

Foto: Alex Wild.



## Metodologia para coleta e manutenção de colônias de *Linepithema micans* (Forel) (Hymenoptera: Formicidae) em laboratório

Aline Nondillo<sup>1</sup>  
Odair Correa Bueno<sup>2</sup>  
Marcos Botton<sup>3</sup>

### Introdução

O gênero *Linepithema* Mayr (Hymenoptera: Formicidae) pertence à subfamília Dolichoderinae e é nativo da Região Neotropical (BOLTON et al., 2006). Informações sobre a bioecologia da maioria das espécies do gênero são escassas, exceto sobre *Linepithema humile* (Mayr). De maneira geral, estas formigas nidificam superficialmente no solo, em montes de folha, madeira podre ou embaixo de pedras, onde vivem em colônias. *L. humile*, por exemplo, pode formar “supercolônias”, as quais se estendem por grandes distâncias e podem habitar um único ninho (monodômico) ou utilizar vários locais para nidificação (polidômicas) (WILD, 2007).

As espécies do gênero *Linepithema* apresentam comportamento de forrageamento comum às demais formigas dolichoderíneas, incluindo trilhas de feromônio para recrutamento de operárias da colônia ao encontrarem uma fonte alimentar, além da forte afinidade por “honeydew” e outras fontes de carboidrato (WILD, 2009). As operárias são estéreis e formam uma casta monomórfica, o que dificulta a identificação das espécies (CUEZZO, 2003; WILD, 2004; WILD, 2009).

O gênero *Linepithema* é reconhecido pelos problemas causados pela formiga argentina *L. humile*, a qual possui comportamento invasor e foi dispersada

<sup>1</sup>Bióloga, Doutoranda em Zoologia do Programa de Pós-Graduação em Ciências Biológicas (Zoologia), do Instituto de Biociências, UNESP, CEP 13506-900. Rio Claro, SP.

E-mail: alinondillo@yahoo.com.br

<sup>2</sup>Biólogo, Dr., Professor do Departamento de Biologia e Pesquisador do Centro de Estudos de Insetos Sociais do Instituto de Biociências, UNESP, CEP 13506-900. Rio Claro, SP.

E-mail: odaircb@rc.unesp.br

<sup>3</sup>Eng. Agrôn., Dr., Pesquisador da Embrapa Uva e Vinho, Caixa Postal 130, CEP 95700-000. Bento Gonçalves, RS.

E-mail: marcos.botton@embrapa.br

mundialmente (NEWEL; BARBER, 1913; SMITH, 1965; DIEHL-FLEIG; DIEHL, 2007). Devido à importância da formiga argentina como invasora e à grande similaridade entre as operárias das diferentes espécies, todas as demais formigas do gênero eram identificadas como sendo *L. humile* (SORIA et al., 1997; SILVA; LOECK, 1999; WILD, 2007) antes da revisão proposta por Wild (2007). Essa revisão menciona dezenove espécies pertencentes ao gênero *Linepithema*, sendo que dez delas são classificadas como novas. No sul do Brasil encontram-se registradas as seguintes espécies: *L. humile*, *Linepithema micans* (Forel) e *Linepithema gallardoi* (BRETHES, 1914).

Em 2009, *L. micans* foi identificada em áreas infestadas pela pérola-da-terra, *Eurhizococcus brasiliensis* (Wille) (Hemiptera: Margarodidae), localizadas em Bento Gonçalves, RS (MARTINS; BUENO, 2009; SACCHETT et al., 2009). Na sequência, um inventário, conduzido em cinquenta e cinco parrerais infestados pela pérola-da-terra em onze cidades do Rio Grande do Sul, realizado para identificar as espécies de formigas, apontou a espécie, *L. micans* como a mais frequente e abundante. Até o momento, apenas *L. humile* era considerada a principal dispersora da cochonilha nos parreirais (GALLOTTI, 1976; SORIA; GALLOTTI, 1986; HICKEL, 1994). No entanto, devido à

frequência e abundância com que *L. micans* foi encontrada nos vinhedos infestados pela cochonilha e devido à similaridade entre as espécies, é fundamental investigar a bioecologia de *L. micans* com o objetivo de conduzir estudos de interação e manejo.

*L. micans*, assim como as demais espécies de formigas, são insetos holometábolos, isto é, que passam pelos estágios de ovo, larva, pupa e adulto (Figura 1). A geração de novos indivíduos é responsabilidade das rainhas, que podem dar origem a três tipos de descendentes (Figura 1): fêmeas não reprodutivas (operárias), fêmeas reprodutivas (rainhas) e machos reprodutivos (GOMEZ; ESPADALER, 2005).

As operárias são fêmeas estéreis sem asas (ápteras) e são responsáveis por todas as tarefas da colônia, exceto pela reprodução. A rainha, por sua vez, é o maior indivíduo da colônia, uma vez que é responsável pela deposição dos ovos. As colônias possuem mais de uma rainha em cada ninho, ou seja, são poligínicas. Os machos, que são alados e bem menores que as rainhas, têm por função primordial inseminá-las. Após o vôo nupcial, eles não são mais aceitos pelas colônias de origem, o que ocasiona sua morte logo após a cópula (BORROR; DELONG, 1988; HÖLLDOBLER; WILSON, 1990; GOMEZ; ESPADALER, 2005).

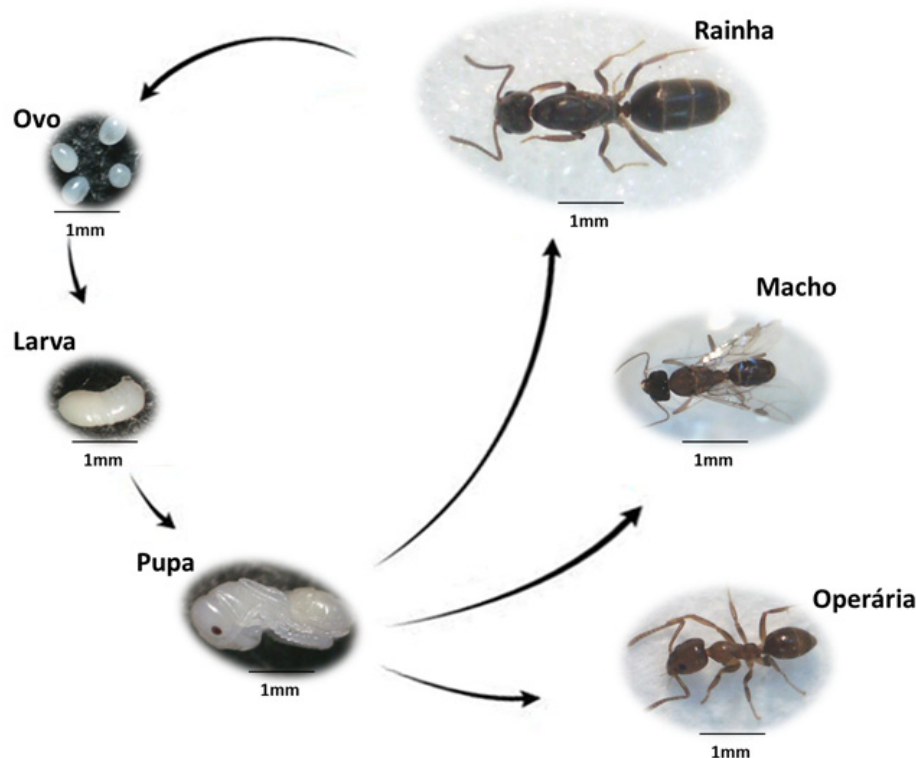


Fig. 1. Ciclo biológico de *Linepithema micans*.

Devido à importância da associação entre a pérola-da-terra e a *L. micans* nos parreirais infestados, este Comunicado Técnico tem como objetivo apresentar uma metodologia para a coleta e manutenção de colônias da espécie em laboratório, permitindo, deste modo, a realização de estudos de bioecologia e controle.

### Coleta de ninhos de *Linepithema micans*

Os ninhos de *L. micans* geralmente são encontrados em regiões superficiais do solo, próximos ao sistema radicular da videira, em áreas infestadas com a pérola-da-terra. O formigueiro, juntamente com o solo (Figura 2A), deve ser retirado com o auxílio de uma pá (Figura 2B) e acondicionado em sacos plásticos (Figuras 2C e 2D). Pode-se colocar mais de um formigueiro em um mesmo saco plástico desde que tenham sido coletados no mesmo parreiral. Os sacos que contêm os ninhos devem ser fechados para evitar a fuga das formigas e transportados imediatamente ao laboratório após a coleta.

Segundo Markin (1968), o material do ninho coletado seca rapidamente ao ser espalhado em bandejas, induzindo as operárias a carregar suas crias para um local úmido e escuro, o que estabiliza temporariamente suas colônias. Com base nesta técnica, desenvolvida em laboratório sob temperatura ambiente, os ninhos, junto com o solo, devem ser transferidos para bandejas plásticas (Figura 3) com medidas de 55 cm de comprimento, 34 cm de largura e 9,5 cm de altura. Para evitar a fuga das formigas, as bandejas devem ter suas bordas recobertas por Teflon-30 (Dupont®), o qual deve ser embebido num pedaço de algodão e aplicado nas bordas da bandeja em única camada. Quando ela estiver seca, deve-se prosseguir com a aplicação do talco, utilizando um pedaço de algodão e batendo-o suavemente sobre o Teflon-30 (Dupont®).

Em cada bandeja são colocados dois azulejos justapostos pela face abrasiva (10 cm x 10 cm) e que possuem entre si palitos de madeira (3 mm de



Fig. 2. (A) Ninho de *Linepithema micans*. (B) Retirada do ninho de *Linepithema micans* e do solo com o auxílio de uma pá. (C) Deposição do ninho em saco plástico para o transporte. (D) Ninho acondicionado em saco plástico fechado. As setas indicam as crias (ovos, larvas e pupas).



Foto: Aline Nondillo.

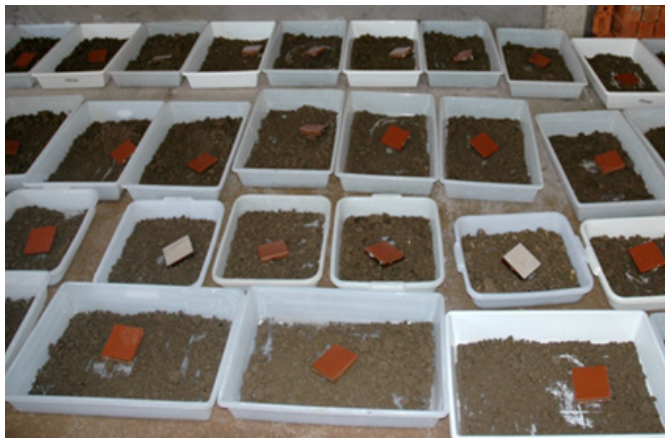


Fig. 3. Bandejas plásticas contendo solo com ninhos de *Linepithema micans* e conjunto de azulejo.

espessura). Os palitos devem ser colocados de maneira que haja uma distância entre suas pontas, garantindo, assim, o espaçamento necessário para a entrada das formigas. Entre os azulejos, também deve ser colocado algodão umedecido com água e uma solução açucarada (25%) com o objetivo de estimular a colonização do interior do conjunto pelas formigas (Figuras 4A e 4B).

À medida que ocorre a perda de umidade do solo, as formigas migram para o interior do conjunto de azulejos (Figura 4B). Uma vez coletada, a colônia é restabelecida e pode ser mantida por um período de no mínimo um ano em laboratório.

Após o estabelecimento das formigas no interior do conjunto de azulejos, elas podem ser transferidas para arenas de criação, as quais serão mantidas em

laboratório, ou para “Gaiolas de Gallotti” (GALLOTTI, 1976), para trabalhos de interação entre diferentes organismos. Ao realizar essa transferência, é fundamental a presença de rainhas, operárias e crias na colônia (Figura 5).

### Manutenção dos ninhos em laboratório

As colônias capturadas nos azulejos podem ser mantidas no laboratório, em arenas de criação, na temperatura de  $25^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$  e umidade de  $60\% \pm 10\%$ . A arena de criação consiste em uma área de forrageamento e em um recipiente para o alojamento da colônia (Figura 6A).

Para compor a área de forrageamento é utilizada uma bandeja plástica (41 cm de comprimento, 36 cm de largura e 7 cm de altura) com as bordas recobertas por Teflon-30 (Dupont®) acrescida de talco (Figura 6A). O talco deve ser reaplicado sobre a camada de Teflon uma vez por semana.

O recipiente utilizado para o alojamento das formigas é um tubo de ensaio (20 cm de comprimento e 2,2 cm de diâmetro), cuja extremidade fechada deve ser preenchida com algodão embebido em água para a manutenção da umidade do ninho. O tubo deve ser revestido com papel celofane vermelho para diminuir a intensidade luminosa e, ao mesmo tempo, para permitir que as atividades das formigas em seu interior possam ser observadas (Figura 6B).

A alimentação das formigas, que ocorre na arena de forrageamento, deve ser realizada com fontes de carboidratos, proteínas e lipídios, ofertadas

Figura: Daniel Clos Cesar.



Fig. 4. (A) Bandeja plástica com solo coletado contendo ninhos de *Linepithema micans* e conjunto de azulejo. (B) Azulejo contendo palitos e algodão umedecido com a colônia de *Linepithema micans*. As setas indicam o local para passagem das formigas.

Foto: Aline Nondillo.



três vezes por semana. Como fonte de carboidrato, utiliza-se o açúcar invertido diluído em água a 25%; como proteína e lipídios, deve-se alternar o fornecimento de larvas de *Tenebrio molitor* (Linnaeus, 1758) (Coleoptera: Tenebrionidae), *Zophobas* sp. (Coleoptera: Tenebrionidae) e adultos de *Gryllus* sp. (Orthoptera: Gryllidae) (BAKER et al., 1985; SOLIS et al., 2008). Estes insetos devem ser cortados em pedaços, facilitando, assim, a alimentação das formigas, e oferecidos sobre um pedaço de papel alumínio (3 cm de comprimento e 3 cm de largura), conforme mostra a Figura 6D. Os insetos utilizados na alimentação podem ser adquiridos em diferentes empresas, como, por exemplo, a Répteis Brasil\*. Como forma de alimentação, pode-se utilizar, também, dietas artificiais, como, por exemplo, a descrita por Keller et al. (1989), que se mostrou bastante atrativa para *L. micans*. Essa dieta, que é de fácil preparo e

Fig. 5. Operárias e rainha (seta) de *Linepithema micans*.

Foto: Aline Nondillo.

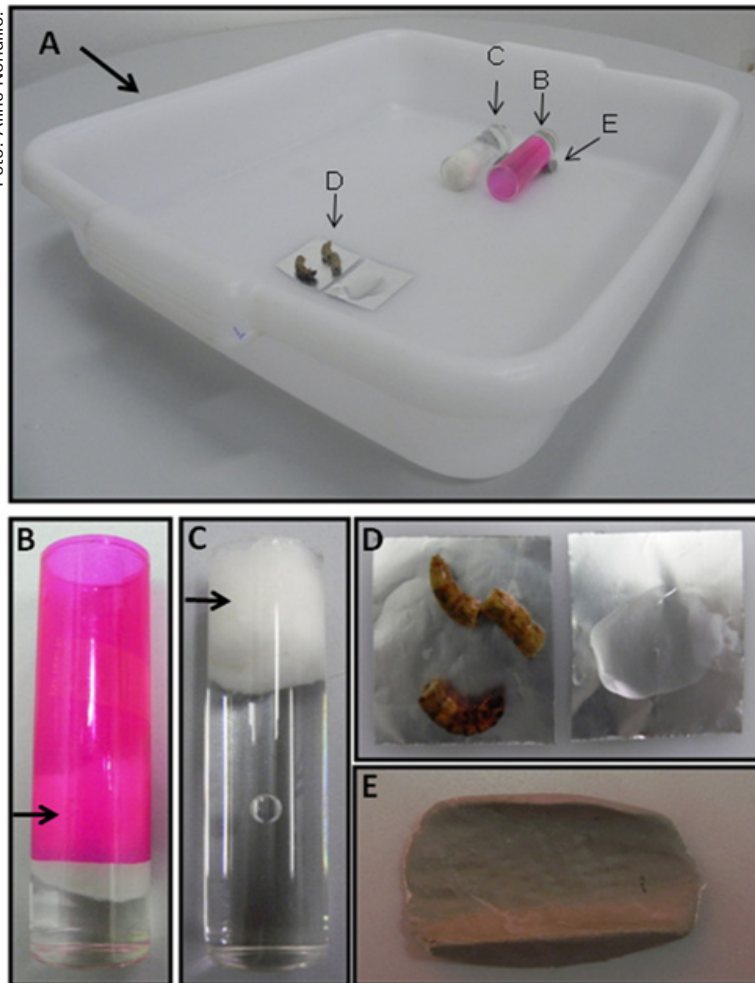


Fig. 6. (A) Ninho artificial utilizado para manutenção de colônias de *Linepithema micans* em laboratório. A seta indica a área de forrageamento. (B) Tubo de ensaio utilizado como recipiente para alojamento da colônia. Seta indica o algodão embebido em água. (C) Tubo de ensaio contendo água. (D) Fontes alimentares: larvas de *Zophobas* sp. e açúcar invertido a 25%. (E) Suporte de massa Durepoxi® para prender os tubos.

\*www.repteisbrasil.com

não se disseca ou se deteriora rapidamente, é feita a base de ágar, larvas de *T. molitor* e outras fontes proteicas.

O suprimento de água deve ser fornecido *ad libitum* por meio de um tubo de ensaio com um tufo de algodão em sua extremidade livre (Figura 6C). Outra sugestão é o emprego de suportes com massa para moldar (como, por exemplo, o Durepoxi®) com o objetivo de prender os tubos para evitar que rolem sobre as formigas que estão forrageando (Figura 6E).

Para a transferência das formigas, os azulejos contendo as colônias devem ser colocados no interior da arena de criação e, em seguida, abertos, permitindo que elas transportem suas crias para o interior do tubo (Figura 7). É fundamental que se faça periodicamente um controle visual destes tubos para que não haja infestação por ácaros ou o secamento do algodão, que ocasiona a diminuição da umidade da colônia. Quando isso acontecer, é necessário que os tubos sejam substituídos.

As colônias de *L. micans*, assim estabelecidas, podem ser mantidas em estandes (Figura 8) no laboratório, otimizando, assim, o seu espaço.

A metodologia de criação e manutenção de *L. micans* descrita neste comunicado mostra-se eficaz para a coleta, multiplicação e manutenção

das colônias em laboratório, o que se torna fundamental para a realização de estudos de biologia e avaliação de agentes de controle.

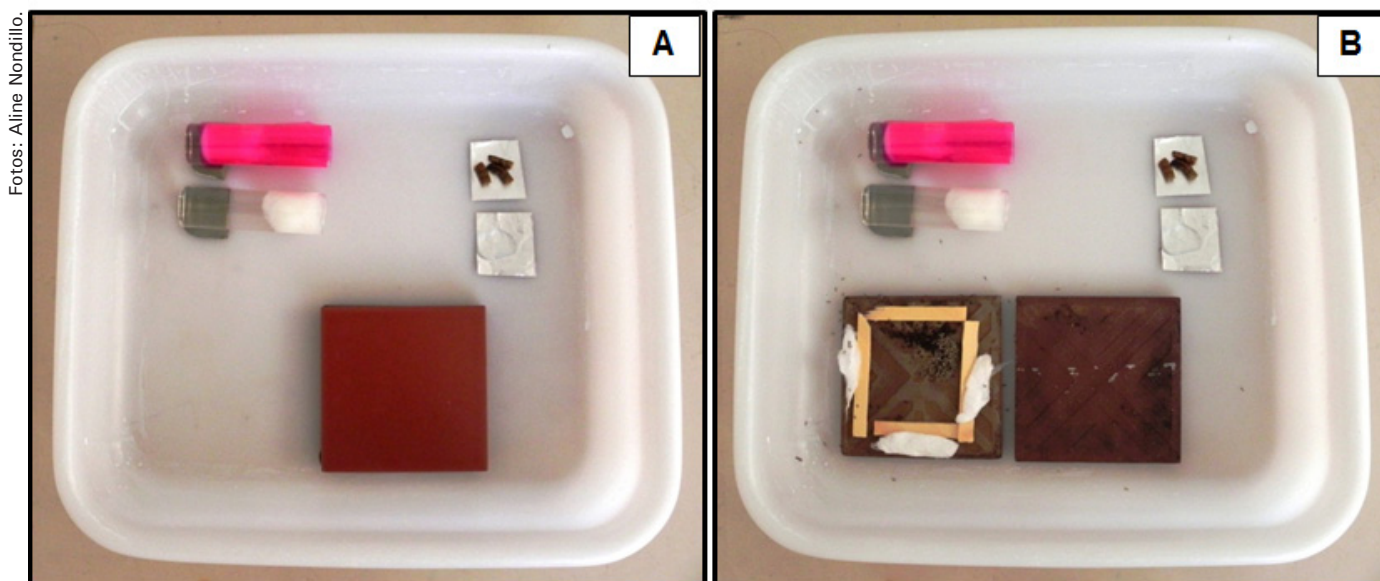
## Agradecimentos

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), pelo suporte financeiro e pela concessão de bolsas aos autores, e à FAPERGS (Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado do Rio Grande do Sul). Ao Dr. Alex Wild pela foto cedida, para ilustrar esta publicação.



Foto: Aline Nondillo.

Fig. 8. Ninhos artificiais mantidos em estante no laboratório.



Fotos: Aline Nondillo.

Fig. 7. Arena de criação: (A) com azulejo contendo em seu interior um ninho de *Linepithema micans*. (B) com azulejo aberto para permitir que as formigas carreguem as crias para o interior do tubo.



## Referências Bibliográficas

- BAKER, T. C.; VAN VORHIS KEY, S. E.; GASTON, L. K. Bait-preference tests for the Argentine ant (Hymenoptera: Formicidae). **Journal of Economic Entomology**, v. 78, p. 1083-1088, 1985.
- BOLTON, B.; ALPERT, G.; WARD, P. S.; NASKRECKI, P. **Bolton's catalogue of ants of the world: 1758-2005**. Cambridge: Harvard University, 2006. 1 CD-ROM.
- BORROR, D. J.; DELONG, D. M. **Introdução ao estudo dos insetos**. São Paulo: Edgard Blücher, 1988. 653 p.
- CUEZZO, F. Subfamilia Dolichoderinae. In: FERNANDÉZ, F. (Ed.). **Introducción a las hormigas de la región neotropical**. Bogotá: Instituto de Investigación de Recursos Biológicos Alexander Von Humbolt, 2003. p. 291-297.
- DIEHL-FLEIG, E.; DIEHL, E. Organização social e status de praga da formiga argentina *Linepithema humile* (Mayr 1868) no Rio Grande do Sul. **O Biológico**, v. 69, p. 31-34, 2007.
- GALLOTTI, B. J. **Contribuição para o estudo da biologia e para o controle químico do *Eurhizococcus brasiliensis* (Hempel, 1922)**. 1976. 63 f. Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal do Paraná, Curitiba.
- GÓMEZ, K.; ESPADALER, X. **La hormiga argentina (*Linepithema humile*) en las Islas Baleares: documentos técnicos de conservación**. [S.l.]: Consellería de Medi Ambient, Govern de les Illes Balears, 2005. 68 p.
- HICKEL, E. R. Reconhecimento, coleta, transporte e depósito de ninfas da pérola-da-terra, *Eurhizococcus brasiliensis* (Hempel), pela formiga argentina *Linepithema humile* (Mayr). **Anais da Sociedade Entomológica do Brasil**, Jaboticabal, v. 23, p. 285-290, 1994.
- HÖLLDOBLER, B.; WILSON, E. O. **The ants**. Cambridge, Massachusetts: Harvard University, The Belknap Press, 1990. 733 p.
- KELLER, L.; CHERIX, D.; ULLOA-CHACÓN, P. Description of a new artificial diet for rearing ant colonies as *Iridomyrmex humilis*, *Monomorium pharaonis* and *Wasmannia auropunctata* (Hymenoptera, Formicidae). **Insectes Sociaux**, v. 36, n. 4, p. 348-352, 1989.
- MARTINS, C.; BUENO, O. C. Ocorrência de três haplótipos de *Linepithema micans* (Formicidae: Dolichoderinae) no Rio Grande do Sul e seu provável status de praga. In: SIMPÓSIO DE MIRMECOLOGIA, 19.; SIMPÓSIO FRANCO-BRASILEIRO DE MIRMECOLOGIA, 1., 2009, Ouro Preto. **Anais...** Ouro Preto: [s.n.], 2009. v. 1.
- MARKIN, G. P. Handling techniques for large quantities of ants. **Journal of Economic Entomology**, v. 61, n. 6, p. 1744-1745, 1968.
- NEWEL, W.; BARBER, T. C. **The Argentine ant**. Washington, DC: U.S. Department of Agriculture, Bureau of Entomology, 1913. (Bulletin, 122).
- SACCHETT, F.; BOTTON, M.; DIEHL, E. Ants species associated with the dispersal of *Eurhizococcus brasiliensis* (Hempel in Wille) (Hemiptera: Margarodidae) in vineyards of the Serra Gaucha, Rio Grande do Sul, Brazil. **Sociobiology**, v. 54, n. 3, p. 943-954, 2009.
- SILVA, E. J. E.; LOECK, A. E. Ocorrência de formigas domiciliares (Hymenoptera, Formicidae) em Pelotas, RS. **Revista Brasileira de Agrociência**, Pelotas, v. 5, p. 220-224, 1999.
- SMITH, M. R. **House infesting ants of the eastern United States: their recognition, biology and economic importance**. Washington, DC: United States Department of Agriculture, 1965. 105 p. (USDA. Technical Bulletin, 1326).
- SOLIS, D. R.; BUENO, O. C.; MORETTI, T. C. Desenvolvimento de metodologia de coleta e manutenção em laboratório da formiga invasora *Paratrechina longicornis latreille* (Hymenoptera: Formicidae). **Arquivos do Instituto Biológico**, v. 75, n. 2, p. 211-216, 2008.
- SORIA, S. de J.; CAMARGO, U. A.; FRÁGUAS, J. C.; HOCHMULLER, D. P.; BRAGHINI, L. C. Resultados de 12 anos de pesquisa no controle da pérola-da-terra no Sul do Brasil. In REUNIÃO SUL-BRASILEIRA SOBRE PRAGAS-DO-SOLO, 6., 1997, Santa Maria. **Anais...** Santa Maria: UFSM, 1997. p. 50-59.

SORIA, S. J. V.; GALLOTTI, B. J. **O margarodes da videira *Eurhizococcus brasiliensis* (Homoptera: Margarodidae):** biologia, ecologia e controle no sul do Brasil. Bento Gonçalves: EMBRAPA/CNPUV, 1986. 22 p.

WILD, A. L. Taxonomy and distribution of the Argentine ant, *Linepithema humile* (Hymenoptera: Formicidae). **Annals of the Entomological Society**

**of America**, v. 97, p. 1204-1215, 2004.

WILD, A. L. **Taxonomic revision of the ant genus *Linepithema* (Hymenoptera: Formicidae).** Los Angeles: University of California, 2007. 151 p.

WILD, A. L. Evolution of the neotropical ant genus *Linepithema*. **Systematic Entomology**, v. 34, p. 49-62, 2009.

### Comunicado Técnico, 118

Exemplares desta edição podem ser adquiridos na:  
**Embrapa Uva e Vinho**  
 Rua Livramento, 515 - Caixa Postal 130  
 95700-000 Bento Gonçalves, RS  
**Fone:** (0xx) 54 3455-8000  
**Fax:** (0xx) 54 3451-2792  
<http://www.cnpuv.embrapa.br>

Ministério da Agricultura,  
 Pecuária e Abastecimento



1ª edição

### Comitê de Publicações

**Presidente:** Mauro Celso Zanus  
**Secretária-Executiva:** Sandra de Souza Sebben  
**Membros:** Alexandre Hoffmann, César Luís Girardi, Flávio Bello Fialho, Henrique Pessoa dos Santos, Kátia Midori Hiwatashi, Thor Vinícius Martins Fajardo e Viviane Maria Zanella Bello Fialho

### Expediente

**Formatação:** Alessandra Russi  
**Revisão bibliográfica:** Kátia Midori Hiwatashi