



UTILIZAÇÃO DE FUNGOS ANTAGONISTAS PARA CONTROLE BIOLÓGICO DE FORMIGAS ATTINIS: UMA REVISÃO

79

ISABELLE ZILLI¹

EVERALDO DOS SANTOS²

RESUMO

As formigas da tribo Attini (Hymenoptera: Formicidae) fazem parte de uma simbiose obrigatória com um fungo basidiomycota (Ordem Agaricales) – que cultivam como alimento – e são os herbívoros dominantes no Novo Mundo, causando altos danos às plantações agrícolas, fazendo com que a busca de agentes controladores seja grande. Este trabalho é uma revisão bibliográfica de estudos sobre controle biológico das formigas cortadeiras utilizando fungos e tem o objetivo de redirecionar e abrir caminhos para novas pesquisas na área. Os pesticidas de base química causam muito dano ao meio ambiente, logo, uma ótima alternativa é o controle biológico com o uso de fungos antagonistas às formigas e seu cultivar. Eles são conhecidos por causar dano significativo ao ninho mesmo com a presença das formigas, inibindo o crescimento do cultivar, assim, diminuindo a saúde da colônia. Estudos apresentam que eles crescem completamente sobre todo o jardim fúngico quando o ninho é inatendido pelas formigas. *Escovopsis* sp. e *Escovopsioides* sp. são antagonistas especializados, pois só atacam o fungo simbiote, outros fungos filamentosos antagonistas não especializados também podem ser trazidos para dentro da colônia e causar infecções. Foi observado que seria interessante o uso de mais de um microrganismo durante o controle biológico, para melhorar sua eficácia.

Palavras-chave: Formigas; fungos; controle; antagonismo; Attini.

¹ Aluna do Curso de Técnico em Meio Ambiente do Instituto Federal do Paraná – Campus Paranaguá.
e-mail: isa.zil.lii.1@gmail.com

² Doutor em Engenharia Florestal (UFPR). Docente do Instituto Federal do Paraná – Campus Paranaguá
e-mail: everaldo.santos@ifpr.edu.br

1.INTRODUÇÃO

Distribuídas somente nas Américas, as formigas da tribo Attini são herbívoros dominantes nos neotrópicos (Folgarait et al., 2011; Napal et al., 2015). Compõem aproximadamente 256 espécies em 15 gêneros (Currie et al., 1999, Sosa-Calvo et al.,



2013), todas são dependentes na fungicultura de fungos basidiomycotas, da ordem Agaricales (Rodrigues et al., 2005; Bass e Cherrett, 1995; Ronhede et al., 2003; Currie, 2001), como principal obtenção de alimento. Esse fungo é considerado ser de origem monofilética, evoluindo juntamente às formigas por 50 milhões de anos (Mueller et al., 2001). As formigas cortadeiras incluem dois gêneros, *Acromyrmex* e *Atta* (Schultz e Brady, 2008), sendo as únicas que usam material fresco retirado das plantas para cultivarem seu fungo (Currie 2001; Ostis e Rodrigues, 2018). Seus cultivares são compostos de espécies do gênero *Leucoagaricus* (Napal et al., 2015), que produzem dilatações de hifas, chamadas gongylidia, a partir do material vegetal deixado pelas formigas na câmara. As gongylidias contém uma mistura de carboidratos, aminoácidos, proteínas, lipídios e vitaminas, que servem de principal fonte de alimento para as larvas e para as formigas adultas, que também podem consumir seiva vegetal (Vigueiras et al., 2017; Bass e Cherrett, 1995).

É calculado que uma colônia madura de formigas cortadeiras consegue processar até 0,5 tonelada de material vegetal por ano (De Fine e Boomsma, 2010), por isso elas são consideradas pragas em sistemas agrícolas e florestas. A partir disso, é considerado o uso de pesticidas com base química que tem pouca especificidade, acabando por matar diversos outros insetos, alta toxicidade, efeitos adversos para o meio ambiente, como a contaminação de águas subterrâneas, e desenvolvem novas populações de insetos mais resistentes a esses produtos (Lopez e Orduz, 2003; Folgarait et al., 2011; Pimentel et al., 1993). Esses produtos não conseguem erradicar as formigas corretamente e afetam seus inimigos naturais, causando um desequilíbrio no ecossistema, além de nem chegarem à rainha, que precisa ser morta para que a colônia entre em colapso (Folgarait et al., 2011). Logo, a melhor alternativa são os métodos de controle biológico, já que inimigos naturais são particularmente úteis por terem evoluídos exatamente para predação das pestes (Folgarait et al., 2011), podendo tanto serem predadores específicos das formigas ou de seu fungo simbiote.

O jardim de fungo tem um pH aproximado de nível cinco, o que gera condições favoráveis para a proliferação de microrganismos oportunistas (Seipke et al., 2011).



Assim, as formigas desenvolveram mecanismos para defender seu fungo, como comportamentos higiênicos e gestão de resíduos contaminados do jardim (Currie et al., 1999), e possuem uma relação simbiótica com a bactéria do gênero *Pseudonocardia* (Currie et al., 1999), que produz antibióticos que suprimem o crescimento do fungo parasita de gênero *Escovopsis* e *Escovopsioides*. Esses gêneros de fungos, vivem naturalmente nos jardins de diversas espécies da tribo *Attini* (Currie et al., 1999), eles provavelmente coevoluíram com a simbiose da formiga *Attini* e de seu fungo, já que só são encontrados em seus ninhos (Currie et al., 2003), além de diversas outras espécies de leveduras, bactérias, fungos anamórficos e fungos filamentosos, muitos sendo patógenos ao *Leucoagaricus* sp. (Little e Currie, 2007; Rodrigues et al., 2005; Currie et al., 1999, Marfetan et al., 2014; Pagnocca et al., 2011). Estes patógenos citados não chegam a acabar completamente com uma colônia saudável, mas conseguem causar infecções persistentes que reduzem significativamente o crescimento dos jardins de *Leucoagaricus* sp. (Currie et al., 1999; Currie, 2001), sendo muito interessante utilizá-los como controle biológico.

Esse trabalho busca mostrar diversos estudos procedidos sobre o antagonismo entre diversas espécies de fungos e *Leucoagaricus* sp., a fim de visualizar possíveis direcionamentos para uma futura pesquisa laboratorial para o controle biológico de *Attinis*, para encontrar uma solução que substitua os pesticidas à base química.

2. ESCOVOPSIS SP.: O PATÓGENO ESPECIALISTA DAS FORMIGAS CORTADEIRAS

Existe mais um organismo na simbiose formiga cortadeira-microrganismos, um fungo anamórfico (*Escovopsis* – Ascomycota) parasita do fungo cultivado pelas formigas (*Leucoagaricus* – Basidiomycota) (Folgarait et al. 2011), que foi estudado pela primeira vez por Möller (1893). Este fungo até agora foi somente encontrado em jardins fúngicos de *Attinis* e se conhece apenas sete espécies no gênero. Segundo um estudo feito por Currie (2001), o fungo tem maior ocorrência em ninhos de *Acromyrmex* do que de *Atta*, com pelo menos 70% e 48% de infecção, respectivamente, também



ocorrendo menos em ninhos mais velhos, com 45% de ocorrência em ninhos de até dois anos de idade e 20% em ninho de até cinco anos de idade.

Sabe-se que *Escovopsis* sp. diminui o crescimento de *Leucoagaricus* sp. em sete semanas, mesmo com a presença das formigas no ninho, também diminuindo o aumento da população da colônia (Currie, 2001). Em estudos *in vitro*, *Escovopsis* sp. teve um efeito negativo sobre *Leucoagaricus* sp. em apenas uma semana, porém foi percebido que diferentes estirpes do fungo — coletados de diferentes espécies — tiveram seus resultados levemente diferentes (Folgarait et al. 2011). Rodrigues et al. (2005) observaram que *Escovopsis* sp. cobriu completamente os jardins de *Leucoagaricus* sp. em dois dias, sem a presença das formigas no ninho. Reynolds e Currie (2004) reportaram que o mecanismo de patogenicidade de *Escovopsis* sp. é inibir e consumir o cultivar das formigas por meio de uma interação necrotófica, na qual ele produz uma substância que destrói a hifa do hospedeiro e então, o parasita se alimenta dos restos dessa degradação.

Para aplicações em campo, deve-se pensar em como as formigas tentarão inibir o fungo e como seria possível ter um resultado rápido e com êxito na infecção total do ninho. As formigas cortadeiras fazem parte de uma interação simbiótica com a bactéria do gênero *Pseudonocardia* sp., presente no exoesqueleto das formigas, que antagonizam fungos alienígenas. Além do hábito de limpeza das formigas, no qual as trabalhadoras fisicamente removem esporos de fungos, guardando-os em suas cavidades infrabucais — onde a bactéria simbiótica fica — e “capinam” partes contaminadas do jardim (Pagnocca e Rodrigues, 2011). Também deve ser considerado que *Escovopsis* sp. tem baixa viabilidade de esporos, cerca de 3% (Rodrigues et al. 2008), o que não ajuda na alta contaminação do ninho.

2.1. OUTROS POTENCIAIS FUNGOS PARASITAS CONTRA O NINHO

A teoria evolutiva prediz que organismos com diversidade genética restrita são suscetíveis à exploração por parasitas (Hamilton et al. 1989). Esse é o caso das formigas da tribo Attini, que cultivam uma única estirpe do fungo mutualístico e também porque



o jardim de fungo é um lugar ideal para crescimento de fungos que outras espécies queiram se importunar dele (Pagnocca e Rodrigues, 2011). Möller (1893) foi o primeiro a registrar a existência de fungos filamentosos em jardins de *Attinis*, onde, além de *Escovopsis* sp., também foram encontrados *Aspergillus* sp., *Mucor* sp., *Penicillium* sp. e *Rhizopus* sp., e observado que eles também cresciam sobre *Leucoagaricus* sp. quando o jardim era deixado inatendido pelas formigas.

Lopez e Orduz (2003) testaram o uso de *Trichoderma* sp. — fungo também encontrado nos jardins de *Attinis* — com *Metarhizium* sp. — fungo que infecta insetos. *Trichoderma* sp. é usado para atacar microrganismos que causam doenças em plantas, mas também antagonizam *Leucoagaricus* sp. No estudo com um ninho em laboratório, *Metarhizium* sp. causou confusão nas tarefas realizadas pelas formigas, além de mortes e imobilizações em alguns insetos. *Trichoderma* sp. cobriu o jardim com seu micélio, além de mudar a cor do fungo simbionte, de cinza claro para marrom. O ninho morreu em aproximadamente cinco semanas. O estudo também foi realizado em campo, onde levou até 36 semanas para mortalidade total do ninho. Em um estudo *in vitro* conduzido por Castrillo et al. (2016), *Trichoderma* sp. cresceu totalmente sobre *Leucoagaricus* sp.

Folgarait et al. (2011) testaram *Lecanicillium lecani*, *in vitro*, contra *Leucoagaricus* sp., sendo observado que teve efeito negativo e ocupou 50% da área do fungo simbionte. *L. Lecani* também competiu com *Escovopsis* sp., mostrando que pode ser ruim usá-los juntos, mas talvez a presença de um entomopatógeno pode reduzir a habilidade das formigas de removerem *Escovopsis* sp.. Hughes e Boomsma (2010) mostraram que *Aspergillus flavus* se tornou mais virulento quando usado com *M. Anisopliae*, sendo uma boa ideia o uso de dois microrganismos juntos para o controle biológico.

Currie et al. (1999) apontaram que *Escovopsis* sp. oprime o crescimento de outros fungos alienígenas nos jardins, e quando ninhos estão totalmente livres dele, outros fungos tomam conta do jardim em aproximadamente duas semanas, se os ninhos forem deixados sem a supervisão das formigas.



Ostis e Rodrigues (2018) fizeram testes contra *Leucoagaricus* sp. usando *Escovopsioides* sp., um gênero que é filogeneticamente próximo de *Escovopsis* sp. — diferindo em algumas características morfológicas —, que só tem uma espécie registrada (*E. Nivea*). Esse fungo é encontrado principalmente em jardins de *Acromyrmex* e também é um antagonista do fungo simbiote. Em testes *in vitro*, o fungo inibiu significativamente o crescimento de *Leucoagaricus* sp. em dez dias. Em testes do fungo sobre pedaços de jardim sem a presença de formigas, o fungo também cresceu sobre o jardim, após dez dias.

3. CONCLUSÃO

Com a pesquisa realizada, pode-se observar que fungos filamentosos são antagonistas não especialistas contra a relação *Attinis* – fungo simbiote – e fungos especialistas, como *Escovopsis* sp. e *Escovopsioides* sp., causam grande dano aos ninhos quando não estão sendo cuidados pelas formigas e também controlam o crescimento de *Leucoagaricus* sp. mesmo com a presença delas. Os resultados dessas pesquisas podem abrir novos caminhos para o uso de mais de um microrganismo durante o controle biológico das formigas cortadeiras.

4. REFERÊNCIAS

- P. FOLGARAIT, N. GOROSITO, M. POULSEN, and C. R. CURRIE. Preliminary *in vitro* insights into the use of natural fungal pathogens of leaf-cutting ants as biocontrol agents. *Current Microbiology*, vol. 63, no. 3, pp. 250–258, 2011.
- N D. NAPAL, et al. Screening of native plants from central Argentina against the leaf-cutting ant *Acromyrmex lundi* (Guérin) and its symbiotic fungus. 2015.
- C. R. CURRIE, U. G. MUELLER, and D. MALLOCH. The agricultural pathology of ant fungus gardens. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, vol. 96, no. 14, pp. 7998–8002, 1999.
- J. SOSA-CALVO, T. R. SCHULTZ, C. R. F. BRANDÃO, C. KLINGENBERG, R. M. FEITOSA, C. RABELING, M. BACCI JR., C.T. LOPES, H. L. VASCONCELOS.



Cyatta abscondita: Taxonomy, Evolution, and Natural History of a New Fungus-Farming Ant Genus from Brazil. PLOS One, 2013.

A. RODRIGUES, F. C. PAGNOCCA, M. BACCI, M. J. A. HEBLING, O. C. BUENO, and L. H. PFENNING. Variability of non-mutualistic filamentous fungi associated with *Atta sexdens rubropilosa* nests. Folia Microbiologica, vol. 50, no. 5, pp. 421–425, 2005.

A. RODRIGUES, F.C. PAGNOCCA, O.C. BUENO, L.H. PFENNING and M. BACCI JR. Assessment of Microfungi in Fungus Gardens Free of the Leaf-Cutting Ant *Atta sexdens rubropilosa* (Hymenoptera: Formicidae). Sociobiology, vol 46, no. 2, 2005.

M. BASS and J. M. CHERRETT. Fungal hyphae as a source of nutrients for the leaf-cutting ant *Atta sexdens*. Physiological Entomology, vol. 20, no. 1, pp. 1–6, 1995.

S. RONHEDE, J. J. BOOMSMA and S. ROSENDAHL. Fungal enzymes transferred by leaf-cutting ants in their fungus gardens. The British Mycological Society, 2003.

C. R. CURRIE. Prevalence and impact of a virulent parasite on a tripartite mutualism. Oecologia, vol. 128, no. 1, pp. 99–106, 2001.

C. R. CURRIE. A community of ants, fungi, and bacteria: A Multilateral Approach to Studying Symbiosis. 2001.

U. G. MUELLER, T. R. SCHULTZ, C. R. CURRIE, R. M. M. ADAMS, D.

MALLOCH. The origin of the Attine ant-fungus mutualism. The Quarterly review of Biology, 2001.

T. R. SCHULTZ and S. G. BRADY. Major evolutionary transitions in ant agriculture. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, vol. 105, no. 14, pp. 5435–5440, 2008.

J. F. OSTIS AND A. RODRIGUES. *Escovopsioides* as a fungal antagonist of the fungus cultivated by leafcutter ants. BMC Microbiology, 2018.

G. VIGUERAS, D. PAREDES-HERNÁNDEZ, S. REVAH, J. VALENZUELA, R. OLIVARES-HERNÁNDEZ and S. LE BORGNE. Growth and enzymatic activity of *Leucoagaricus gongylophorus*, a mutualistic fungus isolated from the leaf-cutting ant *Atta mexicana*, on cellulose and lignocellulosic biomass. Applied Microbiology, 2017.



- H. DE FINE L. AND J. J. BOOMSMA. Forage collection, substrate preparation, and diet composition in fungus-growing ants. *Ecological Entomology*, 2010.
- E. LOPEZ AND S. ORDUZ. *Metarhizium anisopliae* and *Trichoderma viride* for control of nests of the fungus-growing ant, *Atta cephalotes*. *Biological Control*, vol. 27, no. 2, pp. 194–200, 2003.
- D. PIMENTEL, L. MC LAUGHLIN, A. ZEPP, B. LAKITAN, T. KRAUS, P. KLEINMAN, F. VANCINI, W. J. ROACH, E. GRAAP, W. S. KEETON, G. SELIG. Environmental and economic effects of reducing pesticide use. *Bioscience* 41:402–409, 1991.
- R. F. SEIPKE, L. CROSSMAN, N. DROU, D. HEAVENS, M. J. BIBB, M. CACCAMO, and M. I. HUTCHINGS. Draft Genome Sequence of *Streptomyces* Strain S4, a Symbiont of the Leaf-Cutting Ant *Acromyrmex octospinosus*. *Journal of Bacteriology*, 2011.
- C. R. CURRIE, B. WONG, A. E. STUART ET AL.. Ancient tripartite coevolution in the attine ant-microbe symbiosis. *Science*, vol. 299, no. 5605, pp. 386–388, 2003.
- A. E. LITTLE and C. R. CURRIE. Symbiotic complexity: discovery of a fifth symbiont in the attine ant-microbe symbiosis. *Biology Letters*, vol. 3, no. 5, pp. 501–504, 2007.
- J. A. MARFETÁN, A. I. ROMERO, P. J. FOLGARAIT. Pathogenic interaction between *Escovopsis weberi* and *Leucoagaricus* sp.: mechanisms involved and virulence levels. *Fungal Ecology*, 2014.
- F. C. PAGNOCCA, V. E. MASIULIONIS and A. RODRIGUES. Specialized Fungal Parasites and Opportunistic Fungi in Gardens of Attine Ants. *Psyche*, 2011.
- H. T. REYNOLDS and C.R. CURRIE. Pathogenicity of *Escovopsis weberi*: The parasite of the attine ant-microbe symbiosis directly consumes the ant-cultivated fungus. *Mycologia*, 2004.
- W. D. HAMILTON, R AXELROD and R. TANESE. Sexual reproduction as an adaptation to resist parasites (A Review). *Evolution*, 1989.



M. L. CASTRILLO, G. A. BICH, P. D. ZAPATA and L.L. VILLALBA. Biocontrol of *Leucoagaricus gongylophorus* of leaf-cutting ants with the mycoparasitic agent *Trichoderma koningiopsis*. *Mycosphere*, 2016.