidade

Para cada isolado, uma suspensão de conídios foi preparada com o acréscimo de 10ml de solução salina de NaCl a 0,85% e solução de Tween 80® a 0,05% ao tubo de ensaio com as colônias desenvolvidas, sendo, em seguida, agitada em vortex por 3min. As suspensões foram filtradas em lenço de papel escotex e suas concentrações foram ajustadas por meio de diluições em série, em solução de Tween 80® a 0,05%, procedendo-se à contagem direta dos conídios ao microscópio ótico, por meio da câmara de Neubauer. Para cada isolado, uma alíquota de 1ml de suspensão a 1,0 x 10<sup>8</sup> conídios ml<sup>-1</sup> foi pulverizada sobre três grupos de 10 soldados, sendo utilizado um atomizador De Vilbiss. O tratamento testemunha recebeu 1ml da solução de Tween 80® a 0,05%. Os soldados tratados foram acondicionados em Erlenmeyer de 250ml previamente esterilizado e com tampa telada, sendo

Tabela 1 - Procedência dos isolados de *Metarhizium anisopliae* e *Beauveria bassiana* testados em condições de laboratório.

Espécies	Isolados	Origem	Hospedeiro
<i>M. anisopliae</i>	ENA01	Campus da UFRRJ (Seropédica, RJ)	<i>Atta sexdens rubropilosa</i>
	ENA02	Bairro Ecologia (Seropédica, RJ)	<i>Atta sexdens rubropilosa</i>
	ENA03	INCRA (Seropédica, RJ)	<i>Atta bisphaerica</i>
	ENA04 <sup>1</sup>	DEnF/UFRRJ (Seropédica, RJ)	<i>Atta sexdens rubropilosa</i>
	ENA05 <sup>1</sup>	DEnF/UFRRJ (Seropédica, RJ)	<i>Zulia enteriana</i>
	ENA09	Bairro Campo Grande (Rio de Janeiro, RJ)	<i>Atta sexdens rubropilosa</i>
	ENA11	Bairro Cacaria (Piraí, RJ)	<i>Atta sexdens rubropilosa</i>
	ENA12	Vassouras/RJ	<i>Atta sexdens rubropilosa</i>
	<i>B. bassiana</i>	ENA06	Bairro Campo Grande (Rio de Janeiro, RJ)
ENA07		Campus da UFRRJ (Seropédica, RJ)	<i>Atta bisphaerica</i>
ENA08		Itaguaí/RJ	<i>Atta sexdens rubropilosa</i>
ENA13		Campus da UFRRJ (Seropédica, RJ)	<i>Atta sexdens rubropilosa</i>
ENA14		Miguel Pereira/RJ	<i>Atta sexdens rubropilosa</i>
ENA15		Vassouras/RJ	<i>Atta sexdens rubropilosa</i>

<sup>1</sup> Isolado da coleção de fungos do Departamento de Entomologia e Fitopatologia (DEnF) da UFRRJ armazenado em água destilada por 11 anos. Os demais isolados foram obtidos de soldados de saúvas.

mantidos sem alimento e em condições ambientais de temperatura e umidade relativa do ar ( $26 \pm 1^\circ\text{C}$  e  $79 \pm 1\%$  de UR) no laboratório. Observações diárias foram realizadas para registrar a mortalidade dos indivíduos durante 168 horas. Nesse período, foi calculada, para cada isolado, a mortalidade acumulada [= (número de indivíduos mortos/número total de indivíduos)\*100]. Para confirmação da mortalidade pelo fungo, os soldados mortos foram desinfetados por 30s em álcool 70%, enxaguados em água destilada e estéril, secados em papel de filtro esterilizado e mantidos em câmara úmida a  $25 \pm 1^\circ\text{C}$ ,  $80 \pm 1\%$  de UR e no escuro por 10 dias para verificar a extrusão do fungo. A mortalidade confirmada foi representada pela porcentagem de cadáveres dos soldados em que ocorreu a extrusão do fungo. O delineamento experimental foi o inteiramente casualizado, com três repetições por tratamento, sendo 10 soldados por repetição. Os dados foram submetidos à análise de variância, sendo as médias separadas pelo teste de Scott-Knott ( $P \leq 0,05$ ).

#### Teste de virulência

Foi conduzido apenas com os isolados que causaram mortalidade igual ou maior que 50%, no teste de patogenicidade, dentro do período de tempo em que pelo menos um dos isolados avaliados causasse 100% de mortalidade dos soldados. Suspensões de conídios de cada isolado foram preparadas adotando-se a mesma metodologia descrita no teste de

patogenicidade. Essas suspensões foram diluídas em série, em solução de Tween 80® a 0,05%, até alcançar as concentrações de  $1,0 \times 10^6$ ;  $1,0 \times 10^7$ ;  $1,0 \times 10^8$ ;  $1,0 \times 10^9$ ;  $1,0 \times 10^{10}$  e  $1,0 \times 10^{11}$  conídios  $\text{ml}^{-1}$ , ajustadas por meio de contagem direta dos conídios ao microscópio ótico, com auxílio da câmara de Neubauer. De cada suspensão nas diferentes concentrações, alíquotas de 1ml foram retiradas e pulverizadas sobre três grupos de 10 soldados, sendo utilizado um atomizador De Vilbiss. Os soldados tratados foram acondicionados como no teste de patogenicidade. Durante sete dias, os soldados foram observados a cada 24 horas para registrar a mortalidade dos indivíduos. Os dados da porcentagem de mortalidade em função dos intervalos de tempo de observação foram submetidos à análise de Probit, sendo utilizado o programa MicroProbit, para determinação do  $TL_{50}$  (tempo letal mediando), para cada isolado. Essas variáveis foram consideradas significativamente diferentes entre os isolados quando os intervalos de confiança a 95% não se sobrepuseram.

#### RESULTADOS E DISCUSSÃO

Dos 14 isolados testados contra soldados dessas espécies de saúvas, seis isolados (ENA05, ENA09, ENA11 e ENA12 de *M. anisopliae* e ENA08 e ENA15 de *B. bassiana*) causaram pequena porcentagem de mortalidade ( $\leq 47\%$ ) dentro das 72h após a inoculação das saúvas (Figura 1), eliminando-

os para futura consideração como agentes de controle biológico dessas saúvas.

Oito isolados fúngicos, sendo quatro de *M. anisopliae* (ENA01, ENA02, ENA03 e ENA04) e quatro de *B. bassiana* (ENA06, ENA07, ENA13 e ENA14), foram patogênicos aos soldados de ambas as espécies de saúvas, causando mais de 50% de mortalidade dentro das 72h após a inoculação, diferindo significativamente da mortalidade obtida na testemunha (Figura 1). Houve diferença significativa entre esses isolados (Tabela 2), indicando haver variação na capacidade patogênica dentro das espécies fúngicas e entre os isolados. A mortalidade de 100% dos soldados de *A. bisphaerica* ocorreu 72h após a inoculação (Figura 1), sendo

causada pelos isolados ENA02 de *M. anisopliae* e ENA07 de *B. bassiana*, os quais, todavia, não diferiram significativamente dos isolados ENA01 e ENA04 de *M. anisopliae* e ENA 14 de *B. bassiana* (Tabela 2). Para os soldados de *A. sexdens rubropilosa*, essa porcentagem de mortalidade também foi alcançada às 72h após a inoculação (Figura 1), sendo causada pelo isolado ENA04, mas que não diferiu de ENA01, ENA02, ENA06 e ENA13 (Tabela 2). A mortalidade alcançou 100% em todos os tratamentos nas 168h após a inoculação, quando a mortalidade máxima na testemunha foi de 25% e 28% para *A. sexdens rubropilosa* e *A. bisphaerica*, respectivamente, demonstrando que a metodologia utilizada no presente estudo foi adequada.

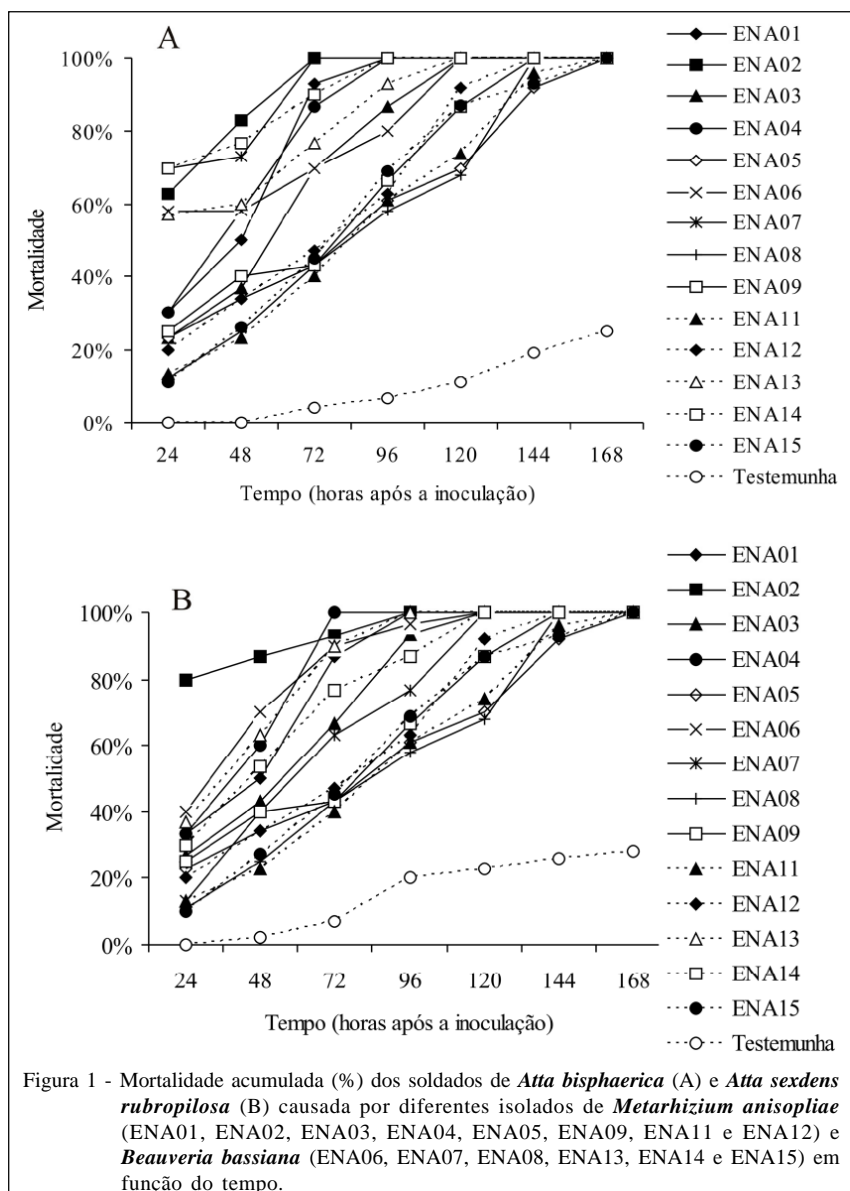


Figura 1 - Mortalidade acumulada (%) dos soldados de *Atta bisphaerica* (A) e *Atta sexdens rubropilosa* (B) causada por diferentes isolados de *Metarhizium anisopliae* (ENA01, ENA02, ENA03, ENA04, ENA05, ENA09, ENA11 e ENA12) e *Beauveria bassiana* (ENA06, ENA07, ENA08, ENA13, ENA14 e ENA15) em função do tempo.

Tabela 2 - Mortalidade total (MT) e mortalidade confirmada (MC) de soldados de *Atta bisphaerica* e *Atta sexdens rubropilosa* após 72h da inoculação com isolados de *Metarhizium anisopliae* e *Beauveria bassiana* em condições de laboratório.

Fungos	Isolados	----- <i>A. bisphaerica</i> -----		----- <i>A. sexdens rubropilosa</i> -----	
		MT(%) <sup>1</sup>	MC(%) <sup>1</sup>	MT(%) <sup>1</sup>	MC(%) <sup>1</sup>
<i>M. anisopliae</i>	ENA01	93,3 a	53,33 c	86,7 a	46,66 c
	ENA02	100,0 a	60,00 b	93,3 a	57,50 b
	ENA03	56,7 b	55,00 c	66,7 b	54,16 b
	ENA04	96,7 a	77,50 a	100,0 a	86,66 a
<i>B. bassiana</i>	ENA06	70,0 b	64,16 b	90,0 a	54,16 b
	ENA07	100,0 a	20,00 c	60,0 b	31,66 d
	ENA13	76,7 b	63,33 b	90,0 a	59,16 b
	ENA14	90,0 a	55,00 c	76,7 b	58,16 b
Testemunha		3,69c	-	6,66c	

<sup>1</sup> Médias seguidas de mesma letra, na coluna, não diferem entre si pelo teste de Scott-Knott ( $P \leq 0,05$ ).

As duas espécies de fungo foram capazes de crescer em cadáveres de soldados de ambas as espécies de saúvas (Tabela 2). Essa é uma característica favorável porque sugere que os isolados apresentam capacidade de causar infecções secundárias e, portanto, de atingirem um maior número de indivíduos na colônia (DIEHL-FLEIG et al., 1988). Todavia, os cadáveres de soldados tratados com os isolados ENA05, ENA09, ENA11 e ENA12 de *M. anisopliae* e ENA08 e ENA15 de *B. bassiana* não exibiram extrusão fúngica dentro dos 10 dias de avaliação. Com exceção do isolado ENA04 e ENA05, 10 isolados foram obtidos de soldados de *A. sexdens rubropilosa* e dois de *A. bisphaerica* naturalmente infectados por *M. anisopliae* ou *B. bassiana*, portanto, era esperado que houvesse esporulação desses isolados sobre os cadáveres dos soldados.

Houve diferença significativa entre os isolados capazes de crescer nos cadáveres dos soldados (Tabela 2). ENA04 de *M. anisopliae* mostrou maior capacidade de esporulação, crescendo sobre 77,5 e 66,7% dos cadáveres de soldados de *A. bisphaerica* e *A. sexdens rubropilosa*, respectivamente, diferindo dos demais isolados. Esses resultados corroboram parcialmente os resultados obtidos por ALVES & SOSA-GÓMEZ (1983), os quais também constaram que ambas as espécies de fungos são patogênicas a *A. sexdens rubropilosa*, mas observaram que os soldados foram mais sensíveis à *B. bassiana*, diferindo do resultado obtido no presente estudo, provavelmente por se tratar de isolados que diferem em sua capacidade de esporulação em razão da grande variabilidade genética existente entre os fungos entomopatogênicos,

cujas expressões podem ser influenciadas por vários fatores, como condições de cultivo e climáticas (ALVES, 1998; FUNGARO et al., 1996). LOUREIRO & MONTEIRO (2005) observaram que um isolado de *M. anisopliae* (AL) apresentou maior capacidade de esporular nos cadáveres de soldados de *A. sexdens sexdens*, não diferindo significativamente de isolados de *B. bassiana* (JAB 06) e *Paecilomyces farinosus* (CG 195), mas essa capacidade não ultrapassou a 50%, portanto valor inferior ao encontrado no presente estudo. DEVIA (2006) também observou que esses três fungos são capazes de crescer em cadáveres de *Atta cephalotes* (L.), e os isolados de *M. anisopliae* e de *B. bassiana* testados por esse autor mostraram menor capacidade de esporulação (30 a 10% e de 15 a 5%, respectivamente), em comparação aos resultados obtidos no presente estudo.

O isolado ENA04 de *M. anisopliae* foi o mais virulento contra soldados de *A. bisphaerica*, gastando menor tempo (1,15 dias) para matar 50% da população (Tabela 3). O isolado ENA07 de *B. bassiana* foi o menos virulento (5,15 dias). Embora seja difícil traçar um comparativo da virulência dos isolados entre diferentes espécies de *Atta*, poucos trabalhos que avaliam a patogenicidade de fungos em saúvas, com base no  $TL_{50}$ , estão disponíveis. Porém, valores de  $TL_{50}$  maiores que os obtidos no presente estudo foram observados. No estudo de DIEHL-FLEIG et al. (1988) com *A. sexdens piriventris* Santshi, os valores de  $TL_{50}$  foram de 3,44 e 3,0 dias, quando as formigas foram inoculadas com os isolados  $L_{87}$  de *B. bassiana* e  $A_1$  de *M. anisopliae* numa concentração de  $10^6$  conídios  $ml^{-1}$ . Em testes conduzidos por LOUREIRO & MONTEIRO

Tabela 3 - Virulência relativa dos isolados de *Metarhizium anisopliae* (Ma) e *Beauveria bassiana* (Bb) expressa em tempo letal mediano (TL<sub>50</sub>) para soldados de *Atta bisphaerica* e *Atta sexdens rubropilosa*.

Isolados	TL <sub>50</sub> e IC <sup>1</sup> (dias)	Equação da reta <sup>2</sup>	χ <sup>2</sup> (P=0,05)
----- <i>A. bisphaerica</i> -----			
ENA01 (Ma)	2,21 (1,28 – 3,82) ab	Y= 4,251724 + 2,168331 logX	11,50
ENA02 (Ma)	1,87 (1,19 – 2,94) ab	Y= 4,226904 + 2,842559 logX	4,06
ENA03 (Ma)	2,08 (1,09 – 3,97) ab	Y= 4,415365 + 1,833416 logX	5,86
ENA04 (Ma)	1,15 (0,61 – 2,19) a	Y= 4,81504 + 2,894167 logX	1,41
ENA06 (Bb)	1,39 (0,52 – 3,75) ab	Y= 4,777481 + 1,550309 logX	2,14
ENA07 (Bb)	5,15 (2,21– 12,06) b	Y= 2,676178 + 3,262102 logX	3,99
ENA13 (Bb)	1,44 (0,55 – 3,78) ab	Y= 4,755611 + 1,543221 logX	4,07
ENA14 (Bb)	2,05 (0,92 – 4,59) ab	Y= 4,543898 + 1,454963 logX	2,37
----- <i>A. sexdens rubropilosa</i> -----			
ENA01 (Ma)	2,65 (1,69 – 4,16) a	Y= 3,824226 + 2,776277 logX	14,68
ENA02 (Ma)	1,96 (1,17 – 3,31) a	Y= 4,306917 + 2,358944 logX	1,60
ENA03 (Ma)	2,14 (1,04 – 4,39) a	Y= 4,463943 + 1,620698 logX	4,38
ENA04 (Ma)	1,37 (0,61 – 3,11) a	Y= 4,738206 + 1,909517 logX	0,97
ENA06 (Bb)	2,14 (1,11 – 4,16) a	Y= 4,413738 + 1,768307 logX	6,60
ENA07 (Bb)	3,57 (2,25 – 5,68) a	Y= 3,092711 + 3,447097 logX	2,39
ENA13 (Bb)	1,95 (1,37 – 2,82) a	Y= 3,963908 + 3,571529 logX	11,14
ENA14 (Bb)	1,68 (0,66 – 4,31) a	Y= 4,686997 + 1,383894 logX	2,67

<sup>1</sup> IC = Intervalo de confiança a 95%. Valores seguidos de mesma letra, na coluna, não diferem entre si quando ocorre sobreposição dos IC.

<sup>2</sup> Y = mortalidade transformada em probit; X = tempo transformado em log (dias).

(2005) com soldados de *A. sexdens sexdens*, os isolados E9 e AL de *M. anisopliae* apresentaram valores maiores de TL<sub>50</sub> (2,77 e 3,05 dias, respectivamente).

Para os soldados de *A. sexdens rubropilosa*, observou-se que não houve diferença significativa entre os TL<sub>50</sub>, que variaram de 1,37 a 3,57 dias. Contrariamente a esses resultados, SANTOS et al. (2007) observaram diferença significativa nos valores de TL<sub>50</sub> entre isolados de *B. bassiana* e *M. anisopliae* quando testados contra *A. sexdens rubropilosa*, e o isolado LPP2 de *B. bassiana* apresentou o menor valor de TL<sub>50</sub> (3,54 dias), o qual foi muito próximo ao maior valor desse parâmetro obtido para a mesma espécie de saúva no presente estudo. É interessante notar que o isolado ENA04 de *M. anisopliae*, embora tenha sido encontrado naturalmente infectando soldados de *A. sexdens rubropilosa*, apresentou grande virulência para *A. bisphaerica*, apesar de armazenado por 11 anos em água destilada.

Este estudo demonstrou que há diferença entre isolados de uma mesma espécie de fungo e entre espécies de fungos quanto à patogenicidade e virulência, que variam de acordo com a espécie de saúva, sendo possível selecionar um potencial agente de controle biológico dessa praga. Todavia, a eficiência desses fungos em teste de laboratório não necessariamente indica que são capazes de causar a morte da colônia em condições de campo. Em teste de

laboratório, o qual possibilita uma rápida seleção dos isolados, o uso de uma única casta de um inseto social pode introduzir um fator de estresse adicional, visto que estão adaptados a viver em sociedade de diferentes castas. Portanto, esse fator poderia causar grande mortalidade dos indivíduos em teste; porém, a porcentagem de mortalidade na testemunha alcançou, no máximo, 28% no período de 168h após a inoculação, quando todos os isolados causaram 100% de mortalidade dos soldados.

## CONCLUSÃO

Soldados de *A. bisphaerica* e *A. sexdens rubropilosa* são susceptíveis à ação patogênica dos fungos *M. anisopliae* e *B. bassiana*. Os isolados testados são igualmente virulentos para os soldados de *A. sexdens rubropilosa*, não sendo possível selecionar algum com maior potencial para o controle dessa espécie de formiga. O isolado ENA04 de *M. anisopliae* é o mais patogênico e virulento para *A. bisphaerica* e pode ser selecionado para o controle de soldados dessa espécie de saúva.

## AGRADECIMENTOS

À Dra. Janaina Ribeiro da Costa (Embrapa Agrobiologia), pela colaboração com a análise estatística, e ao DEnF (IB/UFRRJ), pela concessão dos isolados.

## REFERÊNCIAS

- ALVES, S.B. (ed.). **Controle microbiano de insetos**. Piracicaba: FEALQ, 1998. 1163p.
- ALVES, S.B.; SOSA-GÓMEZ, D.R. Virulência do *Metarhizium anisopliae* (Metsch.) Sorok. e *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuill. para castas de *Atta sexdens rubropilosa* (Forel, 1908). **Poliagro**, Bandeirantes, v.5, n.1, p.1-9, 1983.
- BOARETTO, M.A.C.; FORTI, L.C. Perspectivas no controle de formigas cortadeiras. **Série Técnica IPEF**, São Paulo, v.11, n.30, p.31-46, 1997.
- DEVIA, E.H.V. **Distribution and foraging by the leaf-cutting ant, *Atta cephalotes* L., in coffee plantations with different types of management and landscape contexts, and alternatives to insecticides for its control**. 2006. 145f. Tese (Doutorado em Entomologia) - University of Idaho, USA.
- DIEHL-FLEIG, E. et al. Testes de patogenicidade dos fungos entomopatogênicos *Beauveria bassiana* e *Metarhizium anisopliae* em *Atta sexdens piriventris* (Santschi, 1919) em diferentes temperaturas. **Ciência e Cultura**, Campinas, v.40, n.11, p.1103-1105, 1988.
- FUNGARO, M.H.P. et al. Diversity among soil and insect isolates of *Metarhizium anisopliae* var. *anisopliae* detected by RAPD. **Letters in Applied Microbiology**, Oxford, v.22, n.6, p.389-392, 1996. Disponível em: <<http://www3.interscience.wiley.com/cgi-bin/fulltext/119832956/PDFSTART>>. Acesso em: 28 mar. 2010. doi: 10.1111/j.1472-765X.1996.tb01186.x.
- JACCOUD, D.B. **Formigas cortadeiras: princípios de manejo integrado de áreas infestadas**. Brasília: IBAMA, 2000. 60p. (Série Meio Ambiente em debate, 34).
- 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**, Viçosa, v.29, n.4, p.553-561, 2005. Disponível em: <<http://www.scielo.br/pdf/rarv/v29n4/a07v29n4.pdf>>. Acesso em: 09 set. 2009.
- LOUREIRO, E.S.; MONTEIRO, A.C. Seleção de isolados de *Beauveria bassiana*, *Metarhizium anisopliae* e *Paecilomyces farinosus*, patogênicos para operárias de *Atta sexdens sexdens* (Linnaeus, 1758) (Hymenoptera: Formicidae). **Arquivos do Instituto Biológico**, São Paulo, v.71, n.1, p.35-40, 2004. Disponível em: <[http://www.biologico.sp.gov.br/docs/arq/V71\\_1/loureiro.pdf](http://www.biologico.sp.gov.br/docs/arq/V71_1/loureiro.pdf)>. Acesso em: 06 set. 2009.
- SANTOS, A.V. et al. 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**, Netherlands, v.163, n.4, p.223-240, 2007. Disponível em: <[www.springerlink.com/index/2HGM2Q51025822L6.pdf](http://www.springerlink.com/index/2HGM2Q51025822L6.pdf)>. Acesso em: 12 jun. 2009. doi: 10.1007/s11046-007-9009-8.
- SILVA, M.E.; DIEHL-FLEIG, E. Avaliação de diferentes linhagens de fungos entomopatogênicos para controle da formiga *Atta sexdens piriventris* (Santschi, 1919) (Hymenoptera: Formicidae). **Anais da Sociedade Entomológica do Brasil**, Londrina, v.17, n.2, p.263-269, 1988.