

UFRRJ

**INSTITUTO DE AGRONOMIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM
AGRONOMIA-
CIÊNCIAS DO SOLO**

TESE

**Influência das Formigas Edáficas nas Propriedades
Físicas, Químicas e Microbiológicas do Solo em um
Gradiente de Uso da Terra**

Carlos Alberto Ribeiro de Moura

2020



**UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DO RIO DE JANEIRO
INSTITUTO DE AGRONOMIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM AGRONOMIA-
CIÊNCIAS DO SOLO**

**INFLUÊNCIA DAS FORMIGAS EDÁFICAS NAS PROPRIEDADES
FÍSICAS, QUÍMICAS E MICROBIOLÓGICAS DO SOLO EM UM
GRADIENTE DE USO DA TERRA**

CARLOS ALBERTO RIBEIRO DE MOURA

Sob a orientação da Professora

Maria Elizabeth Fernandes Correa

e Co-orientação do Professor

Jerri Edson Zilli

Tese submetida como requisito parcial para obtenção do grau de **Doutor**, no Programa de Pós-Graduação em Agronomia, Área de Concentração em Ciências do Solo.

Seropédica, RJ
Agosto de 2020

Ficha catalográfica

Lorem ipsum dolor

É permitida a cópia total ou parcial desta tese, desde que seja citada a fonte.

O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES) - Código de Financiamento 001.

**UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DO RIO DE JANEIRO
INSTITUTO DE AGRONOMIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS DO SOLO**

CARLOS ALBERTO RIBEIRO DE MOURA

Tese submetida como requisito parcial para obtenção do grau de **Doutor**, no Programa de Pós-Graduação em Agronomia, área de Concentração em Ciências do Solo.

TESE APROVADA EM: ___/___/2020

Maria Elizabeth Fernandes Correa Dr^{aa}. EMBRAPA/CNPAB
(Orientadora)

Nome completo. Título. Sigla da Instituição

Nome completo. Título. Sigla da Instituição

Nome completo. Título. Sigla da Instituição

Nome completo. Título. Sigla da Instituição

“Absence of evidence is not evidence of absence.”

Carl Sagan

*“We should preserve every scrap of biodiversity as priceless while we learn to use it
and come to understand what it means to humanity.”*

E. O. Wilson

*“If you really want to study evolution, you've got go outside sometime, because you'll
see symbiosis everywhere!”*

Lynn Margulis

A minha cúmplice, namorada e esposa e aos seus pequenos comparsas...

Dedico

AGRADECIMENTOS

Agradeço especialmente aos meus antepassados espirituais.

Agradeço profundamente aos meus antepassados científicos.

Minha eterna gratidão a minha família que embarcou comigo nessa jornada de maneira incondicional.

A Dr. Elizabeth Correia e ao Dr. Jerri Zilli pela amizade, orientação e paciência.

Ao Dr. Ederson de Jesus que me incentivou a seguir com a idéia do sequenciamento genético do microbioma e viabilizou um pequeno sonho. Ao meu colega e escudeiro Thiago Farlon que foi vital para a implementação do protocolo final de extração de DNA das formigas e alinhamento das sequências.

A Dr^a Irene da Silva Coelho que concretizou o envio das amostras para o sequenciamento, parte importante deste estudo.

Ao Professor Everado Zonta pelo afinco na manutenção do curso.

Ao Professor Marcos Gervásio e sua equipe incansável pelo apoio nas análises.

Aos professores do CPGA-CS em especial a Dr^a. Elizabeth Correia e a Dr^a. Lúcia Anjos por ministrarem aulas dignas de deixar saudades em um aluno de pós-graduação.

Aos colegas de curso. Em especial ao inoxidável Eduardo Neto que conduziu as análises de fitólitos.

As formigas edáficas neotropicais e ao Dr. Jorge Luís P. de Souza mirmeecólogo e mago do R.

A toda a equipe da Secretaria do CPGA-CS.

Ao Roberto Silva companheiro de coletas e doloridas picadas, ao colega Fernando e ao Seu Paulo Genaro por me receberem e me ajudarem no Laboratório de Fauna do Solo no CNPAB. A equipe do Laboratório de Controle Biológico pela parceria em especial ao colega Adamastor por me receber em seu experimento.

Aos órgãos de fomento CAPES, CNPq e FAPERJ por manterem o curso. A UFRRJ e a EMBRAPA-CNPAB pela oportunidade. Ao INCRA pela liberação para cursar o doutorado.

O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES) - Código de Financiamento 001.

BIOGRAFIA

Carlos Alberto Ribeiro de Moura, filho de Carlos Alberto de Moura e Maria Isabel Ribeiro de Moura nasceu em 5 de julho de 1976 na cidade de Barra Mansa, estado do Rio de Janeiro. Em 2002 graduou-se em Agronomia pela Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro. Durante sua graduação teve a oportunidade de iniciar sua carreira científica com Fauna do Solo no laboratório do Professor Ricardo Berbara. Após a conclusão da graduação cursou o Mestrado em Ecologia no Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia, tendo estudado formigas de liteira e métodos estatísticos de rarefação de amostras sob orientação da Dr^a Elizabeth Franklin. Em seguida começou carreira de Perito Federal Agrário no Instituto Nacional de Colonização e Reforma Agrária e em 2007 adentrou concomitantemente na promissora carreira de pai. Após dez anos trabalhando como Perito em Roraima e no Espírito Santo, e três anos após se tornar pai de gêmeos, retornou a sua *alma mater* para continuar o treinamento desta vez em Ciência do Solo tendo novamente como orientadora uma Dr^a por nome de Elizabeth. Oscilando entre os personagens de pai, marido, ciclista, *quarentener* e cientista louco concluiu o doutorado onde estudou com muita satisfação a ação dos Hymenoptera eussociais mais interessantes dos últimos 135 milhões de anos nos ecossistemas mais desconhecidos do mundo: as formigas dos solos tropicais cultivados.

RESUMO GERAL

MOURA, Carlos Alberto Ribeiro de. **Influência das formigas edáficas nas propriedades físicas, químicas e microbiológicas do solo em um gradiente de uso da terra.** 2019. 000 p. Tese (Doutorado em Agronomia, Ciência do Solo). Instituto de Agronomia, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, RJ, 2019.

Este estudo abordou os efeitos decorrentes da ação da mimercofauna sobre a bioturbação e estoques de nutrientes em solos sob manejo agroecológico, ocorrência de fixação biológica em *Solenopsis* e atração de formigas por cultivos de plantas atrativas. Foram avaliados xxxxxxxxxxxxxxxxxxxxxxxx. A granulometria do material movimentado depositado na forma de montículos ???. Os teores de nutrientes foram ???. O microbioma associado ao solo modificado pelos ninhos apresentou ?? unidades taxonômicas (OTU's) e foi ????? do solo circundante. Com as análises de redução de acetileno nos indivíduos de *Solenopsis invicta in vivo* foram quantificada uma taxa média de fixação biológica de nitrogênio de n kg/ha/ano. As operárias de *S. invicta* submetidas a análise de 16S rRNA apresentaram n OTU's possíveis candidatas a estarem entre as espécies de bactérias responsáveis pela FBN nestas formigas. Este estudo reforça a importância das Formicidae nos agroecossistemas e é o primeiro estudo a quantificar a FBN endógena em formigas e a correlacionar as taxas de bioturbação a diversas espécies edáficas.

Palavras-chave: Bioturbação. Análise de redução de acetileno. Metagenômica.

GENERAL ABSTRACT

MOURA, Carlos Alberto Ribeiro de. **Influence of edaphic ant fauna on physical, chemical and microbiological properties of soils in a land use gradient**. 2019. 000 p. Thesis (Doctor Science in Agronomy, Soil Science). Instituto de Agronomia, Departamento de Solos, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, RJ, 2019.

This study addressed the effects of myrmecofauna on the diversity and dispersion of growth promoting microorganisms (microbiome), bioturbation and nutrient stocks in soils under agroecological management. The volumes of soil moved according to the soil horizons and their variations among nests of several species of soil ants were evaluated, with volumes varying from n L to $n + 1$ L. The granulometry of the bent material deposited in the form of mounds ????. The nutrient contents were. The microbiome associated with the soil modified by the nests presented ??? taxonomic units (OTU's) and was ??? of the surrounding soil. With the acetylene reduction analyzes in *Solenopsis invicta* individuals in vivo, a mean biological nitrogen fixation rate (BNF) of n kg /ha/year was quantified. The workers of *S. invicta* submitted to 16S rRNA analysis had n OTU's possible candidates to be among the species of bacteria responsible for BNF in these ants. This study reinforces the importance of Formicidae in agroecosystems and is the first study to quantify the endogenous BNF in ants and to correlate the rates of bioturbation to several edaphic species.

Keywords: bioturbation, acetylene reduction assay, metagenomics.

SUMÁRIO

RESUMO GERAL	1
GENERAL ABSTRACT	2
INTRODUÇÃO GERAL	1
CAPÍTULO I.....	1
RESUMO	2
ABSTRACT	3
1 INTRODUÇÃO	4
2 REVISÃO DE LITERATURA.....	4
3 MATERIAL E MÉTODOS	10
3.1 Área de Estudo	10
3.2 Atributos Físico e Químicos do Solo	10
3.3 Extração e Identificação Fitólitos	11
3.4 Identificação de Formigas	13
3.5 Análises Estatísticas	14
4 RESULTADOS E DISCUSSÃO	15
5 CONCLUSÕES	27
CAPÍTULO II	29
RESUMO	30
ABSTRACT	31
1 INTRODUÇÃO	32
2 REVISÃO DE LITERATURA.....	32
3 MATERIAL E MÉTODOS	37
3.1 Área de Coleta.....	37
3.2 Coleta e Acondicionamento dos Indivíduos e Exposição ao Acetileno	37
3.3 Análise de Redução de Acetileno	38
3.4 Microbioma de <i>Solenopsis invicta</i>	39
4 RESULTADOS E DISCUSSÃO	41
5 CONCLUSÕES	49
CAPÍTULO III	50
RESUMO	51
ABSTRACT	52
1 INTRODUÇÃO	53
2 REVISÃO DE LITERATURA.....	53
3 MATERIAL E MÉTODOS	61
3.1 Área de estudo.....	61
3.2 Plantas utilizadas e desenho experimental	61
3.3 Análise estatística.....	63
4 RESULTADOS E DISCUSSÃO	63
5 CONCLUSÕES	69
CONCLUSÕES GERAIS	71
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	73

INTRODUÇÃO GERAL

O estudo dos impactos do manejo sobre solos tropicais em agroecossistemas é de grande importância uma vez que boas práticas de manejo do solo podem contribuir para sua recuperação e preservação. As práticas agrícolas determinam o nível de produção de alimentos e em grande extensão o estado geral do ambiente global, sendo que hoje cerca da metade das terras agricultáveis já estão em uso (TILMAN et al., 2002). Dentre os objetivos de sustentabilidade propostos pelas Nações Unidas está o que prevê: “Proteger, restaurar e promover o uso sustentável de ecossistemas terrestres, manejo sustentável de florestas, combater a desertificação e suprimir e interromper a degradação dos solos e a perda de biodiversidade” (LUBCHENCO et al., 2015).

Em áreas de manejo agroecológico espera-se que serviços ambientais sejam mantidos e que o solo seja preservado de maneira ampla, incluindo sua parte viva (COCK et al., 2012). O aproveitamento de serviços ambientais de organismos de ocorrência natural é uma abordagem de baixo custo, porém subutilizada uma vez que os papéis funcionais dos organismos não são apresentados como estando diretamente ligados a produtividade das culturas, ou seja, não possuem um valor econômico diretamente associado a eles (BRIONES, 2014; EVANS et al., 2011; SANABRIA; LAVELLE; FONTE, 2014). Apesar de ser pouco utilizado este aproveitamento é altamente desejável em cultivos agroecológicos onde o uso de insumos deve ser feito com parcimônia evitando repetir os erros da agricultura intensiva e altamente dependente de insumos externos (ALTIERI, 1999).

As formigas são um grupo de insetos eussociais hiper diverso, com ampla distribuição e uma biomassa que corresponde a cerca da metade da biomassa total de artrópodes e são encontradas em registros fósseis com datas em torno de 135 milhões de anos (SMITH et al., 2011; TSCHINKEL, 2003; WARD, 2007; WILSON; TAYLOR, 1964). São reconhecidas como engenheiros do ecossistema e agentes importantes de bioturbação e como componentes dos agroecossistemas contribuem para seu funcionamento e sustentabilidade (BENCKISER, 2010; MARICHAL et al., 2014; MARÍN; JACKSON; PERFECTO, 2015).

Podendo apresentar entre as espécies hábitos de nidificação e forrageamento que podem variar de endogênicos a arbóreos (HÖLLDOBLER; WILSON, 1990; KING, 2016) a distribuição das formigas depende da disponibilidade de recursos alimentares, locais disponíveis para nidificação e ocorrência de perturbações e variações no microclima. No caso das formigas

edáficas depende em especial variações na umidade do solo, sendo que o uso de agrotóxicos e práticas de manejo do solo como a aração tendem a influenciar significativamente na composição e atividade da mirmecofauna geralmente resultando em uma diversidade menor de espécies em áreas cultivadas (KASPARI; WEISER, 2000; LEVINGS; FRANKS, 1982; LOBRY DE BRUYN, 1999). Sabe-se que apenas o uso da prática da aração é capaz de reduzir a densidade de ninhos e o efeito entre o emprego combinado de aração e irrigação também afeta negativamente o número de aberturas dos ninhos que por sua vez são função da atividade da colônia (WANG et al., 1995). Exemplos de como estes evidenciam que as formigas apresentam rápida resposta ao stress ambiental e por possuírem curto tempo de geração, serem facilmente coletáveis e relativamente fáceis de serem identificadas as torna passíveis de serem utilizadas como indicadores biológicos em agroecossistemas. Entretanto para se utilizar as formigas como indicadores de solos saudáveis há a necessidade de antes se entender e identificar quais espécies ou grupos de espécies tem papéis chave na manutenção de fluxos de matéria e energia no ecossistema. Comumente as formigas são estudadas em contexto de desserviços e não de serviços ambientais, nos quais são amplamente relevantes, destaca-se também que apenas poucas espécies de formigas têm algo mais do que sua taxonomia definida, isto é, pouco se sabe sobre sua ecologia ou fisiologia limitando assim a compreensão a respeito de seus potenciais na prestação de serviços ambientais (DEL TORO; RIBBONS; PELINI, 2012). O estabelecimento de quais formigas são importantes em termos de qualidade do solo requer conhecimento e a quantificação dos impactos da mimercofauna no perfil do solo e dentre diferentes tipos de solo (LOBRY DE BRUYN, 1999).

Esta tese traz como hipóteses principais que (i) as alterações biomecânicas promovidas no solo pelas comunidades de formigas de solo influenciam a disponibilidade de nutrientes; (ii) que o microbioma de formigas edáficas, um importante componente da fauna do solo aqui representado pela formiga de fogo (*Solenopsis invicta* Buren) pode ser uma via de entrada de nitrogênio via fixação biológica; (iii) e que a presença de determinados cultivos ou combinação de cultivos é capaz de promover a atração de formigas para áreas agrícolas com o potencial de promover o controle natural de insetos fitófagos.

A tese foi dividida em capítulos a saber: Capítulo I – Bioturbação e alteração nos solos – aborda as alterações no solo promovidas por *Solenopsis* apresentando dados sobre a movimentação de solo e mudanças nos teores de nutrientes com ênfase no silício através da análise de fitólitos; Capítulo II – Microbioma e fixação biológica de nitrogênio em *Solenopsis* – são apresentados os referenciais teóricos que levaram a hipótese de que poderia se esperar a

ocorrência de bactérias fixadoras de nitrogênio no interior das formigas, o teste desta hipótese e os dados sobre as quantidades observadas nos resultados dos testes de redução de acetileno e a identificação das bactérias provavelmente envolvidas no processo; Capítulo III – Plantas atrativas e a comunidade de formigas edáficas – é descrito um experimento de manejo conservativo de pragas através do uso de plantas de cobertura do solo sendo apresentados os dados da comunidade de formigas edáficas. Espera-se assim ao longo destes três capítulos destacar o aspecto positivo das formigas nos agroecossistemas e advogar a favor da manutenção dos serviços ambientais que estas podem fornecer.

CAPÍTULO I

BIOTURBAÇÃO E AS ALTERAÇÕES NO SOLO COM ÊNFASE NA FERTILIDADE E NA DINÂMICA DO SILÍCIO

RESUMO

LOREM IPSUM DOLOR

Palavras chave:

ABSTRACT

LOREM IPSUM DOLOR

Keywords:

1 INTRODUÇÃO

O solo não pode ser fácil e prontamente definido. Não ao menos por quem reflete sobre seus mistérios. Um dos componentes do solo é a matéria orgânica. Já seria suficientemente complicado explicar a fração “não viva” desta matéria orgânica, mas temos a fração viva da matéria orgânica para adicionar múltiplas camadas de complexidade e levantar questões que não são possuem respostas triviais. Esta parte viva abriga vírus, bactérias, fungos, nematóides, colêmbolas, minhocas, formigas e até mamíferos. Parte destes organismos dentre eles as formigas, são capazes de mover solo entre diferentes camadas e promover uma ação onipresente na maioria dos solos promovendo assim a bioturbação descrita de maneira pormenorizada por Charles Darwin no final do século XVIII com outros bioturbadores famosos: as minhocas.

Este capítulo lança luz sobre um grupo de formigas comuns em áreas agrícolas, com ninho conspícuos e conhecida por sua picada e por sua habilidade em invadir áreas em diversos países fora de sua área original de distribuição reduzindo a diversidade local de formigas e outros artrópodes. A aspiração é que além desses dois fatores negativos se conheça e valorize aspectos positivos da presença de formigas de fogo sendo que este é um passo inicial para a percepção, manutenção e oxalá promoção de serviços ambientais disponibilizados por estes organismos.

Como este componente vivo representado pelas formigas de fogo (*Solenopsis invicta* Buren) influencia o solo onde estas estabelecem seu ninho, quais nutrientes são alterados e qual seria a magnitude desta alteração e suas possíveis causas é o objetivo do estudo apresentado neste capítulo.

2 REVISÃO DE LITERATURA

Darwin nos primórdios da Ciência do Solo atribuiu um papel importante aos organismos do solo em especial em relação à formação dos horizontes superficiais através da bioturbação (DARWIN, 1881). Estas ideias foram discutidas nas obras de Shaler e de Branner, seguidores de primeira hora das ideias de Darwin sobre formação dos solos (BRANNER, 1909; SHALER, 1891). Na Argentina os estudos de Carlos Bruch também contribuíram para se entender a bioturbação promovida por formigas através da escavação de ninhos de diversas espécies

(BRUCH, 1917, 1928). Outro artigo contemporâneo destes últimos citados é o de Barbour (BARBOUR, 1897) sobre as *Daemonelix* e suas variações que se tratam de icnofósseis muito bem preservados e abundantes do final do período Terciário presentes em uma formação geológica no estado norteamericano de Nebraska que possibilitou a formação de icnofósseis de carbonato de cálcio através do preenchimento de tocas e ninhos de diversos animais fossoriais, sendo que um de seus tipos recentemente associado a ninhos de formigas (SMITH et al., 2011). Após estes estudos do final do século XVIII esta corrente permaneceu latente por muitos anos sendo revisitadas a partir da décadas de 1960 por diversos autores (BAXTER; HOLE, 1967; HOLE, 1981; JOHNSON, 1990; PATON; HUMPHREYS; MITCHELL, 1995) e desde então passaram a ter um maior alcance de divulgação e um acúmulo de informações. O motivo para esta latência pode ser explicado pela forte influência do zonalismo na ciência do solo e esta latência não foi absoluta pois houve a publicação do artigo de Baxter e Hole e uma referência a formação do biomanto em uma versão do Soil Taxonomy (BAXTER; HOLE, 1967; BOCKHEIM et al., 2005; JOHNSON, 1990; JOHNSON; SCHAEZL, 2014; PATON; HUMPHREYS; MITCHELL, 1995).

A bioturbação decorre da necessidade dos organismos em buscar alimento, abrigo na matriz do solo e outros fatores essenciais para completar seus ciclos de vida, contribui para a formação do solo e para o funcionamento dos ecossistemas, com reflexos também na alteração da paisagem (JONES, 2012; PHILLIPS, 2009; WILSKE et al., 2015). Entende-se por bioturbação no sentido amplo o retrabalho dos solos e sedimentos por todos os tipos de organismos, incluindo micro-organismos, raízes e animais com hábitos de escavação (JOHNSON, 1990). *Stricto sensu*, bioturbação se refere ao incremento na dispersão de partículas resultantes do retrabalho feito por animais escavadores (MEYSMAN; MIDDELBURG; HEIP, 2006).

No Brasil Branner influenciado pelas ideias de Darwin realizou estudos sobre “a geologia do trabalho das formigas nos trópicos” marcando o início dos estudos sobre bioturbação na região neotropical descrevendo pormenorizadamente inúmeros montículos de saúvas e cupins localizados na Bahia e em Minas Gerais (BRANNER, 1910). Considerando apenas o volume do domo ele registrou no sul da Bahia em uma área total de 9 ha um volume de 2225 m³ de terra depositada na superfície. Atualmente ainda é possível observar as estruturas descritas por Branner em imagens de satélite que permitem afirmar que estas estruturas se espalham por dezenas de quilômetros na região de Utinga, estado da Bahia (SOUZA; DELABIE, 2016) e apresenta uma extensão comparável a outras estruturas resultantes da

bioturbação como os montículos *Mima* nos Estados Unidos e as redes de túneis de vombates na Austrália (JOHNSON et al., 2006; LOFFLER; MARGULES, 1980). No Brasil apesar deste estudo com maior detalhamento ser do início da década de 1900 os registros sobre arquitetura de ninhos e movimentação do solo ainda são raros. Recentemente foram descritos de ninhos de *Ectatomma vizzotoi* atingindo 3,6 metros de profundidade no município de Dourados, não há no artigo uma descrição do solo onde este ninho foi construído nem mesmo uma menção à classe de solo (VIEIRA; ANTONIALLI-JUNIOR; FERNANDES, 2007). De maneira semelhante foi descrita a arquitetura dos ninhos e a distribuição dos ninhos de *Dinoponera quadriceps* sem menção ao tipo de solo ou alguma de suas características (VASCONCELLOS; SANTANA; SOUZA, 2004). Estes dois estudos apresentam informações relevantes e úteis para a biologia e ecologia destes organismos, mas adicionam mais evidências a tese de que há uma falta de interação entre os ecólogos de solo e os pedólogos que tem prejudicado o avanço de estudos no campo da bioturbação (BOTTINELLI et al., 2015).

Como dito anteriormente os dados de bioturbação ainda são raros no Brasil e um pouco menos raros nos Estados Unidos e Austrália. Nos Estados Unidos, Lyford avaliou a importância das formigas que constroem ninhos pequenos na gênese dos solos (LYFORD, 1963). Em seu estudo conduzido na floresta da Universidade de Harvard observando estes ninhos menores, foi registrada uma atividade de bioturbação na ordem de cerca de 15.000 kg de solo movimentado por hectare. Este solo era oriundo especialmente horizonte B, representando o que ele afirmou ser um processo de anti-eluviação. Este fenômeno de anti-eluviação é também descrito por outros autores (BUTLER, 1995). Ainda nos Estados Unidos existem vários estudos de estrutura de ninhos, icnologia e sobre a potencial influência da bioturbação em interferir em métodos de datação de partículas de quartzo (CRONIN et al., 2003; HALFEN; HASIOTIS, 2010a; RINK et al., 2013; TSCHINKEL, 2015). Na Austrália estudos de bioturbação provocada por formigas do gênero *Aphaenogaster* foi tema de uma revisão (RICHARDS, 2009) e um histórico dos dados disponíveis sobre bioturbação no mundo foram objetos de compilações em 1995 e em 2009 (PATON; HUMPHREYS; MITCHELL, 1995; WILKINSON; RICHARDS; HUMPHREYS, 2009). Trata-se então de um processo que foi não foi enfatizado por parte dos cientistas de solo mas é onipresente e afeta quase que continuamente a gênese e o desenvolvimento dos solos, afetando a criação e destruição de horizontes, criando e mantendo macroporos podendo se assumir que provavelmente não haja nenhuma rota pedogenética que não seja afetada pela bioturbação (HOLE, 1981; SCHAETZL; ANDERSON, 2005)

Assim sendo a conexão entre a fauna do solo e o mundo mineral é íntima e seu produto pode ser observado virtualmente por toda a superfície da crosta terrestre (AMUNDSON et al., 2007). Essa interrelação resulta em uma aceleração do intemperismo pela ação de organismos (BEW – biologically enhanced weathering) que pode ocorrer a partir da ação de plantas, algas, musgos, bactérias e formigas do solo dentre outros organismos (DORN, 2014; HASIOTIS; HALFEN, 2010; HUANG et al., 2014; JACKSON, 2015; TZIPERMAN et al., 2011). Já foi demonstrado em um estudo de longa duração que a aceleração do intemperismo de cristais de olivina e plagioclásio mediado pela ação de formigas é notável e pode superar em muito a ação de micorrizas e cupins (DORN, 2014). Assim sendo as formigas devem ser consideradas como integrantes dos sistemas biológicos de regulação junto com outros organismos do solo participando na mediação da decomposição dentre outros processos (LAVELLE et al., 1992).

Durante as atividades de construção e manutenção de ninhos as formigas criam domos na superfície. Estes domos são compostos de solo oriundo de diversas profundidades e tendem a conter restos de presas e excretas, logo, é de se esperar um acúmulo de nutrientes, alteração na granulometria e possivelmente uma alteração na atividade microbiológica dentre outras alterações (NKEM et al., 2000). Em ninhos de *Pheidole* se observou uma série de modificações em relação ao solo próximo aos ninhos: aumento na concentração de C, N, P totais; um aumento de NO₃⁻, aumento na capacidade de retenção de água do solo e alteração do pH para condições mais alcalinas (SHUKLA et al., 2013). Estas e outras alterações significativas no solo já foram descritas para algumas espécies de formiga como moderação de pH, enriquecimento do solo com nitrogênio, incremento de porosidade, regulação da distribuição de organismos do solo, aumento nas concentrações de nutrientes (P, Na, K, Ca e Mg) e facilitação da sucessão vegetal (DEL TORO; RIBBONS; PELINI, 2012). Solos modificados por formigas quase invariavelmente contém um incremento nos níveis de nutrientes como C orgânico, P e N, porém este aumento por vezes é pequeno, mas quando ocorrem, as concentrações maiores destes nutrientes podem perdurar por anos (CLAY et al., 2013; DEFAUW; VOGT; BOYKIN, 2008; LOBRY DE BRUYN, 1999; PINKALSKI et al., 2015; VIDKJÆR et al., 2015).

Via de regra os estudos como os descritos acima abordam a dinâmica de macronutrientes que participam da constituição de aminoácidos, da clorofila e de outros compostos sem os quais as plantas não podem completar seu ciclo, sendo assim considerados essenciais (MARSCHNER, 2011). Nota-se, porém, que aparentemente não há registro na literatura sobre a interação entre ninhos de formiga e dinâmica de um importante macronutriente: o silício. O silício a princípio está fora do rol dos macronutrientes essenciais e

que estando atrás apenas do oxigênio é o segundo elemento mais abundante da crosta terrestre e pode ser considerado um elemento benéfico para as plantas (EPSTEIN, 1999). Seus estoques estão divididos em três compartimentos ou fases: minerais primários, minerais secundários e secundários microcristalinos que incluiria também o silício precipitado como sílica amorfa (SOMMER et al., 2006).

Apesar de existir em grande quantidade na crosta apenas uma pequena fração do silício participa dos ciclos biogeoquímicos e é prontamente disponível para as plantas na forma de polímero dissolvido na solução do solo ou adsorvido nas argilas (CONLEY, 2002; YI et al., 2018). Este polímero é um ácido fraco sem carga elétrica, o ácido silícico (H_4SiO_4) sendo solúvel em água na maioria das faixas de pH dos solos (WEIL; BRADY, 2016).

A exceção dos fitólitos não silicosos como o oxalato de cálcio, os fitólitos são biossílica em forma sólida formadas nas plantas com a deposição do silício após a evaporação da água, ao se formarem mantém o formato da célula dissecada (SOMMER et al., 2006). Sendo assim se tornam uma fonte de silício que pode ter sua origem ligada ao grupo de plantas nos quais se originou sendo possível por exemplo distinguir com técnicas de microscopia se os fitólitos tem origens em plantas de Poaceae, de Eudicotyledonae, Cyperaceae ou de Arecaceae (CALEGARI et al., 2013). Os fitólitos tendem a se acumular nas camadas superficiais do solo podendo ter sua distribuição alterada pela bioturbação e pela a aração do solo (GOLYEVA, 2001).

Notadamente o silício pode ser usado por diversas plantas como uma alternativa de bom custo-benefício frente a lignina e que além de fornecer estrutura para as plantas fornece ainda defesa contra herbivoria (STRÖMBERG; DI STILIO; SONG, 2016). Os efeitos do silício sobre insetos folívoros incluiria desgaste das peças bucais e alteração na taxa de consumo relativo devido a dificuldades de digestão e redução na absorção de nitrogênio o que retarda o crescimento dos imaturos e aumenta o período de exposição aos predadores (MASSEY; ENNOS; HARTLEY, 2006; MASSEY; HARTLEY, 2009; NABITY et al., 2012). O enriquecimento experimental de silício em plantas cultivadas como o milho e o arroz pode acarretar uma série de outras alterações em potenciais insetos praga como aumento da mortalidade de larvas e pupas, redução do período de oviposição, redução do peso das larvas (LIANG et al., 2015a)

O silício é capaz de produzir efeitos como aumento na quantidade de clorofila e antocianina, assim como no aumento do volume de raízes e na melhora da resistência de plantas a doenças e a stress hídrico, pode suprimir diversas pragas, gera proteção contra diversos stress abióticos e contra a toxidez por Mn e sua adição como fertilizante pode ter os mesmos níveis

de controle de doenças fúngicas obtidos ao se aplicar um fungicida (BROADLEY et al., 2011; HU et al., 2018a; YI et al., 2018). Alguns autores porém são categóricos e elevam o silício a uma condição de um elemento agronomicamente essencial para o arroz no sentido de que a planta com carência de Si pode completar seu ciclo porém apresentando uma série de alterações e uma redução sensível no volume e na qualidade dos grãos produzidos (MA; TAKAHASHI, 2002). As correntes mais modernas assumem o Si como um elemento *quasi*-essencial ou como um elemento benéfico (WEIL; BRADY, 2016) existindo ainda autores que são enfáticos em dizer que os critérios de essencialidade são débeis (STREET-PERROTT; BARKER, 2008), e que esta não seria uma base saudável para se discutir da nutrição de plantas (KIRKBY, 2011).

Atualmente ainda não se conseguiu induzir metodologicamente uma carência absoluta de silício e em face a inúmeras evidências práticas e as quantidades absorvidas por diversas plantas EPSTEIN (1999) argumenta que o mesmo deva ser considerado um elemento essencial. O mesmo autor chega ainda a pedir licença ao estadista Winston Churchill ao parafraseá-lo dizendo que: “*a bioquímica do Si é uma charada envelopada em um mistério dentro de um enigma*”. Tal dificuldade seria fruto em parte do desinteresse em geral em se esmiuçar os diferentes mecanismos envolvidos na biogeoquímica do silício que por sua vez seria uma consequência do foco dos estudos agrônômicos que via de regra visam gerar dados para subsidiar a formulação e aplicação de adubos (EPSTEIN, 1999).

A lista de plantas reconhecidamente beneficiadas pelo Si inclui o algodão (*Gossypum* sp.), a cana-de-açúcar (*Sacharum* sp.), a uva (*Vittis* sp.), o arroz (*Oryza* sp.), abóbora (*Cucurbita* sp.), Pinus (*Pinus taeda*) (EPSTEIN, 1999; LIANG et al., 2015a; YAN et al., 2018). Os benefícios incluem resistência sistêmica adquirida, melhor alongamento das fibras em especial nas variedades de algodão de fibra longa, plantas de cana e de arroz mais eretas, redução do acamamento de plantas de arroz, maior resistência a fungos de parte aérea em abóbora e um aumento de 50% na atividade da RuBisCO (ribulose-1,5-bisfosfato carboxilase oxigenase) em plantas de abóbora submetidas experimentalmente a maiores quantidades de silício, podendo ainda ocorrer redução dos efeitos da toxidez por Fe, Cd, As, Mn e Al e aumentar a eficiência da absorção de K, P e Ca e alívio do stress provocado por salinidade (EPSTEIN, 1999; WEIL; BRADY, 2016).

3 MATERIAL E MÉTODOS

3.1 Área de Estudo

O Sistema Integrado de Produção Agroecológica – SIPA (Fazendinha Agroecológica km 47) encontra-se localizado em Seropédica, RJ (latitude 22° 45' S, longitude 43° 41' N e altitude que varia entre 30 e 70 m), numa região da Baixada Fluminense de relevo suave ondulado e ondulado e com solos classificados como ARGISSOLOS e PLANOSSOLOS (NEVES et al., 2005, SANTOS et al., 1999). A área do SIPA hospeda uma grande diversidade de plantas cultivadas incluindo variedades hortícolas, frutíferas, faixas de árvores leguminosas ou de palmeiras (coco, pupunha) e pastagem. O manejo orgânico é preconizado desde o início da iniciativa não sendo utilizados adubos sintéticos ou agrotóxicos desde a implantação da área em 1993.

3.2 Atributos Físico e Químicos do Solo

No presente estudo foram avaliadas as alterações no solo provocadas pela bioturbação decorrente da escavação de ninhos de *Solenopsis invicta* (Buren) conhecidas como formigas de fogo ou lava pé no agroecossistema da Fazendinha Agroecológica do Km 47. Os parâmetros escolhidos foram os mesmos usualmente avaliados em análise química de solo de rotina sendo também avaliada a massa de solo movimentado e a alteração na quantidade de silício biodisponível. Foram atributos químicos: Carbono (%), Alumínio (cmolc/dm³), Cálcio (cmolc/dm³), Magnésio (cmolc/dm³), Fósforo (mg/L), Nitrogênio (%), Hidrogênio + Alumínio (cmolc/dm³), Potássio (mg/l), acidez (pH em água), Valor S, V%.

Dada a complexidade das análises o silício é tratado em separado dos demais parâmetros químicos uma vez que inclui a análise de fitólitos.

A coleta do solo do ninho e do solo testemunha para a análise das características físico-químicas foram baseados na metodologia utilizada por SHUKLA e colaboradores (2013). Todos os valores foram obtidos para um conjunto de 30 pares de amostra sendo uma do solo do domo dos ninhos e outra por uma amostra composta do solo adjacente aos ninhos, sendo as amostras dos parâmetros químicos analisadas no Laboratório de Química Agrícola da Embrapa Agrobiologia (LQA/CNPAB) segundo o protocolo em uso no laboratório (NOGUEIRA et al., 2005).

A granulometria do solo dos ninhos foi analisada no laboratório de Física do Solo da UFRRJ utilizando o método de análise granulométrica (TEIXEIRA et al., 2017). Também foi registrado o peso da terra do domo o que seria um indicador da atividade acumulada do ninho e de seu número de operárias.

3.3 Extração e Identificação Fitólitos

De posse da TFSA dos solos de 30 ninhos de *Solenopsis invicta* (Buren, 1972) e de solo próximo aos ninhos foram conduzidas as operações de extração de fitólitos. A extração dos fitólitos nas amostras foi feita conforme o Método 2, descrito CALEGARI et al. (2013). Os morfotipos foram identificados em lâminas confeccionadas com a fração resultante da extração e observados em magnificação de 40X, em microscópio óptico Zeiss Axioskop 40 no Laboratório de Gênese e Classificação do Solo LGCS – UFRRJ pelo Engenheiro Agrônomo Eduardo Neto. Em cada lâmina foram contados, no mínimo, 200 fitólitos com significado taxonômico e/ou ambiental, identificados conforme o International Code for Phytolith Nomenclature – ICPN (NEUMANN et al., 2019). O número de fitólitos foi calculado de acordo com ALBERT e WEINER (2001).

A extração de fitólitos de amostras de solo e sedimento é baseada em uma série de pré-tratamentos seguindo procedimentos clássicos de remoção dos óxidos, carbonatos e matéria orgânica, conforme MEHRA e JACKSON (1960). Os procedimentos específicos de separação dos silicofitólitos apresentados nesse relatório são apresentados por CALEGARI et al. (2013).

O protocolo de extração de fitólitos de solos/sedimentos pode ser resumido em três etapas: 1) Remoção dos recobrimentos (matéria orgânica, óxidos de Fe, carbonatos, etc.); 2) Eliminação da fração argila (usando dispersante em solos muito argilosos, através de centrifugação, sifonagem, etc.) e 3) Separação densimétrica (via politungstato doravante PTS). Foi feito teste com HCl 7% para verificar a presença de carbonatos. Caso se verifique efervescência (presença de carbonatos) deve-se adicionar 40 mL de HCl à amostra, deixando agir por algum tempo (até completar a reação – parar a efervescência) e, em seguida, centrifugar e lavar a amostra com água destilada a 1000 – 1500 RPM por 5 minutos, descartando o resíduo ácido. Depois de seca a amostra estará pronta para o processo de extração.

Foi pesado 5,00 gramas de solo/sedimento em béquer de vidro usando balança de precisão, e adicionado 40 mL de H₂O₂ 30% (água oxigenada), deixando reagir por 20 minutos ou até completar a reação (cessar a efervescência). Caso necessário, pode ser adicionado mais H₂O₂ para completa reação a frio. Em seguida as amostras foram levadas para a placa aquecedora a 75°C para reação a quente, agitando com bastão de vidro durante um minuto. Caso a efervescência seja muito violenta, pode ser usado álcool etílico para conter. Deixou-se digerir a amostra até que seu volume atingisse a proporção 1:1. Caso necessário, pode se adicionar mais 10 mL de H₂O₂ para evitar que a amostra seque e grude no fundo do béquer.

Completada a reação, após esfriarem, as amostras foram transferidas para tubos de centrífuga de 100 mL utilizando um pisseta com solução de acetato de sódio (NaOAc) com pH 5,0 sem encher completamente os tubos, de maneira a permitir a calibragem do peso antes de irem para centrífuga. Os tubos e as tampas foram marcados com o código de cada amostra, para que as tampas não fossem trocadas e para que não houvesse contaminação. As amostras foram lavadas 3 vezes com NaOAc, usando centrífuga (700 RPM por 3 minutos) descartando o sobrenadante com cuidado para não perder amostra. Após os três ciclos de centrifugação com água, foi centrifugado novamente com etanol, a 700 RPM por 3 minutos. Ao final, foi retirado o máximo de líquido possível para passar para o procedimento seguinte.

A próxima etapa consistiu na remoção dos óxidos de ferro. No material sedimentado no tubo de centrífuga foi adicionado 40 mL da solução de Citrato de Sódio com 5 mL da solução de Bicarbonato de Sódio. A função dessa solução é preparar o ambiente para a reação do Ditionito de Sódio que foi usado posteriormente para a eliminação do ferro. Em seguida as amostras foram colocadas em banho-maria a 75°C e após cinco minutos, adicionado 1 g de Ditionito de Sódio, agitando vigorosamente por um minuto com bastão de vidro. Após adicionar e mexer por 1 minuto, a solução foi colocada para reagir no banho-maria por 15 minutos.

Em seguida, foi retirado o material do banho-maria e adicionado 10 mL de Acetona para floculação da argila, e centrifugada as amostras a 2000 RPM por 5 minutos. A metodologia recomenda a adição de 10 mL de solução NaCl saturada junto com a Acetona. No entanto, não se utilizou a solução de NaCl saturada pois poderia elevar muito o pH e danificar os fitólitos.

Após a centrifugação, foi observada a cor do material para ver se era necessário repetir a etapa do banho-maria. Permanecendo o sobrenadante com a cor bruna ou avermelhada, foi repetido o procedimento desde a adição dos 45 mL de Citrato de Sódio +

Bicarbonato de Sódio. Nos casos onde a solução apresentou coloração cinza ou esbranquiçada, após a retirada do sobrenadante restante da última centrifugação, foi adicionada água destilada para proceder à remoção da argila e adicionado 40 mL de água destilada e centrifugado a 700 RPM por 3 minutos, descartando o sobrenadante em um béquer para verificar se está havendo perda de fitólitos junto com as argilas. Esse processo foi repetido até que o sobrenadante estivesse limpo, isto é, até que o máximo de argila fosse removido. O material restante corresponde à fração insolúvel ao ácido (FIA) do solo e foi seco em estufa 100 - 105°C / 12 horas, e posteriormente pesado, para a determinação da concentração de fitólitos por grama de solo.

A próxima etapa consistiu na concentração de fitólitos por densidade. Como os fitólitos apresentam densidade de 1,9 – 2,4 g.cm⁻³ utiliza-se nessa etapa uma solução de PTS com densidade 2,35 g.cm⁻³. Foi adicionada uma quantidade dessa solução equivalente ao dobro do volume da amostra (relação 2:1, PTS:AMOSTRA) e agitado até uniformizar a solução. Em seguida as amostras foram centrifugadas a 1000 RPM por 3 minutos. As partículas minerais que geralmente apresentam densidade maior que 2,35 g.cm⁻³ precipitam no fundo do tubo, quanto que os fitólitos, ficam suspensos na solução, formando um “halo” na superfície. Esse material em superfície foi recuperado com uma pipeta Pasteur e transferido para um novo tubo. Essa etapa foi repetida três vezes, adicionando PTS, centrifugando e recuperando o material em superfície.

Depois dos três ciclos de centrifugação/recuperação, foi adicionado água destilada aos tubos que contém o material recuperado, para abaixar a densidade da solução. Posteriormente as amostras foram centrifugadas a 1500 RPM por 5 minutos, descartando o sobrenadante (solução de PTS) em um béquer, para filtragem e reaproveitamento. O material obtido foi levado a estufa 100 – 105°C para secar e posteriormente ser utilizado para montagem das lâminas.

3.4 Identificação de Formigas

Os indivíduos foram coletados e armazenados em álcool a 70%. Foram utilizadas chaves taxonômicas, lupa (microscópio estereoscópico 40x) para identificação das formigas coletadas (BACCARO et al., 2015; PACHECO; MACKAY, 2013). O material testemunha está guardado em via úmida no Laboratório de Fauna do Solo da Embrapa Agrobiologia.

3.5 Análises Estatísticas

Com o uso do software livre R 3.5.1 (R CORE TEAM, 2018) foram feitos testes de normalidade dos dados e os demais testes estatísticos. Foi utilizado o teste de Shapiro Wilk para testar a normalidade dos dados, alguns dos parâmetros não apresentaram comportamento normal assim sendo foi utilizado análise não paramétrica para a análise de todos os dados. Para tal foi utilizado o teste de Wilcoxon pareado pois se trata de amostras dependentes constituídas de amostras de solo dos ninhos (montículos/domos) e de solos adjacentes aos ninhos.

Diante da distribuição não normal de alguns dados foi feita a opção de se utilizar teste não paramétrico a saber o teste de Wilcoxon pareado para parte do conjunto de dados. Os dados relativos aos teores de silício e fitólitos apresentaram distribuição normal e foram submetidos ao Teste t pareado. Se testou as diferentes variáveis tendo como comparação o solo dos domos dos ninhos e o solo superficial adjacente coletado em amostras compostas. Os parâmetros testados foram %C, Al, Ca, H+Al, K, Mg, N, P, pH, Valor S, Valor T, Valor V%, COT, MOS, PASi, ASi, AIF, Fitólitos de Poaceae, Fitólitos de Eudicotyledonae, Fitólitos de Areaceae, Fitólitos de Cyperaceae.

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados das análises estão divididos em três conjuntos, o primeiro obtido a partir de parâmetros gerais de fertilidade feitas no laboratório de Química Agrícola do CNPAB e de análises das frações granulométricas obtidas no laboratório de Física do Solo da UFRRJ (tabela 1). O segundo composto pelas análises feitas com os dados obtidos em análises feitas no laboratório de Gênese e Classificação de Solo da UFRRJ onde se obteve os dados de COT, SOM, frações de silício e fitólitos (tabela 2), e o terceiro que consiste na apresentação dos dados de massa de solo movimentado para a formação do domo do ninho (Figura 1).

Tabela 1. Resultado do teste de Wilcoxon pareado para os parâmetros de fertilidade do solo e para as frações granulométricas (g.l.=29)

	V	valor p
Carbono	198	0,4843
Alumínio	77	0,3482
Cálcio	175	0,241
Acidez total (H+Al)	41	0,0001414*
Potássio	420	<0,0001*
Magnésio	241,5	0,8612
Nitrogênio	232	1
Fósforo	398	0,0006891*
pH	208	0,8457
valor S	218	0,7734
valor T	118	0,01903*
valor V%	366	0,005013*
Argila total	49,5	0,0002*
Areia total	285	0,1474
Areia fina	174	0,3524
Areia grossa	347	0,0175*
Silte	227	0,9181

Tabela 2. Resultados do Teste t pareado para COT, MOS, frações de Si e fitólitos (IC = 95%, g.l.=29).

	T	Valor p	Média das diferenças	Limite inferior	Limite superior
COT	4,8071	<0,0001*	3,5720	2,0523	5,0917
MOS	0,3509	0,7282	0,5547	-2,6784	3,7878
PASi	44,6520	<0,0001*	118,7170	113,2793	124,1547
ASi	20,9560	<0,0001*	243,2327	219,4944	266,9709
AIF	16,9270	<0,0001*	0,0877	0,0771	0,0983
Fit. de Poaceae	-23,4730	<0,0001*	-20,5697	-22,3619	-18,7774
Fit. de Eudicotyledoneae	29,0560	<0,0001*	21,4073	19,9005	22,9142
Fit. de Arecaceae	-0,7540	0,4569	-0,2423	-0,8997	0,4150
Fit. de Cyperaceae	-3,9854	0,0004*	-0,3694	-0,5590	-0,1798

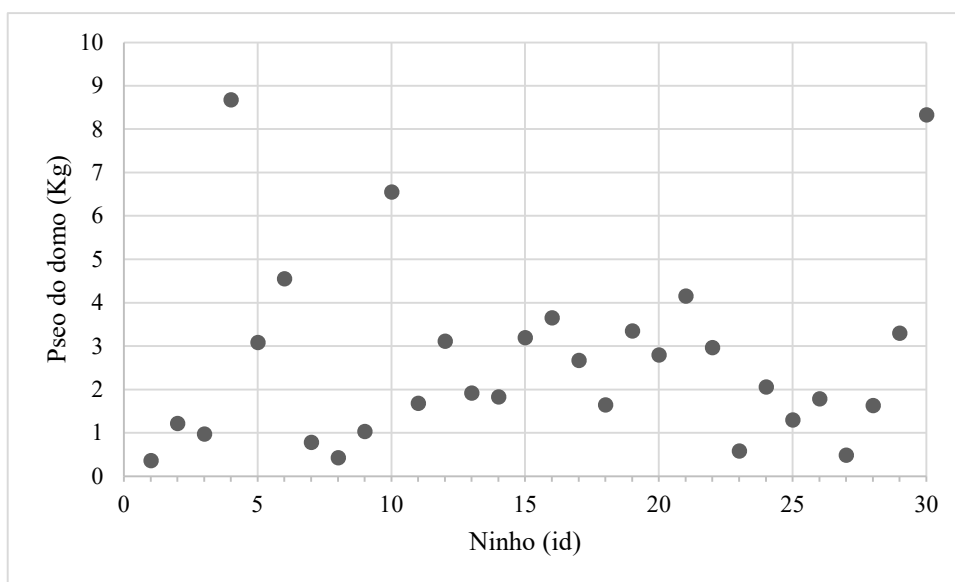


Figura 1. Valores do peso do domo dos 30 ninhos utilizados para as análises de fertilidade e fitólitos (peso médio = 2,67 kg).

O peso dos ninhos coletados que tiveram seus domos coletados variou de 0,365 kg a 8,68kg com uma média de 2,67kg de solo movimentado (figura 1). Se for considerada uma média de 74,29 ninhos por hectare (ALMEIDA et al., 2007) temos em uma estimativa conservadora a quantidade de 198,74 kg de solo movimentado por hectare.

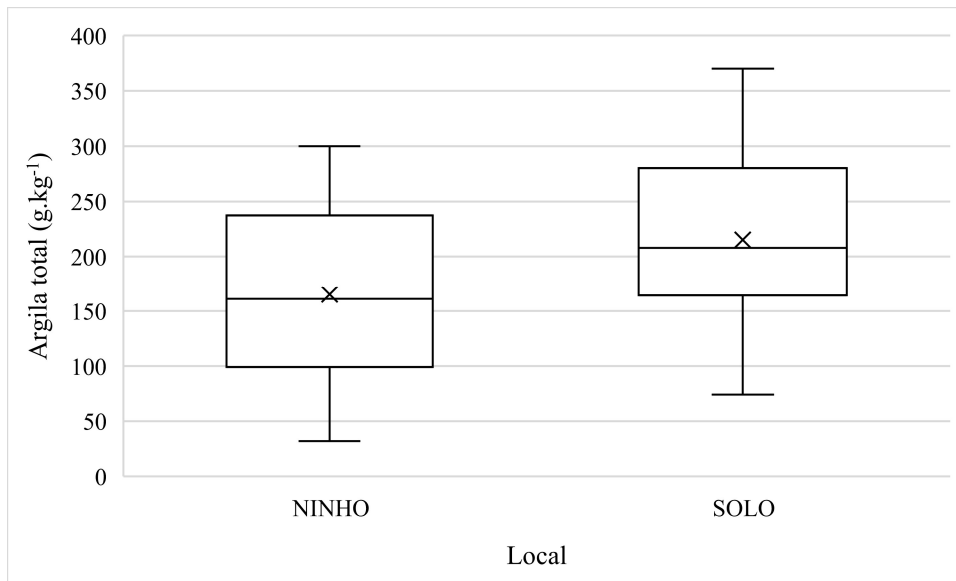


Figura 2. Distribuição dos dados da fração granulométrica correspondente a Argila Total nos ninhos e no solo testemunha ($p < 0,0002$).

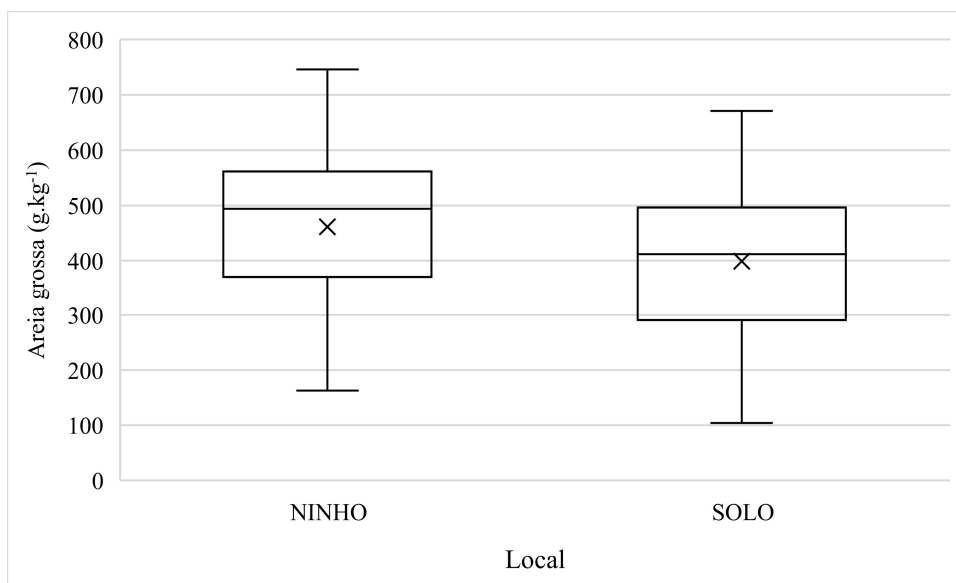


Figura 3. Distribuição dos dados da fração granulométrica correspondente a Areia grossa nos ninhos e no solo testemunha ($p < 0,00175$).

Os ninhos apresentam uma redução da participação da fração argila (figura 2) e um incremento de areia grossa (figura 3). As formigas tendem a selecionar o material para construção de seus ninhos e translocá-los no perfil de acordo com suas necessidades inclusive abrindo e fechando galerias (HALFEN; HASIOTIS, 2010b). No caso de *Solenopsis invicta* a parte aparente do ninho acima do nível do “médio” do solo é funcional, não se trata apenas de solo movimentado, sendo assim um ninho tipo II (PATON; HUMPHREYS;

MITCHELL, 1995). A necessidade de utilizar o solo como extensão de seu fenótipo (PHILLIPS, 2009) que neste caso se traduz no acúmulo de areia grossa na superfície e na redução na participação da fração argila é o que se pode chamar de peneiramento lento (JOHNSON, 1990; JOHNSON; DOMIER; JOHNSON, 2005; JOHNSON; WATSON-STEGNER, 1987a). Esta ação ao longo do tempo geológico tem consequências nas características do solo que coevolui com os organismos que nele habitam (JOHNSON; WATSON-STEGNER, 1987b) neste caso a consequência mais evidente seria um acúmulo de areia grossa na superfície e uma tendência a formação de um gradiente textural abaixo do limite de exploração do corpo do solo pelas formigas. Foram feitas tentativas ao longo do desenvolvimento desta pesquisa no sentido de obter moldes dos ninhos e verificar assim seu volume e sua extensão abaixo do nível médio do solo, porém não obtive sucesso com uso de gesso com e sem aditivos de secagem rápida, nem com cimento CP-V de alta resistência inicial e secagem rápida com ou sem microfibras e aditivo para evitar a formação de bolhas. A outra alternativa seria o uso de alumínio derretido (TSCHINKEL, 2010) que oferece riscos e foi descartada devido a minha falta de experiência com o material. Estes dados em conjunto com os dados do perfil do solo poderiam ser úteis para entender a movimentação deste material, mas não estão disponíveis pelos motivos aqui expostos.

Foi observada uma menor acidez total nos ninhos (figura 4), uma maior concentração de potássio (figura 5), maior concentração de fósforo (figura 6) e uma maior saturação de bases (V%) (figura 7) o que coaduna com observações semelhantes feitas em ninhos de outras espécies como citado anteriormente (DEFAUW; VOGT; BOYKIN, 2008; FARJIBRENER; WERENKRAUT, 2017; SHUKLA et al., 2013).

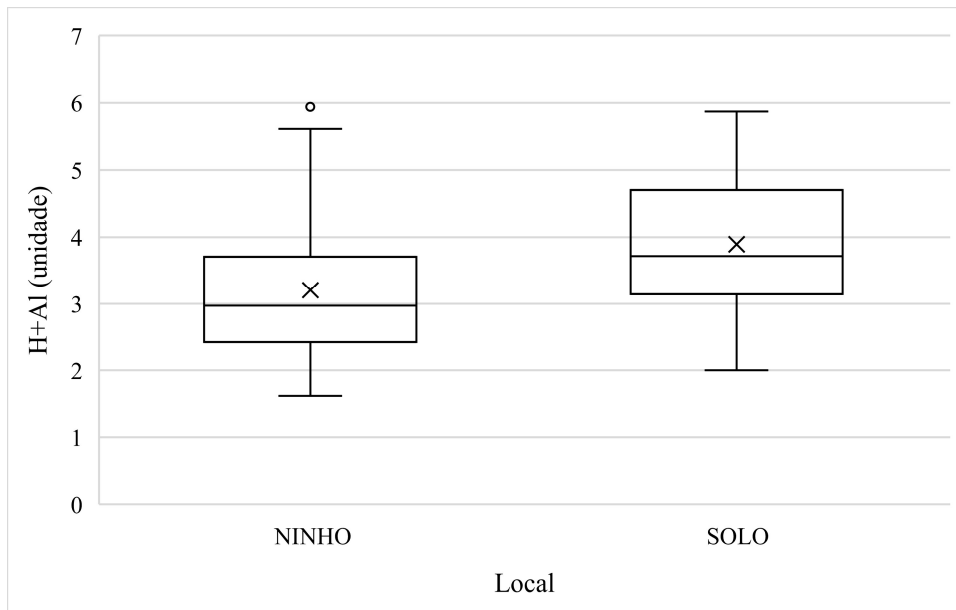


Figura 4. Distribuição dos dados de Acidez Total (H+Al) nos ninhos e no solo testemunha ($p = 0,00014$).

Há uma redução significativa da acidez total nos ninhos ($p < 0,0001$) com uma diferença média de $-0,688$, porém não há mudança significativa no pH ($p = 0,8457$). A possível razão para estes valores é discutida em conjunto com os demais dados mais adiante.

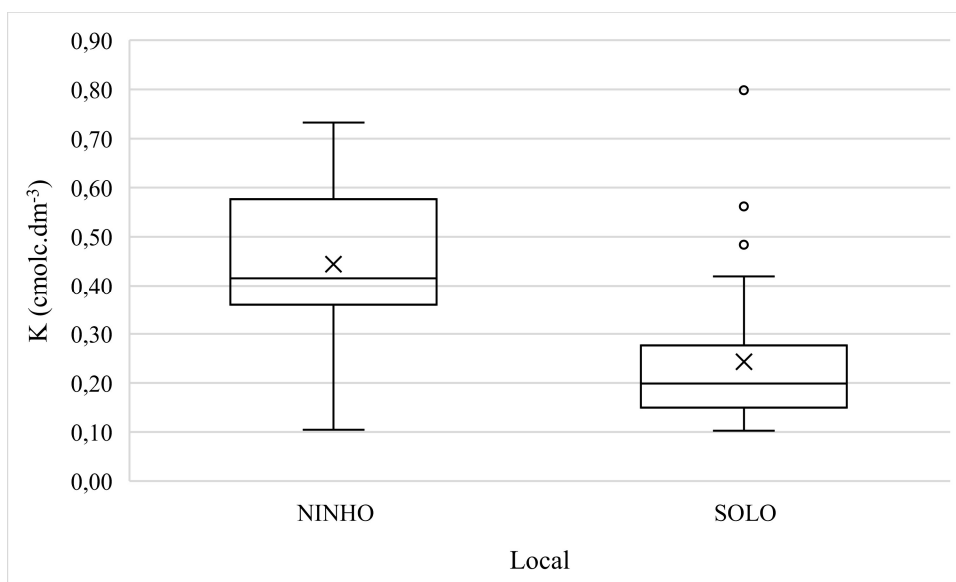


Figura 5. Distribuição dos dados de Potássio (K) nos ninhos e no solo testemunha ($p < 0,001$).

O potássio é absorvido em grande quantidade pelas plantas e participa da ativação de enzimas, fotossíntese e síntese proteica sendo passível de ser absorvido apenas quando está

na solução do solo o que corresponde geralmente a menos de 10% do potássio existente nos solos (MANNING, 2010). O incremento de potássio detectado (figura 5), que quando está na sua forma trocável está retido nos argilominerais ocorreu mesmo com a redução do teor da fração argila nos ninhos (figura 2) e isto talvez possa ser explicado pela presença de bactérias com capacidade de solubilizar potássio (BAHADUR et al., 2019). Outra evidência que sustenta esta afirmação é além do potássio houve incremento de fósforo (figura 6) sem alteração no pH e um dos mecanismos de solubilização de fósforo e potássio por bactérias é a produção de polissacarídeos com radicais carboxila livres que causam quelação e consequente desintegração de minerais que possuem fósforo e potássio em sua constituição (BAHADUR et al., 2019). Esta possibilidade ainda encontra sustentação nos dados apresentados no capítulo II desta tese que detectou a presença de diversas bactérias promotoras de crescimento (PGPR) associadas a *Solenopsis invicta* dentre elas bactérias de dois gêneros com espécies com capacidade reconhecida de solubilização: *Pseudomonas* e *Bacillus*.

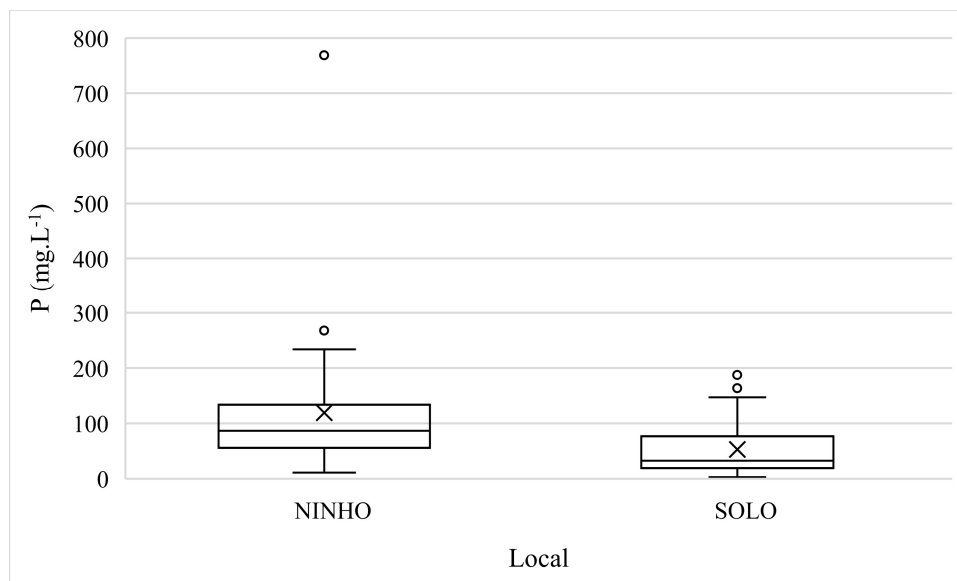


Figura 6. Distribuição dos dados de concentração de Fósforo (P) nos ninhos e no solo testemunha ($p = 0,018$).

Tanto o potássio como o fósforo podem ter sua disponibilidade aumentada pela do intemperismo biologicamente acelerado (BEW) pelas formigas (DORN, 2014) além da possível ação de bactérias solubilizadoras já citado anteriormente. Outros insetos tem esta capacidade, inclusive imaturos de lepidoptera que incrementam a liberação de fósforo e potássio acelerando a mineralização da serrapilheira (SMITH, 2007). O aporte de presas e

outros materiais coletados como seiva exsudada de insetos sugadores (*honeydew*) e sementes podem ser uma fonte de nutrientes que passariam a ser disponibilizados por ação do BEW.

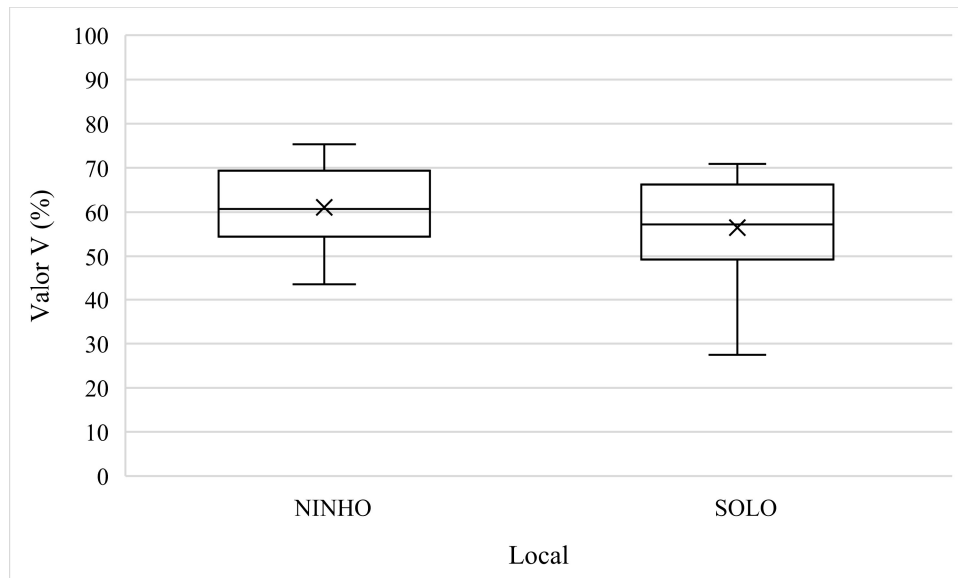


Figura 7. Distribuição dos dados de Valor V% nos ninhos e no solo testemunha ($p < 0,0001$).

Um aumento do valor V% dos solos dos ninhos (figura 7) é em decorrência do incremento do potássio e do decréscimo da acidez total (figura 4) em relação ao solo circundante.

Foi detectado um incremento de carbono orgânico total ($p < 0,0001$) (figura 8) que pode ter origem na da deposição de carcaças de presas e de dejetos da própria colônia de formigas (CLAY et al., 2013; FARJI-BRENER; WERENKRAUT, 2017; SHUKLA et al., 2013).

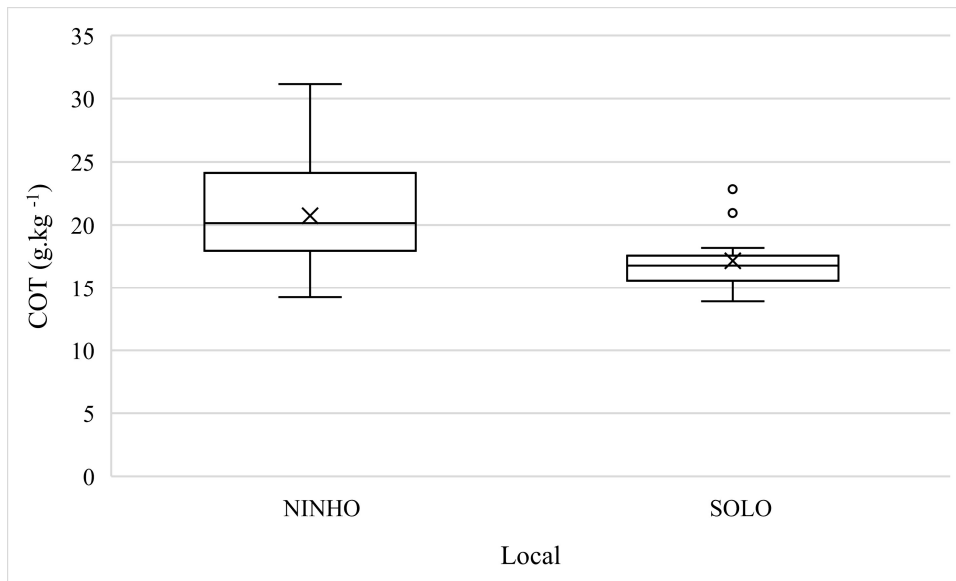


Figura 8. Distribuição dos dados de Carbono Orgânico Total (COT) nos ninhos e no solo testemunha ($p < 0,0001$).

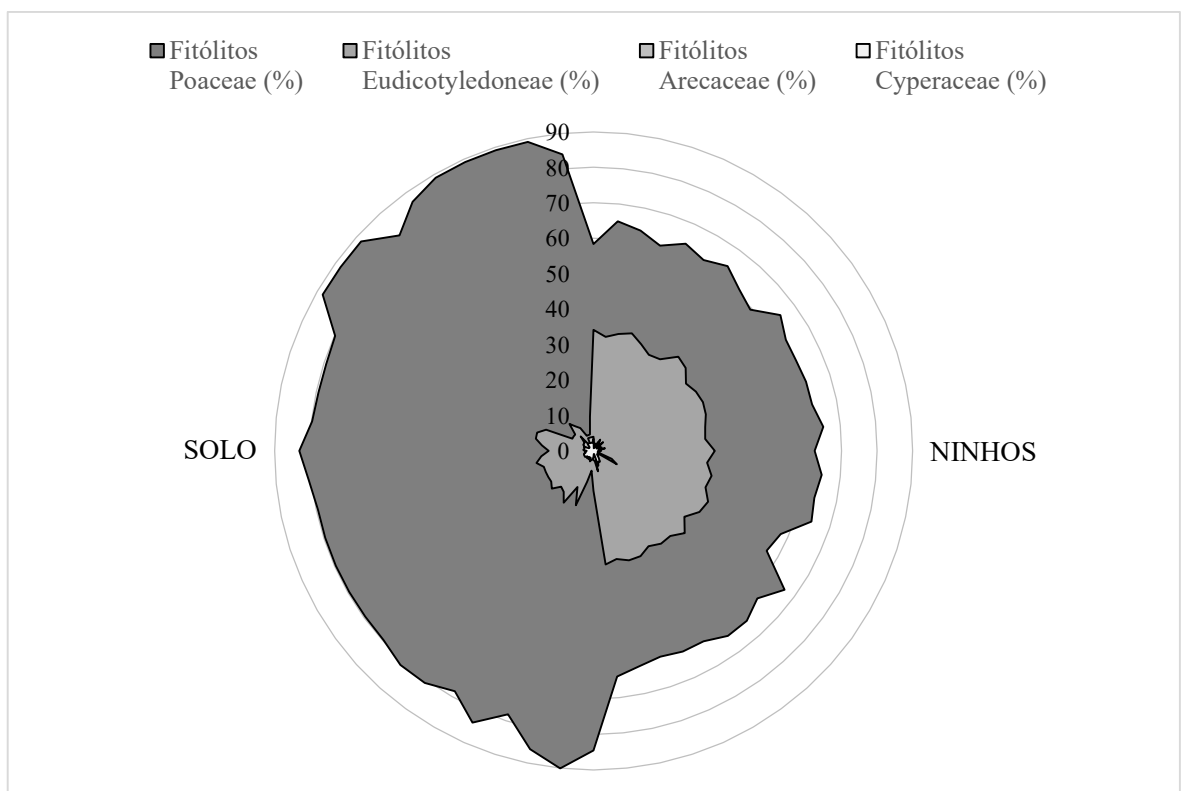


Figura 9. Composição percentual dos tipos de fitólitos no solo e nos ninhos tendo sido registrada diferença para Fitólitos de Poaceae e Eudicotyledoneae ($p < 0,0001$) e para Fitólitos de Cyperaceae ($p = 0,0004$) não havendo diferença para fitólitos de Arecaceae ($p = 0,4569$).

A assembleia de fitólitos é profundamente alterada pelos ninhos (figura 9). Os fitólitos de dicotiledôneas apresentam um incremento nos ninhos, sendo que os fitólitos de Poaceae percentualmente dominam o solo superficial adjacente aos ninhos perfazendo em média 83,21% dos fitólitos no solo e sofrendo uma redução nos ninhos para um valor médio de 62,64% do total. Os fitólitos de dicotiledôneas que no solo tem uma média de 11,67% passam a representar em média 33,08% do total de fitólitos nos ninhos. Deve ser ressaltado que as gramíneas tendem a ser eficientes acumuladoras de silício (YAN et al., 2018), logo para ocorrer um aumento na proporção de fitólitos de dicotiledôneas, que na área de estudo incluem além das árvores os cultivos hortícolas, ao menos teoricamente a entrada de material oriundo de dicotiledôneas no ninho deve ser adicionado em uma razão maior e a princípio desconhecida que a de gramíneas para que ocorra uma mudança percentual perceptível como a observada.

A habilidade de predação das formigas de fogo que inclui a captura de imaturos de insetos folívoros é notável e há uma tendência de que sejam coletados mais insetos com potencial de se tornarem praga do que insetos benéficos (EUBANKS, 2001; STILES; JONES, 2001; VOGT et al., 2001). Estes imaturos consomem material vegetal e neste material possui dentre os constituintes silício na forma de fitólitos os quais se advoga atuam como uma defesa contra herbivoria (LIANG et al., 2015b). Como os cultivos hortícolas presentes na área são majoritariamente eudicotiledôneas a predação de insetos folívoros ou sugadores nas áreas de cultivo podem ser uma explicação para o incremento percentual de fitólitos deste grupo botânico nos ninhos. Talvez esta também seja a explicação para o incremento da quantidade total de fitólitos na forma de silício disponível para as plantas e sílica amorfa (PASi e ASi) e pode ao menos em parte ser a explicação para o incremento de potássio, fósforo e carbono orgânico total. Desta forma as *Solenopsis* agiriam como um vetor biológico de nutrientes (*sensu* BILDSTEIN; BLOOD; FREDERICK, 1992).

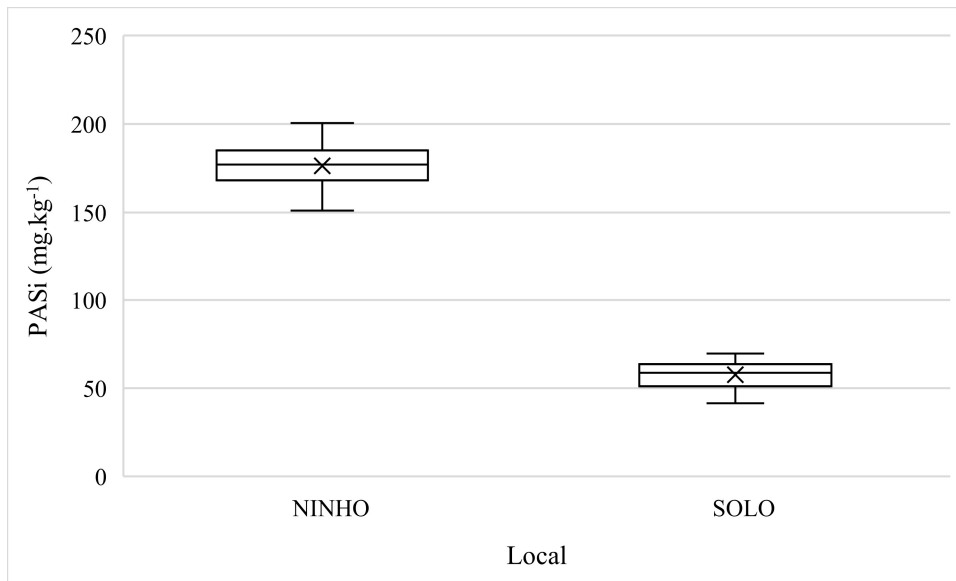


Figura 10. Distribuição dos dados de Silício prontamente disponível para as plantas (PASi) nos ninhos e no solo testemunha ($p < 0,0001$, diferença média = $118,71 \text{ mg.kg}^{-1}$).

O PASi (Plant Available Silicon ou silício prontamente disponível para as plantas) observado em todos os ninhos está acima dos 130 ppm tidos como críticos para o arroz na Coréia e no Japão (MA; TAKAHASHI, 2002). Há uma dificuldade em se obter níveis críticos de silício para diferentes culturas por haver um pequeno volume de artigos na área e os existentes serem feitos em solos com características muito distintas e os valores de silício serem obtidos com diferentes formas de extração como o uso do ácido acético (TUBAÑA; HECKMAN, 2015). Os valores aqui apresentados (figura 10) são sistematicamente superiores nos ninhos assim logo após o ninho ser abandonado há um acúmulo de silício prontamente disponível que pode proporcionar uma série de benefícios para as plantas (GUNTZER; KELLER; MEUNIER, 2012a; REYNOLDS et al., 2016).

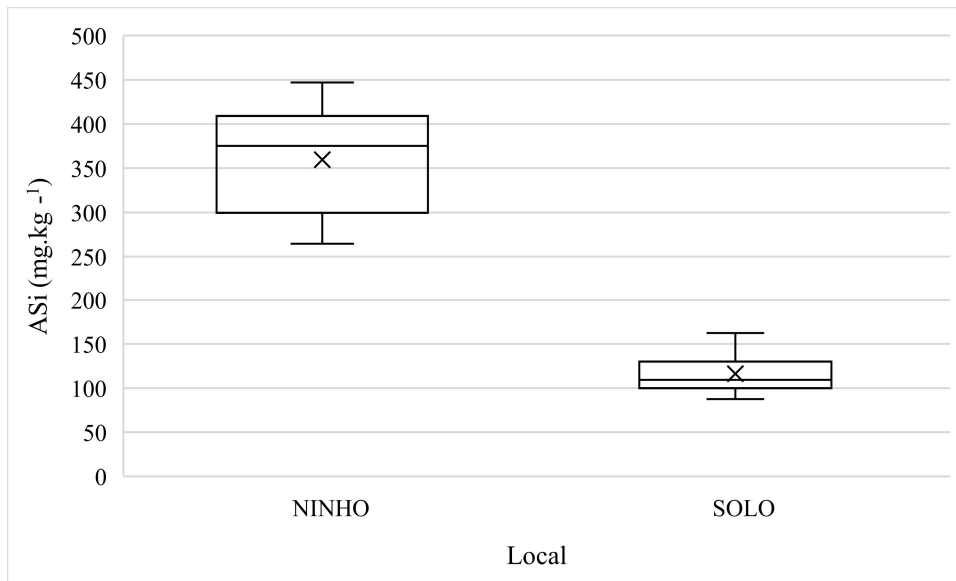


Figura 11. Distribuição dos dados de Silício amorfo (ASi) nos ninhos e no solo testemunha ($p < 0,0001$, diferença média = 243,23 mg.kg⁻¹).

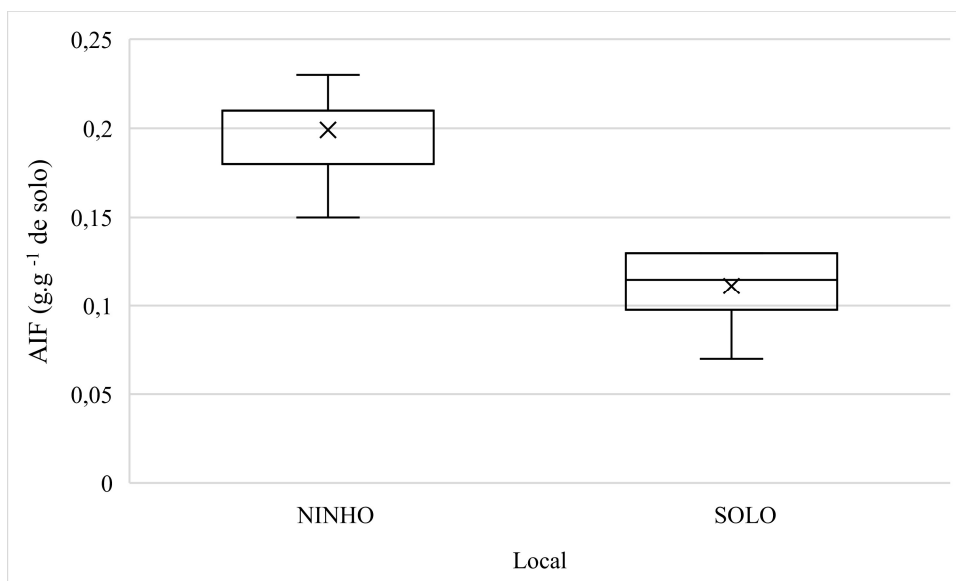


Figura 12. Distribuição dos dados da Fração insolúvel em ácido (AIF) nos ninhos e no solo testemunha ($p < 0,0001$, diferença média = 0,0877 g.g⁻¹ de solo).

O incremento de silício biodisponível na forma de ácido silícico (H₄SiO₄) pode estar ocorrendo devido a ação da atividade de das formigas de ao menos três formas distintas. A primeira forma através da ação se *Solenopsis* como um vetor biológico de nutrientes sendo estes oriundos de matéria orgânica acumulada com o depósito do resto de presas e material de descarte do ninho que pode incluir o além do resíduo de presas, raízes e outros materiais

vegetais removidos durante a escavação do ninho e coespecíficos mortos que ao longo do processo de decomposição poderiam doar íons (H^+) que ao atacar a sílica amorfa (ASi) liberaria o silício biodisponível (figura 11). O resíduo de presas talvez seja um dos itens mais importantes quando ao se considerar que: (i) foi observada a predação de traça das crucíferas (*Plutella xilostella* L., Lepidoptera:Plutellidae) na forma de larva e de pupa na área experimental do CNPAB por *Solenopsis invicta* (Adamastor Barros, comunicação pessoal) (ii) larvas de Lepidoptera ao consumir material vegetal aumentam a disponibilidade de diversos elementos como fósforo e potássio (SMITH, 2007) e (iii) a capacidade de acelerar o intemperismo já conhecida para as formigas (DORN, 2014). A possibilidade de uma interação sinérgica entre a capacidade de folívoros e seus predadores em acelerar o intemperismo é teoricamente possível e é algo que deve ser testado experimentalmente. Uma outra forma de ação poderia se basear na ação de microorganismos do microbioma associado a *Solenopsis* que possam possuir a capacidade de solubilizar minerais silicatados trazidos pelas formigas para o ninho ou mesmo os presentes no solo movimentado (BAHADUR et al., 2019; EHRLICH, 1996).

A segunda forma seria através da obtenção de seiva exsudada por insetos sugadores como afídeos e cochonilhas (WU et al., 2013) e posterior deposição via descarte de fezes no ninho.

Uma terceira potencial fonte pode ser oriundas de alterações no pH com origem nos excretas das formigas que além de aminoácidos possuem ácidos graxos como o ácido linoleico, oleico e palmítico (CZACZKES; HEINZE; RUTHER, 2015; VIDKJÆR et al., 2015). O comportamento desses aminoácidos pode seguir uma miríade de reações conforme as características definidas pela estrutura das cadeias laterais de cada um, podendo ou não agir como doadores ou receptores de hidrogênio dependendo da relação entre sua constante de dissociação e o pH do meio (BISCHOFF; SCHLÜTER, 2012). Ao se observar os dados de acidez total estes aminoácidos podem em sua maioria estar agindo mais como um tampão já que há redução na soma H^+Al sem se notar diferença de pH entre o solo circundante e o solo dos ninhos. Ou seja, hipoteticamente as três formas de aportar silício nos ninhos que devem ocorrer concomitantemente poderiam prover ácido silícico o suficiente para ajudar a explicar a redução observada na acidez total sem uma alteração significativa no pH. O mecanismo com potencial para explicar estas observações seria a reação entre a forma dominante de alumínio em solos ácidos (Al^{+3}) e polímeros de silício que pode levar a

formação de aluminossilicatos (JONES; HANDRECK, 1967; WONISCH et al., 2008) consumindo assim o alumínio e reduzindo a acidez total.

Para se ter um melhor panorama da extensão do impacto destas alterações nos teores de nutrientes deve se levar em conta a dispersão dos ninhos na área de estudo apresentando uma média de 74,29 ninhos por hectare com uma variação de 13 a 304 ninhos por hectare dependendo do tipo de cultivo e com uma área por hectare variando de 0,45 m².ha⁻¹ até 35m².ha⁻¹ (ALMEIDA et al., 2007). Estes ninhos, ou melhor os domos, tendem a ser abandonados e enquanto a colônia persistir e se deslocar outros domos são criados, podendo ainda ser simplesmente abandonados caso a colônia pereça (TSCHINKEL, 1993). Um domo pode permanecer ativo por até 36 meses mas em média duram menos de um ano e geralmente a colônia se desloca para locais próximos de um a 30 metros, sendo que estas mudanças podem ser provocadas por competição com ninhos próximos, presença de patógenos nos domos e por alguma condição química do domo (SHOWLER; KNAUS; REAGAN, 1990). Os territórios que incluem a área usada para forrageamento podem atingir até 121 m² e o incremento ou redução da área do território é dependente do número de operárias da colônia (ADAMS, 2003).

A partir dos dados desses estudos e das alterações na fertilidade do solo dos domos descritas neste capítulo pode ser ter uma ideia de como o agroecossistema pode ser alterado pela a ação desta espécie de formiga que faz parte de uma comunidade que engloba dezenas de espécies de formiga e diversos outros artrópodes com capacidade de promover bioturbação e de alterar a distribuição e solubilidade do silício como já descrito para minhocas e cupins dois outros importantes bioturbadores (BITYUTSKII; KAIDUN; YAKKONEN, 2016; JOUQUET et al., 2020).

5 CONCLUSÕES

Diante dos dados apresentados neste estudo aparentemente temos ao menos dois fatores atuando: (i) acumulação de nutrientes devido ao acúmulo de material nos ninhos o que serve de explicação para o incremento do COT, P, K, Si e V% e (ii) a ocorrência de intemperismo acelerado por atividade biológica inclusive talvez em série, ou em sequencialmente, uma vez que se sabe que larvas de lepidópteros podem promover BEW e que estas são presas habituais de *Solenopsis invicta* Buren o que poderia explicar um

aumento de cerca de três vezes no teor de silício nos ninhos em relação ao solo superficial. E não se pode descartar que estes dois fatores talvez ocorram com influência das bactérias presentes no microbioma de *Solenopsis* que podem vir ter ação solubilizadora comprovada no futuro como já foi feito em minhocas da espécie *Pheretima guillelmi* (HU et al., 2018a).

Mais que uma curiosidade ou a apresentação de um resultado de uma análise química, trato aqui de elementos que podem melhorar a capacidade de adaptação de plantas cultivadas, ou seja seu fitness (*sensu* PIANKA, 2000) em um agroecossistema inserido em uma paisagem e sujeito a toda sorte de interações ecológicas inclusive as com forte modulação pela componente climática. Dentre os nutrientes aqui apresentados como sendo influenciados pela ação das formigas o único que ainda não havia sido relatado na literatura é o silício. O efeito silício no aumento da resistência ao stress hídrico é um fator preponderante em um cenário de mudanças climáticas (TILMAN et al., 2002; WALL; SIX, 2015). Como destacado ao longo deste capítulo os efeitos do silício na fitossanidade também é notável (GUNTZER; KELLER; MEUNIER, 2012b; RODRIGUES; DATNOFF, 2015). Não obstante mais uma vez como já havia sido registrado em outros estudos de diferentes autores foram registradas melhorias na fertilidade do solo no tocante a redução da acidez total, aumento na concentração de fósforo, aumento na concentração de potássio e na porcentagem de saturação por bases.

A lista de serviços ambientais desempenhados pelas formigas (DEL TORO; RIBBONS; PELINI, 2012; LOBRY DE BRUYN; CONACHER, 1990) passa com este capítulo de tese a ter mais um fator, o aumento notável da biodisponibilidade de silício. Como dito anteriormente a habilidade das formigas em acelerar o intemperismo é superior a de diversos organismos do solo (DORN, 2014) e os dados que aqui apresentados oriundos da análise da sílica amorfa presente no solo dos ninhos e no solo próximo aos ninhos reforçam esta tendência já observada.

Espera-se então que com a divulgação dos dados aqui descritos ao se observar um ninho de formigas de fogo os agricultores e estudiosos da fertilidade dos solos com inclinação conservacionista e agroecológica passem a ver os montículos não só como algo perigoso, mas também como algo útil, como uma pequena mina liliputiana de potássio, fósforo e principalmente de silício e como um possível local para a bioprospecção de PGPR.

CAPÍTULO II

MICROBIOMA E FIXAÇÃO BIOLÓGICA DE NITROGÊNIO EM SOLENOPSIS

RESUMO

FBN SOLENOPSIS

PALAVRAS CHAVE:

ABSTRACT

Lorem ipsum dolor

Keywords:

1 INTRODUÇÃO

Os insetos evolutivamente são um grupo de sucesso em ecossistemas terrestres sendo isto atestado pela sua biodiversidade, pela sua biomassa assim como pela miríade de processos que intermediam nos diversos biomas onde estão presentes. Dentre os insetos o maior grupo em biomassa são as formigas. Como estes organismos, em especial as formigas edáficas influenciam os ciclos biogeoquímicos? Como as formigas conseguem a quantidade necessária de nutrientes para estabelecer e manter suas colônias e terem ainda uma grande biomassa. As formigas com maior potencial de ocupar áreas perturbadas e com menos recursos alimentares teriam algum mecanismo extra para obter os nutrientes de que necessitam?

Com estas perguntas em mente e de posse das informações de que o nitrogênio tende a ser um nutriente limitante em muitos ecossistemas e com algumas evidências de que a fixação biológica em insetos é um fato e de que é possível que ocorra em formigas foram escolhidas as formigas da espécie *Solenopsis invicta* Buren para testar a hipótese de que a fixação biológica de nitrogênio em formigas além de ser teoricamente possível ocorre de fato nestes organismos e que isto pode ser a chave para entender seu sucesso em colonizar áreas abertas e ter se tornado uma espécie invasora tão importante na América do Norte.

2 REVISÃO DE LITERATURA

Estima-se que a fixação biológica de nitrogênio tem cerca de 3,2 Ga (STÜEKEN et al., 2015) e até o início do século XIX era a maior fonte de nitrogênio para os ecossistemas tendo sido superada pelos compostos nitrogenados produzidos industrialmente através do processo Haber-Bosch (STEIN; KLOTZ, 2016). Apesar de perfazer 78% do ar atmosférico o nitrogênio, presente na constituição de aminoácidos e proteínas, é limitante em diversos ecossistemas naturais e cultivados não só para os seres autotróficos limitando a produção primária, mas também para os seres heterotróficos (VITOUSEK et al., 2002).

Dentre os organismos heterotróficos os insetos constituem a maior parte da biomassa animal na maioria dos ecossistemas terrestres com valores exatos ainda não

conhecidos com precisão, e antes que se conheça estes valores há indícios de que estes vem se reduzindo de maneira preocupante em conjunto com a diversidade de insetos que estima-se, representa cerca de três quartos da diversidade animal (FOSTER; ELLWOOD; FOSTER, 2004; HALLMANN et al., 2017). Por se tratarem de organismos diminutos podemos nos enganar quanto a relevância dos mesmos, o que desaparece diante das evidências como a de um estudo conduzido na Inglaterra que estimou um aporte de 3200 toneladas por ano de insetos migratórios oriundos da Europa continental apenas na região sul do país (HU et al., 2016). Outra estimativa útil para se entender a magnitude da influência dos insetos e das formigas vem de uma revisão recente que estima que as formigas armazenam 70 megatoneladas de carbono enquanto os demais artrópodes excluindo os cupins armazenam 80 megatoneladas de carbono (TUMA; EGGLETON; FAYLE, 2020). As formigas são portanto o grupo com maior biomassa dentre os insetos e desempenham diversas funções chave nos ecossistemas (DEL TORO; RIBBONS; PELINI, 2012; FITTKAU; KLINGE, 1973). Mais especificamente sabe-se ainda que as *Solenopsis* em específico podem estabelecer mais de uma centena de ninhos em apenas um hectare (ALMEIDA et al., 2007) e afetar a distribuição e abundância de outros animais e plantas (PERFECTO, 1994; SEAMAN; MARINO, 2003; STUART; JACKSON; MCCOY, 2003).

Cronologicamente estima-se que a endossimbiose entre microorganismos e insetos se estabeleceu há aproximadamente 300 Ma (MORAN; TELANG, 1998). As formigas tem cerca de 135 Ma sendo que se tornaram-se abundantes há cerca de 90 Ma (PERRICHOT et al., 2008; WARD, 2014) enquanto a predisposição para a nodulação tem cerca de 100 Ma (REMIGI et al., 2016). Logo o tempo que as leguminosas amplamente conhecidas pela capacidade de se associarem a bactérias fixadoras de nitrogênio, tiveram para estabelecer uma simbiose é teórica e virtualmente o mesmo que tiveram as formigas. Além disto a possibilidade de que estas últimas estejam se beneficiando de maneira similar ao que ocorre em outro reino não possui nenhum impedimento teórico. Ao contrário, pois temos o paradoxo de Tobin que prevê que a grande biomassa de formigas do dossel das florestas tropicais, constituída em sua maioria por formigas que se alimentam de exsudatos florais e de ordenha de insetos sugadores que fornecem basicamente carboidratos, consumindo portanto alimentos com baixa concentração de aminoácidos e sem os aminoácidos essenciais para a vida dos insetos, as formigas necessitam de uma fonte destes elementos (DAVIDSON; PATRELL-KIM, 1996; TAMAYO; HEIL, 2015). Estas fontes podem ser supridas em parte por saprofagia,

predação e consumo de fezes de pássaros por exemplo, mas outra fonte menos conhecida pode ter sua origem nos microorganismos que habitam o interior das formigas ou seja, o seu microbioma (BAR-SHMUEL; BEHAR; SEGOLI, 2020; MURALL et al., 2017; SUDAKARAN et al., 2017) .

O microbioma pode modular uma série de mudanças no hospedeiro a partir da incorporação de um, ou diversos, organismos inteiros e completamente funcionais com todo seu conjunto de rotas metabólicas (FELDHAAR, 2011). Diferentes funções do microbioma podem incluir desintoxicação, fornecimento de aminoácidos não presentes na dieta, e aparentemente até na participação da produção precursores de feromônios de trilha (FELDHAAR, 2011; SILVA-JUNIOR et al., 2018).

As formigas de fogo são comuns em agroecossistemas e possuem importância como controle natural de insetos praga e possuem um potencial de se tornar espécies invasoras (EUBANKS, 2001; STUART; JACKSON; MCCOY, 2003). No Sistema Integrado de Produção Agroecológica (SIPA) já foi registrada uma densidade de cerca de 74 ninhos de *Solenopsis invicta* por hectare (ALMEIDA et al., 2007). Apesar de ser abundante em agroecossistemas tropicais o fato de ter se tornado uma espécie invasora criou o interesse em se conhecer o microbioma destes organismos e os artigos já publicados refletem o parte do microbioma de alguns ninhos e indivíduos coletados nos Estados Unidos, mais especificamente no Texas (ISHAK et al., 2011b; POWELL; HANSON; BEXTINE, 2014) e no Missisipi (WOOLFOLK et al., 2016).

As formigas podem influenciar na modulação da comunidade microbiana da mirmecosfera e na dispersão de micro-organismos tanto em decorrência de seu deslocamento quanto nas mudanças provocadas em decorrência da escavação, manutenção e atividades usuais transcorridas no ninho (BAR-SHMUEL; BEHAR; SEGOLI, 2020). Os microorganismos que vivem intimamente relacionados com as formigas influenciam no seu sucesso em sobreviver a agentes entomopatogênicos e podem até mesmo serem indispensáveis para a vida da colônia (HAEDER et al., 2009; ISHAK et al., 2011a; PINTO-TOMÁS et al., 2009b; SEN et al., 2009). As formigas são reconhecidamente capazes de dispersar agentes patogênicos em hospitais ou fitopatógenos em culturas agrícolas, mas até recentemente não se encontrava na literatura relatos ou se cogitava a possibilidade de dispersão de micro-organismos promotores de crescimento, ou seja, bactérias fixadoras de nitrogênio e fungos micorrízicos (BAR-SHMUEL; BEHAR; SEGOLI, 2020; EL-HAMALAWI; MENGE, 1996; FOWLER et

al., 1993) excetuando-se talvez apenas a exceção do elegante e centenário estudo conduzido por Giglioli (GIGLIOLI, 1897).

As infecções por bactérias e fungos podem ocorrer externamente estando ou não limitada ao tegumento ou serem internas estando dispersa na hemolinfa ou em estruturas especializadas (BORM et al., 2008; SUDAKARAN et al., 2017). A relação entre formigas e a microbiota do solo já é conhecida desde o final do século XVIII onde ficou demonstrada, em ambiente estéril, a capacidade das formigas em inocular leveduras obtidas no solo de vinhedos e assim permitir o início da fermentação de cachos de uva (GIGLIOLI, 1897).

A primeira endossimbiose descrita em insetos foi feita para uma formiga do gênero *Camponotus* e muito se tem se avançado neste campo principalmente com o uso de técnicas de biologia molecular (SCHRÖDER et al., 1996). Há na literatura registros obtidos através da amplificação de regiões do DNA ribossômico de bactérias presentes tanto nos ninhos de formigas (BOOTS; CLIPSON, 2013; HAEDER et al., 2009; JOHANSSON et al., 2013; KELLNER et al., 2015; REYES; CAFARO, 2015) como na qualidade de endossimbiontes (ANDERSON et al., 2012; BORM et al., 2008; HU et al., 2018b; ISHAK et al., 2011b; RUSSELL et al., 2009). Alguns destes endossimbiontes foram descritos habitando órgãos internos de formigas dos gêneros *Tetraponera*, *Cephalotes* e *Acromyrmex* tendo sido caracterizados como bactérias filogeneticamente relacionadas a bactérias fixadoras de nitrogênio dos gêneros *Rhizobium*, *Methylobacterium*, *Burkholderia* e *Pseudomonas* (ANDERSON et al., 2012; BARSHMUEL; BEHAR; SEGOLI, 2020; BORM et al., 2008). Em alguns casos foram descritas estruturas para que essas bactérias se alojem não sendo descartada a possibilidade de que o nitrogênio do ar esteja sendo fixado no interior de seus corpos e liberado via excreção (ANDERSON et al., 2012; BORM et al., 2008; HU et al., 2014; SAPOUNTZIS et al., 2015). Diante desse acúmulo de informações sobre a microbiota bacteriana de diversas espécies de formiga é factível se esperar que algumas das formigas que nidificam no solo possam estar se beneficiando de uma endossimbiose com bactérias fixadoras de nitrogênio e assim estarem contribuindo para entrada de nitrogênio via fixação biológica, algo já conhecido para diversos grupos de insetos (TAMAYO; HEIL, 2015).

A fixação biológica de nitrogênio em artrópodes pode ser um fenômeno comum e mais relevante do que se poderia esperar, já tendo sido demonstrada em cupins, besouros

e mosca das frutas (BAR-SHMUEL; BEHAR; SEGOLI, 2020; BEHAR; YUVAL; JURKEVITCH, 2005; MORALES-JIMÉNEZ et al., 2009; TÄYASU et al., 1994). Estima-se que a fixação de nitrogênio nos organismos dos artrópodes represente algo em torno de 10 a 40 kg/ha/ano e portanto representaria uma contribuição significativa para o balanço de nitrogênio em alguns ecossistemas (NARDI; MACKIE; DAWSON, 2002; TAMAYO; HEIL, 2015).

Apesar de existirem estudos recentes demonstrando a ocorrência de bactérias filogeneticamente relacionadas a bactérias fixadoras de nitrogênio no trato digestivo de diversas formigas via de regra os autores que descrevem estes microbiomas não sugerem a possibilidade da ocorrência de FBN nestes organismos (BORM et al., 2008; HU et al., 2014). Diante desta possibilidade e do conhecimento acumulado até o presente momento se conhece apenas a ocorrência de fixação biológica de nitrogênio de forma não endossimbiótica nos jardins de fungo de saúva (PINTO-TOMÁS et al., 2009b). Apesar da importância da fixação biológica de nitrogênio a associação entre formigas e bactérias vai além, no caso da associação entre formigas e *Burkholderia* sp. que além de uma provável fixação de nitrogênio – ainda não especulada nem comprovada - pode conferir uma ação antibiótica contra fungos entomopatogênicos comuns nos locais de nidificação (ANDERSON et al., 2012).

Como dito anteriormente já foi confirmada a ocorrência da FBN com o uso de técnicas de redução de acetileno e abundância natural de δN_{15} tanto com cupins como em formigas (PINTO-TOMÁS et al., 2009b; TÄYASU et al., 1994). Não obstante a maioria dos trabalhos se baseia na identificação dos microorganismos através de técnicas de biologia molecular e não se aprofundam a ponto de supor a ocorrência de FBN ou confirmar se os genes *nif* estão sendo expressados (ISHAK et al., 2011b; KAUTZ et al., 2013; SAPOUNTZIS et al., 2015). Quanto a este último fator citado há de se destacar que se cogita a possibilidade de ocorrência de FBN sem expressão de genes *nif* (HIGDON et al., 2020).

Uma forma prática de verificar a fixação biológica de nitrogênio é a análise da redução de acetileno (ARA) que consiste em oferecer o acetileno como substrato para a enzima nitrogenase, sendo uma técnica de uso amplo desde a década de 1960 (DILWORTH, 1966; HARDY et al., 1968; STAAL et al., 2001). É uma metodologia relativamente simples e de custo reduzido mas possui limitações e alguns protocolos que devem ser ajustados como toda metodologia (DE BONT; MULDER, 1976; MINCHIN et

al., 1983; MINCHIN; SHEEHY; WITTY, 1986). Apesar do aumento no uso de técnicas de metagenômica a ARA ainda é de grande utilidade e continua a ser empregada como técnica complementar (HOFFMAN et al., 2014; PINTO-TOMÁS et al., 2009a, 2009b; SPATZAL et al., 2014). Dentre as pesquisas visando determinar a ocorrência de fixação biológica de nitrogênio em insetos poucas utilizam este método (PINTO-TOMÁS et al., 2009b; TÄYASU et al., 1994). Apesar de existirem estudos sobre o microbioma de formigas de fogo (*Solenopsis* sp) (ISHAK et al., 2011b) não foram encontrados registros na literatura utilizando ARA em indivíduos de *Solenopsis*, de fato foi encontrado apenas dois artigos sobre ARA em formigas, tendo sido analisados indivíduos do gênero *Atta* (PINTO-TOMÁS et al., 2009b) e do gênero *Cephalotes* (HU et al., 2018b) não havendo sinal de redução nos indivíduos analisados em ambos os casos.

3 MATERIAL E MÉTODOS

3.1 Área de Coleta

Sistema Integrado de Produção Agroecológica – SIPA (Fazendinha Agroecológica km 47). O SIPA encontra-se localizado em Seropédica, RJ (latitude 22° 45' S, longitude 43° 41' N e altitude que varia entre 30 e 70 m), numa região da Baixada Fluminense de relevo levemente ondulado e com solos classificados como ARGISSOLOS e PLANOSSOLOS (NEVES et al., 2005, SANTOS et al., 1999).

3.2 Coleta e Acondicionamento dos Indivíduos e Exposição ao Acetileno

As primeiras coletas para as análises piloto foram feitas com pinça, indivíduo por indivíduo após a perturbação do ninho. O volume coletado após cerca de uma hora de esforço não atingia um terço das quantidades utilizadas após o aperfeiçoamento da coleta. O método final consiste no uso de equipamentos rudimentares e de baixo custo. Foram utilizados um de cano de PVC de 1 polegada com 75cm de comprimento com uma das pontas tampadas. Este cano ao ser colocado em contato com o formigueiro perturbado mecanicamente recebe as operárias e as soldados que reagem a perturbação. Uma vez que estas enxameiam a haste a mesma é batida sobre a borda de uma bandeja plástica previamente tratada nas bordas com talco industrial para prevenir a fuga dos organismos.

Após esta operação as formigas são transferidas para um recipiente plástico de 2 litros e mantidas em ambiente fresco e protegido do sol. Todas as coletas foram realizadas durante o período da manhã. O período da tarde foi reservado para a transferência dos indivíduos para os frascos de vidro (*vial*), para tal foi utilizada uma bandeja também isolada com talco industrial onde se colocava no centro o vial. Rapidamente com o uso de pinças entomológicas é feita a transferência da massa de formigas para dentro do vial que com movimentos delicados de pinça tendem a formar um cacho facilitando o acondicionamento no vial. E seguida o frasco é fechado com tampa metálica provida de septo, o lacre da tampa foi feito para todas as amostras para evitar o acúmulo de CO₂ nos recipientes. A transferência de cada grupo de cerca de 2 a 3 gramas de operárias levou em média 5 minutos por amostra. Após a transferência da última amostra os vials com os vial já lacrados, foi retirado um volume (*headspace*) de 1 ml, injetado 1 ml de acetileno e cronometrado o tempo até ser atingido 30 minutos. Após decorrido este tempo com uma seringa com válvulas era removido a atmosfera dos e prontamente transferindo o conteúdo da mesma para vials com vácuo devidamente identificados para posterior injeção no FID.

3.3 Análise de Redução de Acetileno

Foram conduzidos ensaios de redução de acetileno em operárias coletadas em ninhos de *Solenopsis invicta* sendo confirmado posteriormente a identificação das espécies construtoras. O teste de redução de acetileno teve como ponto de partida os protocolos utilizados para cupins (BENEMANN, 1973) e para operárias de formiga (PINTO-TOMÁS et al., 2009b, 2009a). A adaptação da metodologia empregou frascos de headspace 10 mL onde foram depositados cerca de duas gramas de operárias vivas em cada frasco. Estes frascos de cromatografia foram lacrados, empregado o septo de clorobutila para vedação com uso de graxa de alto vácuo (Dow Corning). O sistema empregado é similar ao de coleta de gases ambientais para cromatografia. Foram retirados cerca de 10% da atmosfera e injetados o mesmo volume de gás acetileno obtidos através da reação de liberação por reação de carbureto de cálcio e água. Após 30 minutos foram coletados 0,5 mL da atmosfera acetilênica através de uma seringa gas-tight (Hamilton) e injetados em cromatógrafo gasoso Shimadzu GC2010 Plus munido de detector de ionização de chama (FID). As condições cromatográficas foram o emprego de coluna cromatográfica Porapak[®] 80-100 A° com 0,80 m de extensão, fluxo do gás de arraste de

30 mL por min, temperatura isotérmica de 60°C com tempo de corrida de 3 minutos. A curva de calibração continha 5 níveis de concentração realizadas em triplicata abrangendo concentrações obtidas na análise das amostras apresentadas.

O tempo de 30 minutos foi definido empiricamente por ocasião dos testes preliminares pois em 15 minutos o sinal de redução era fraco ou inexistente e em 1 hora não havia incremento na produção de etileno em relação ao tempo de 30 minutos. Há, portanto, a necessidade do acetileno se difundir no interior das formigas para que então ocorra a reação com as bactérias que possam estar produzindo nitrogenase no interior das formigas. Ao mesmo tempo deve se ter em mente o fato de que a anaerobiose também reduz a eficiência da nitrogenase e as formigas devem permanecer vivas durante a exposição (BENEMANN, 1973).

Foram usados frascos: 1) apenas com ar atmosférico, 2) com acetileno sem operárias de formiga e 3) com operárias sem acetileno nos ensaios como branco e 4) frascos com operárias e com acetileno.

Todas as formigas foram pesadas em balança de precisão no laboratório de Fauna do Solo da Embrapa CNPAB para a obtenção de dados de fixação de nitrogênio por grama, sendo feita a opção por se utilizar o peso úmido.

Para os cálculos se admitiu uma relação 3:1 decorrente da afinidade da enzima nitrogenase em relação ao acetileno e ao nitrogênio elementar como utilizado por outros autores (CURTIS; WALLER, 1996; PRESTWICH; BENTLEY; CARPENTER, 1980). Deve ser levado em conta porém que esta relação é teórica e pode sofrer variações (SAIZ et al., 2019) porém, uma vez que se trata de um estudo pioneiro para formigas se usou o referencial de estudos para outros insetos visando se obter dados comparáveis com os já obtidos para outros insetos.

3.4 Microbioma de *Solenopsis invicta*

Inicialmente foi planejado que nos ninhos onde as operárias apresentassem resultado positivo na redução de acetileno seria conduzido a extração de DNA para a identificação das OTUs através de metagenômica baseada na região do 16S rRNA.

A primeira coleta foi realizada nos dias 13/11, 14/11 e 23/11/2017 totalizando 30 amostras e as formigas coletadas para esse fim foram expostas ao acetileno e depois

conservadas em freezer sem líquido conservante, por motivo desconhecido em sua maioria não foi possível extrair DNA nem com quantidade nem qualidade suficiente. Diante da impossibilidade de obter uma porção útil de DNA das primeiras amostras foram coletadas novas amostras em 6/05/2019 e para garantir a obtenção de material para estudos de metagenômica sendo separada uma fração das formigas coletadas para este fim. Nestas amostras os indivíduos não foram expostos ao acetileno sendo a conservação feita em álcool 70% com as amostras mantidas em freezer. Destas amostras foram obtidas quantidades de DNA satisfatórias e sendo assim possível realizar a amplificação da região 16S das 15 amostras coletadas. As tentativas de amplificar o gene *nifH* não tiveram resultados satisfatórios e não foi possível viabilizar ainda a busca de possíveis soluções para contornar este problema em face da pandemia de COVID-19. Uma vez contornado o problema da amplificação será buscado um meio de se enviar o material para sequenciamento e aumentar a precisão global deste estudo.

Os protocolos utilizados como ponto de partida para obtenção do DNA foram os utilizados por (GADAU, 2009) e por (RUBIN et al., 2014) utilizando kit de extração de DNA DNeasy PowerSoil da Quiagen. As quantidades necessárias de DNA foram obtidas após algumas adaptações. No primeiro passo as amostras foram resfriadas em nitrogênio líquido e piladas com pistilo virgem, sendo em seguida adicionados os reagentes do primeiro passo, agitados com powerbeads e acrescentando proteinase K. Depois deste último passo se manteve as amostras em banho maria overnight a 80°C. Os passos seguintes foram de acordo com o protocolo do kit de extração.

O gene RNAr 16S foi sequenciado na plataforma MiSeq, com a metodologia pair-end. Os primers utilizados foram OS X e Y desenhados para amplificar a região V4 do RNAr 16S de procariotos. O sequenciamento foi realizado na empresa Macrogen, Inc. A separação das sequências entre suas respectivas amostras foi realizada com o software (PRECISO PERGUNTAR À IRENE). As sequências foram analisadas utilizando-se a metodologia de identificação de variantes de sequências amplificadas (Amplified Variation Sequence, ASV) implementada no pacote DADA2 1.16 para a plataforma R (CALLAHAN et al., 2016). A qualidade das sequências foi inspecionada, procurando manter um escore de qualidade mínimo de 30. As regiões de baixa qualidade foram excluídas. Posteriormente, as taxas de erro foram determinadas e utilizadas para eliminação de sequências de baixa qualidade, inferência das ASVs e junção das fitas líder e complementar da região amplificada. As potenciais quimeras foram removidas e a

taxonomia dos organismos foi realizada com o método classificador ingênuo de Bayes (naïve Bayesian Classifier) desenvolvido pelo Ribosomal Database Project (COLE et al., 2014) e utilizando-se da base de dados de sequências Silva versão 132 (QUAST et al., 2013).

A tabela de ASVs foi utilizada para análises estatísticas com o pacote phyloseq, também implementado na plataforma R (MCMURDIE; HOLMES, 2013). As análises dos dados de abundância das ASVs obtidas foram analisadas no ambiente R com os pacotes VEGAN (DIXON, 2003) e com os pacotes básicos do ambiente R. A abordagem de ASVs é uma abordagem mais moderna permitindo maior economia computacional em relação a abordagem de unidades taxonômicas operacionais (OTUs) além de incrementar a precisão nas identificações com um maior controle de erros e maior resolução (CALLAHAN; MCMURDIE; HOLMES, 2017).

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

A comunidade microbiana associada a populações de *Solenopsis invicta* existentes no SIPA é dominada pelo Filo Proteobacteria excetuando-se os indivíduos do ninho 13 que é dominado por Bacteroidetes (Figura 13). Foram registrados 7 Filos com abundância relativa superior a 3% sendo Proteobacteria o mais abundante estando presente em todas as amostras com uma abundância média de 57,34% variando entre 92,64% e 18,25%. O segundo filo mais abundante foi Actinobacteria estando presente em 14 dos 15 ninhos com uma abundância média de 14,26% e uma abundância máxima de 56,52%. O terceiro mais abundante foi Bacteroidetes presente em 8 das 14 amostras com abundância média de 11,61% e máxima de 63,64% na única amostra não dominada por Proteobacteria. Em seguida estão Firmicutes, Cyanobacteria/Cloroplasto e Verrumicrobia com 7, 5 e 2 ocorrências em 14 amostras respectivamente.

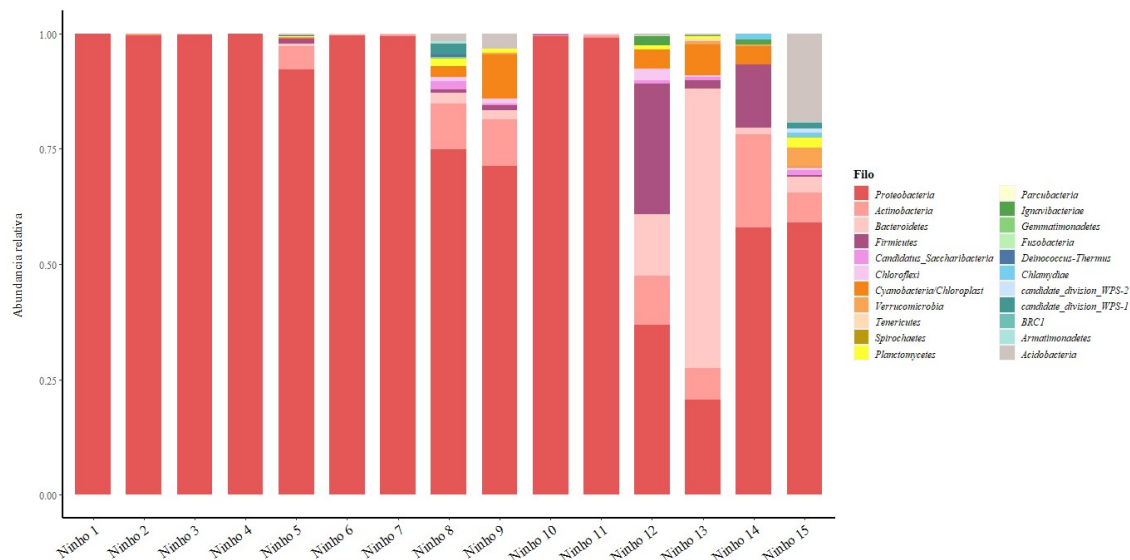


Figura 13. Composição dos filos por ninho (n=15).

Foram detectadas 47 famílias com abundância superior a 3% em ao menos uma amostra (Figura 14). As famílias mais abundantes foram Enterobacteriaceae e Moraxellaceae estando presente em 8 das 15 amostras, com abundância média de 8,78% e 8,01% e uma abundância máxima de 38,06% e 33,07% respectivamente. Nocardioideaceae esteve presente em 7 das 15 amostras, seguida por Bacillaceae_1 presente em 6 amostras, por Bradhyrhizobiaceae com cinco ocorrências e por Streptophyta, Sphingomonadaceae e Pseudomonadaceae presentes em 4 de 15 amostras.

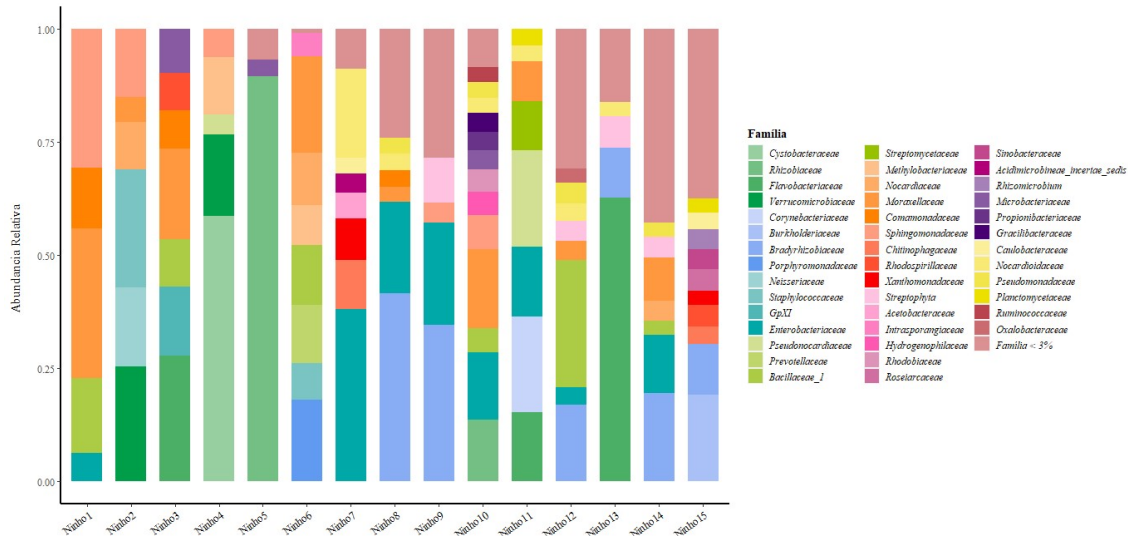


Figura 14. Composição de Família por ninho (n=15). Estão representadas apenas Famílias com abundância maior que 3%.

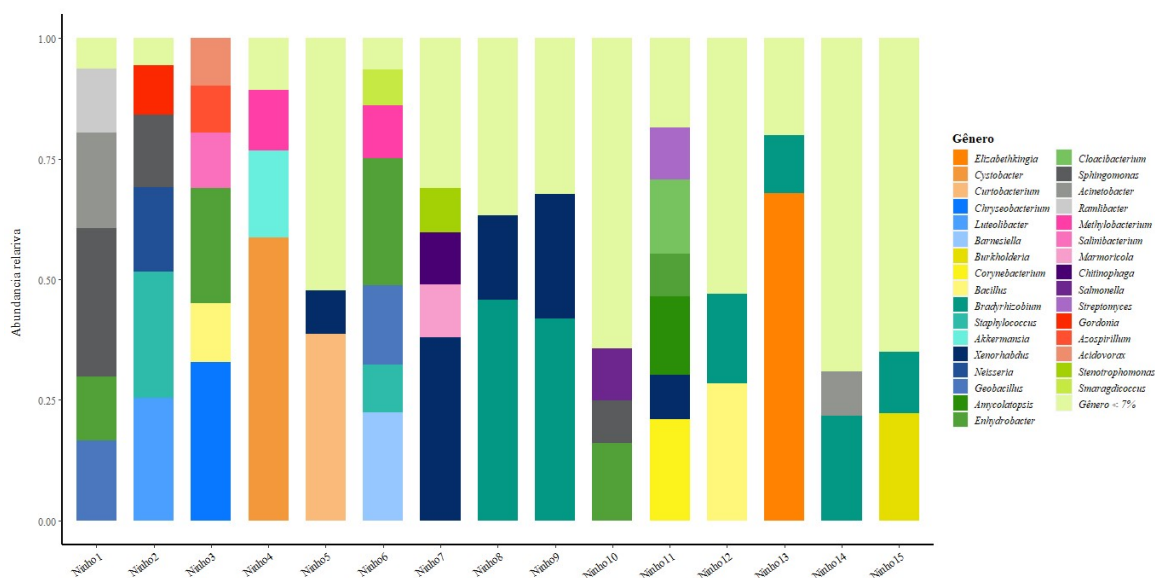


Figura 15. Abundância relativa dos Gêneros por ninho (n=15). Para fins de visualização apenas estão representados apenas gêneros com abundância maior que 7%. O filtro de abundância para as análises foi de 3%.

No nível taxonômico de gênero temos bactérias já reconhecidas em outras situações seja em vida livre ou em simbiose como fixadoras de nitrogênio e/ou promotoras de crescimento. Além disso temos gêneros que abrigam bactérias patogênicas para humanos, bactérias fitopatogênicas e dois gêneros ao menos com bactérias com

registros na literatura de informações relacionadas a biologia de formigas. Destes sendo um gênero associado a nematoides entomopatogênicos de solo e outro com capacidade de conferir proteção contra fungos como descrito na lista abaixo. Várias das bactérias detectadas que possuem informação escassa sobre sua biologia ou com biologia não associada as outras classes aqui apresentadas são apresentadas na listagem a seguir como outras:

- Fixadoras de nitrogênio: *Burkholderia* (MANNAA; PARK; SEO, 2018), *Bacillus* (RADHAKRISHNAN; HASHEM; ABD ALLAH, 2017), *Bradyrhizobium* (DELAMUTA et al., 2016), *Chitinophaga* (SIROVÁ et al., 2014), *Sphingomonas* (ASAF et al., 2020), *Acinetobacter* (CHAUDHARY et al., 2012; KUAN et al., 2016), *Methylobacterium* (SÁNCHEZ-LÓPEZ et al., 2018), *Pseudomonas* (FOX et al., 2016b), *Streptomyces* (DAHAL et al., 2017), *Azospirillum* (FUKAMI; CEREZINI; HUNGRIA, 2018).
- Promotoras de crescimento (PGPR): *Acidovorax* (LI et al., 2012), *Chitinophaga* (ZHANG et al., 2019), *Enhydrobacter* (SÁNCHEZ-LÓPEZ et al., 2018), *Ramlibacter* (SKOURI-PANET et al., 2018), *Gordonia* (KAYASTH; KUMAR; GERA, 2014), *Stenotrophomonas* (RAMOS et al., 2011; SINGH; JHA, 2017), *Luteolibacter* (ZADEL et al., 2020), *Chryseobacterium* (DARDANELLI et al., 2010), *Comamonas* (SHARMA et al., 2017), *Corynebacterium* (MAHESHWARI; DHEEMAN; AGARWAL, 2015), *Staphylococcus* (AKRAM et al., 2016), *Curtobacterium* (VIMAL; PATEL; SINGH, 2019)
- Com potencial de patogenicidade em humanos: *Elizabethkingia* (LAU et al., 2016), *Neisseria* (CAUGANT; BRYNILDSRUD, 2020; JANE QUILLIN; STEVEN SEIFERT, 2018), *Salmonella* (GAST; PORTER, 2020), *Staphylococcus* (POLLITT et al., 2018).
- Potencial de patogenicidade em plantas: *Acidovorax* (BURDMAN; WALCOTT, 2018), *Curtobacterium* (SOARES et al., 2018).
- Simbionte de nematoides entomopatoênicos de solo e tida como repelente para formigas: *Xenorhabdus* (GULCU; RAJA; HAZIR, 2017).

- Ação antifúngica em ninho de formigas cultivadoras de fungo (Attini) protegendo o jardim de fungos: *Amycolatopsis* (SEN et al., 2009).
- Outras: *Akkermansia* – comum no microbioma do intestino humano (CANI; DE VOS, 2017), *Barnesiella* – microrganismos benéficos abundantes no trato gastrointestinal de humanos (FIELDING et al., 2019; UBEDA et al., 2013), *Cystobacter* – fonte de antibióticos (AKBAR; DOWD; STEVENS, 2017), *Geobacillus* – produção de celulase e xilanase (BIBRA; KUNREDDY; SANI, 2018; POTPROMMANEE et al., 2017), *Marmoricola* – comum em solos com presença de sódio e manguezais (JIANG et al., 2018), *Salinibacterium* - actinobactéria halofílica (ANANDAN; DHARUMADURAI; MANOGARAN, 2016), *Smaragdicoccus* – carece de informações além de sua taxonomia, a espécie tipo foi descrita em 2007 (KASAI, 2015).

Todas as amostras possuem ao menos um gênero com registros de fixação biológica descritas conhecida para alguma espécie com ocorrendo com abundância relativa superior a 3% sendo usado o valor de 7% apenas para fins de visualização dos dados (Figura 15). Os gêneros que abrangem espécies com capacidade conhecida de fixação de nitrogênio compõem em média 26,24% dos gêneros presentes nas amostras, variando de uma abundância de 9,62% no ninho 5 a 51,08% no ninho 12. Para os gêneros com ao menos uma espécie com capacidade de promoção de crescimento de plantas (PGPR) seja por solubilização de minerais, imobilização de metais, produção de hormônios dentre outros (CHAPARRO et al., 2012) se observa uma média de 20,14% com uma variação entre a não ocorrência (ninhos 4, 9, 13, 14 e 15) e 67,46% (ninho 2).

Apesar de ter seus dados incluídos na discussão da abundância de Filo, Família e Gêneros de bactérias o ninho 8 (amostra 8) foi eliminado das análises e não faz parte da discussão a seguir pois a injeção da amostra no FID foi perdida, desta forma as análises de regressão apresentadas mais adiante não usam os dados de abundância dos gêneros presentes no ninho 8.

Quanto aos dados da análise de redução de acetileno se observou que os frascos sem acetileno, assim como os frascos com formiga sem adição de acetileno e os frascos que continham apenas ar atmosférico não apresentaram sinal de etileno. Os frascos com

formigas vivas expostas ao acetileno invariavelmente apresentaram sinal de redução de acetileno. Ou seja, os frascos com formigas expostas ao acetileno apresentaram picos de produção de etileno claramente distintos dos frascos testemunha com acetileno e sem operárias. Excluindo os estudos preliminares foram analisadas 45 amostras no total oriundas de duas coletas tendo sido perdida a amostra do ninho 8 da segunda coleta sendo portanto consideradas apenas 44 amostras. Destas a produção de etileno variou de de 1 nmol de $C_2H_4 \cdot h^{-1}$ a 45 nmol de $C_2H_4 \cdot h^{-1}$ com uma média de 23 nmol de $C_2H_4 \cdot h^{-1}$. A fixação de nitrogênio variou de 0,08 a 32,33 nmol de N fixado. g (peso úmido). h^{-1} com uma média de 4,3 nmol de N fixado. g (peso úmido). h^{-1} . O peso úmido dos grupos de formigas expostas ao acetileno obtido após a exposição ao acetileno variou de 0,25g a 3,88g com uma média de 1,62g.

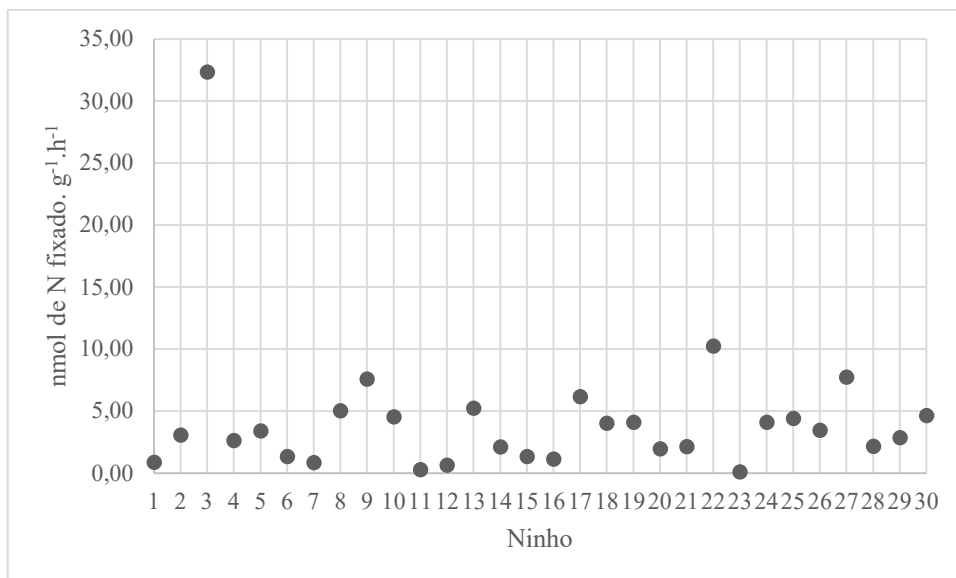
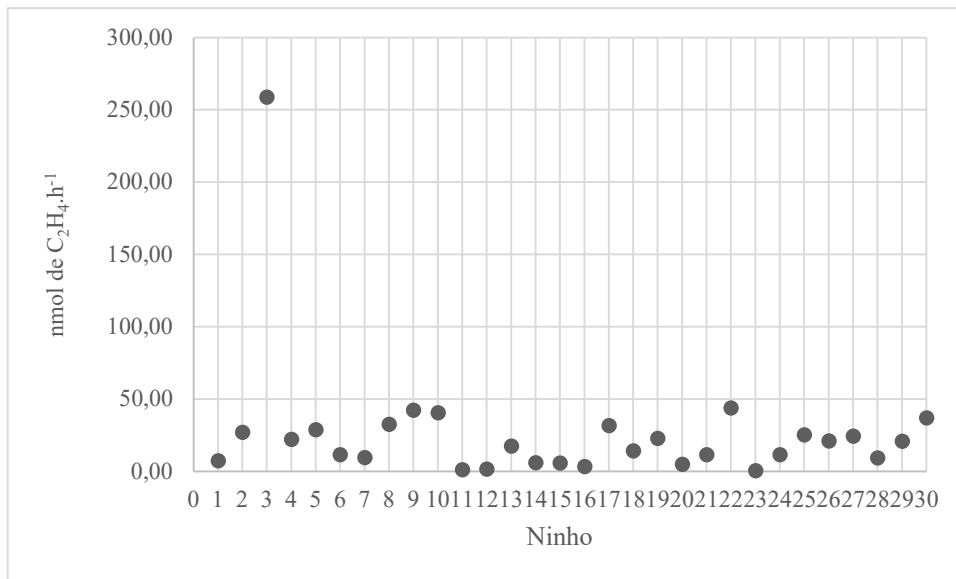


Figura 16. Gráficos dos resultados da ARA do primeiro conjunto de amostras (n=30).

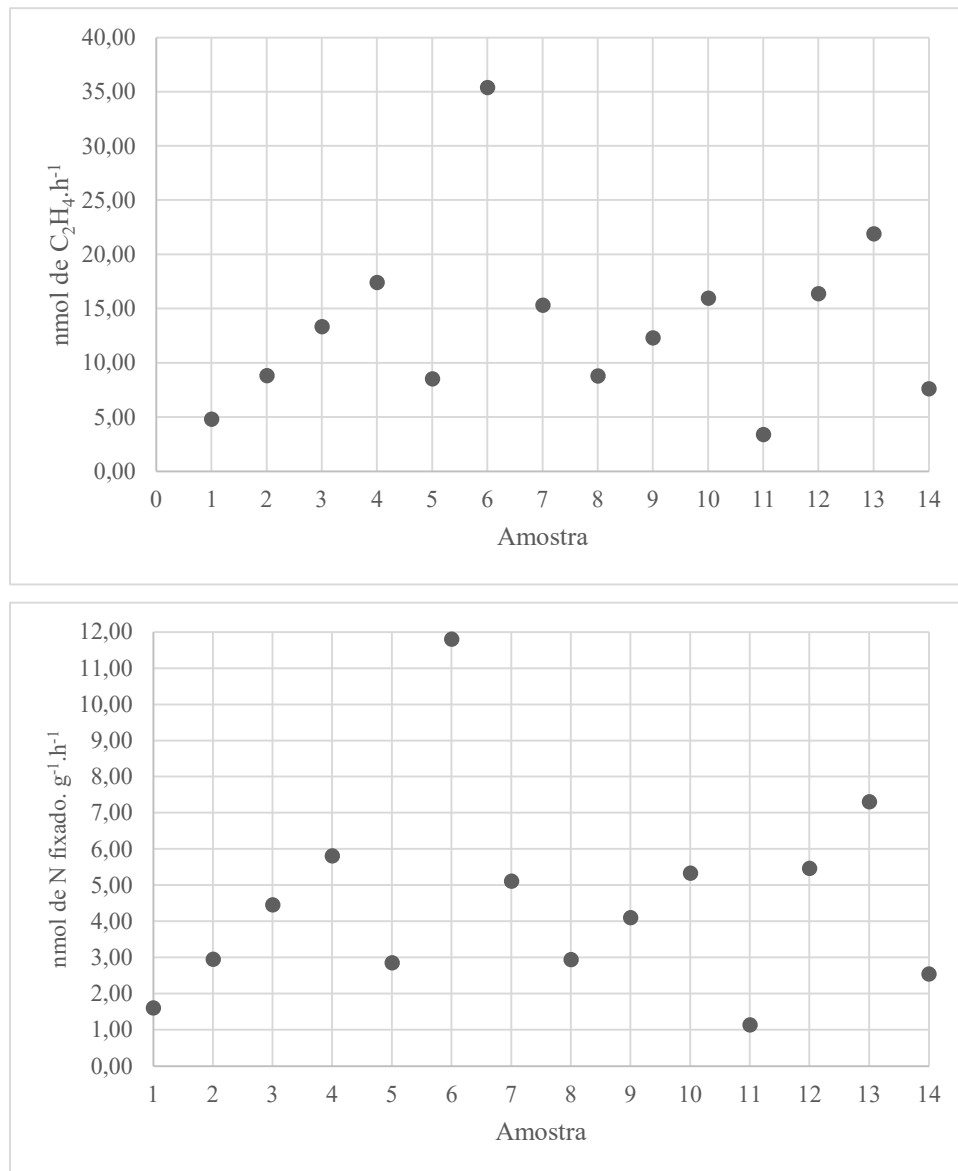


Figura 17. Gráficos dos resultados da ARA do segundo conjunto de amostras ARA (n=14). Estas amostras são as que se pode obter os dados para o sequenciamento de DNA e identificação das bactérias associadas a *Solenopsis invicta*.

Sendo as variáveis dependente fortemente correlacionadas pois são a exceção do peso úmido todas derivadas da quantidade de etileno produzido foram implementadas duas correlações lineares entre a abundância de cada gênero com abundância superior a 3% e as variáveis quantidade de etileno produzido (C₂H₄ ppm) e nitrogênio fixado por grama de peso úmido por hora (nmol Nfixado. g⁻¹ peso úmido.h⁻¹). De todos os gêneros testados apenas dois gêneros *Bradyrhizobium* e *Sphingomonas* apresentaram correlação com a quantidade de nitrogênio fixado e com a quantidade de etileno produzido, sendo

que ambos abrigam bactérias com capacidade de fixação de nitrogênio ao menos em condições distintas das encontradas aqui.

A teste de regressão linear entre a abundância de *Bradyrhizobium* em relação a variável etileno produzido foi significativa ($p = 0,0012$, $R^2 = 0,5929$) o mesmo acontecendo com *Sphingomonas* ($p = 0,0021$, $R^2 = 0,6943$). Ao se testar as mesmas abundâncias contra a variável nitrogênio fixado os resultados se mantiveram significativos tanto para *Bradyrhizobium* ($p = 0,0025$ $R^2 = 0,5464$) quanto para *Sphingomonas* ($p = 0,00434$ $R^2 = 0,506$).

5 CONCLUSÕES

O ensaio de redução de acetileno é hábil para detectar a fixação biológica de nitrogênio porém para se confirmar com maior exatidão a ocorrência de FBN em *Solenopsis invicta* ao menos um de dois outros métodos considerados mais precisos deveriam ter sido empregados o método do N_{15} e a detecção da expressão dos genes *nif*. Não obstante a hipótese de que há fixação encontra sustentação em 44 amostras com sinal de redução de acetileno sendo que destas 14 amostras, que corresponde ao conjunto das que foi possível identificar as bactérias presentes teve em todas elas a presença de bactérias de gêneros com espécies conhecidas por fixar dinitrogênio em situações distintas seja em vida livre, seja na rizosfera, em colmos ou ainda em nódulos. Outra evidência é a correlação da abundância dos gêneros *Sphingomonas* e *Bradyrhizobium* - dois gêneros que também abrigam bactérias fixadoras e que são abundantes nas amostras - seja com o etileno produzido ou a quantidade de nitrogênio fixado. Com cautela creio que seja possível afirmar que está ocorrendo a FBN na população de *Solenopsis invicta* existente na SIPA e que espera-se que em breve de posse dos resultados das análises da expressão dos genes *nif* se possa dirimir as dúvidas a respeito desta possibilidade que seria o primeiro registro de FBN no grupo com maior biomassa entre os insetos e onipresente em todos os agroecossistemas.

CAPÍTULO III

PLANTAS ATRATIVAS E A COMUNIDADE DE FORMIGAS EDÁFICAS

RESUMO

PLANTAS ATRATIVAS RESUMO

Palavras chave: nonoononono

ABSTRACT

1 INTRODUÇÃO

Com o crescente interesse por alimentos mais saudáveis, livres de agrotóxicos, rastreáveis e que causem menos impacto ao agroecossistema e a premente e real necessidade de se implantar uma agricultura menos dependente de insumos externos, mais eficiente no uso de energia não renovável e que seja de forma ampla mais econômica é desejável que o uso de serviços ambientais seja intensificado.

Para que um serviço ambiental seja intensificado ele deve ser em algum momento iniciado e para que seja iniciado precisa ser reconhecido como tal e deve ter seus pormenores conhecidos. Será este serviço replicável, em qual escala o mesmo passa a atuar, em qual escala o mesmo cessa de ser perceptível, quais os organismos envolvidos, quais fatores ambientais podem ampliar ou suprimir os organismos responsáveis pelo serviço esperado?

Um dos serviços ambientais utilizados voluntária ou involuntariamente pela agricultura é o promovido por inimigos naturais capazes de consumir quantidades consideráveis de organismos com potencial de se tornarem pragas para espécies cultivadas. Estes inimigos naturais podem ser criados em laboratório e introduzidos nas áreas de interesse sendo esta a abordagem mais comum. Neste estudo, que é um recorte de um estudo que abordou organismos já amplamente aceitos como controle biológico como os coccinelídeos e percevejos predadores, foi testada a ocupação de áreas cultivadas com plantas atrativas por formigas que em grande parte são predadores generalistas o que as torna por sua vez organismos com potencial de controle biológico de ocorrência natural.

2 REVISÃO DE LITERATURA

Em sistemas agrícolas com orientação conservativa, o enriquecimento florístico através da diversificação de cultivos ou do plantio de espécies atrativas ou que sirvam de refúgio para inimigos naturais pode emular uma condição anterior de diversidade mantendo os serviços ambientais de alguns insetos benéficos e prejudicando a reprodução ou dispersão de insetos praga em sistemas "*push-pull*" – (MIDEGA et al., 2008, 2009) ou "*trap cropping*" (SHELTON; BADENES-PEREZ, 2006). Até mesmo o uso de plantas com a função de cobertura do solo podem ter efeitos benéficos que vão além da proteção

contra a erosão alterando a dieta de predadores generalistas como as formigas (MOLLOT et al., 2014).

A função dos plantios de cobertura em agroecossistemas os visam reduzir os impactos ambientais negativos da agricultura e prover serviços ambientais, sendo cultivados visando reduzir a lixiviação do nitrogênio, servir de adubação verde, incrementar a produção de biomassa para incorporação de carbono ao solo, promover controle de vegetação espontânea e fixação de nitrogênio (TRIBOUILLOIS et al., 2015). O controle de populações de organismos potencialmente danosos as culturas agrícolas de maneira planejada ou incidental também é uma das funções dos plantios de cobertura (ALTIERI; SCHMIDT, 1985; LESLIE et al., 2017) e a interface entre os plantios de cobertura e as formigas (Hymenoptera: Formicidae) é o assunto desta breve revisão.

As formigas são um grupo de insetos eussociais hiperdiverso, com ampla distribuição e tidos como a maior biomassa dentre os artrópodes e estão comumente dentre os maiores predadores de outros artrópodes inclusive em agroecossistemas (FLOREN; BIUN; LINSENMAIR, 2002; LAPOLLA et al., 2002; NOVOTNY et al., 1999; OZAKI; TAKASHIMA; SUKO, 2000; WARD, 2007; WAY; KHOO, 1992). São reconhecidas como engenheiros do ecossistema e agentes importantes de bioturbação e como componentes dos agroecossistemas contribuem para seu funcionamento e sustentabilidade (BENCKISER, 2010; BOULTON; AMBERMAN, 2006; MARICHAL et al., 2014; MARÍN; JACKSON; PERFECTO, 2015).

Comumente as formigas são estudadas em contexto de desserviços e não de serviços ambientais, nos quais são amplamente relevantes (WIELGOSS et al., 2014). Destaca-se também que em um universo de mais de 12000 espécies de formigas apenas poucas espécies têm algo mais do que sua taxonomia definida, isto é, pouco se sabe sobre sua ecologia ou fisiologia limitando assim a compreensão a respeito de seus potenciais na prestação de serviços ambientais (DEL TORO; RIBBONS; PELINI, 2012).

Dentre os efeitos benéficos já registrados para Formicidae em agroecossistemas sabe-se que em lavouras de café foi observada a relação benéfica entre aranhas do gênero *Pocobletus* sp. e formigas arbóreas *Azteca sericeasur*. Neste caso as aranhas – importantes predadores – tem sua abundância positivamente correlacionadas com a presença desta formiga (MARÍN; JACKSON; PERFECTO, 2015). São conhecidos efeitos diretos e indiretos no controle biológico de diversas espécies incluindo o bicudo do algodoeiro, lagarta da soja e mosca branca em diferentes tipos de cultivo agrícola e áreas de pastagem (EUBANKS, 2001). Se conhece também ações de controle da broca

do café (ARMBRECHT; GALLEGU, 2007). Foram descritos efeito repelente em *Raphidopalpa foveicollis* (Coleoptera: Chrysomelidae) (AGARWAL; RASTOGI, 2008), predação de larvas de curculionídeos em citros (STUART; JACKSON; MCCOY, 2003) e moleque da bananeira em bananais com plantio de braquiária para cobertura do solo (MOLLOT et al., 2014).

A distribuição das formigas depende da disponibilidade de recursos alimentares, locais disponíveis para nidificação e ocorrência de perturbações e variações no microclima, em especial variações na umidade do solo, sendo que o uso de agrotóxicos e práticas de manejo do solo como a aração tendem a influenciar significativamente na composição e atividade da mimercofauna geralmente resultando em uma diversidade menor de espécies em áreas cultivadas (KASPARI; WEISER, 2000; LEVINGS; FRANKS, 1982; LOBRY DE BRUYN, 1999).

Já em ambientes naturais as plantas mirmecófitas são um modelo passível de gerar informações para se entender as relações entre plantas não estritamente mirmecófitas, chamadas mirmecófilas (HEIL; MCKEY, 2003). As mirmecófilas possuem estruturas como nectários extraflorais (EFNs) e corpos alimentares (*food bodies*, *pearl bodies*) que possuem basicamente três tipos e duas origens celulares, tricomas e células do parênquima (BENTLEY, 1977; O'DOWD, 1982). Estas estruturas não são exclusivas de plantas não domesticadas estando presente em gêneros como *Andropogon*, *Piper*, *Gossypium*, *Manihot*, *Ipomoea*, *Hevea*, *Ricinus*, *Passiflora*, *Pyrus*, *Vitis* e *Vicia* (BENTLEY, 1977; O'DOWD, 1982). A simbiose observada entre as formigas e as mirmecófitas são produto de uma coevolução e incluem além da proteção contra herbivoria, alimentação e transporte, podendo variar em intensidade de uma relação oportunista a uma facultativa chegando até uma relação obrigatória no caso de plantas com domáceas (HEIL; MCKEY, 2003).

Na situação mais comumente encontrada em agroecossistemas as relações tendem a ser não simbióticas, com plantas mirmecófilas que oferecem recompensas alimentares como dito anteriormente através de EFNs e tricomas secretores estabelecendo assim relações facultativas e oportunistas e sem oferecer locais para a nidificação na própria planta como nas mirmecófitas (HEIL; MCKEY, 2003). Dentre as plantas utilizadas como adubo verde e plantas de cobertura temos a presença de EFNs nas leguminosas *Mucuna*, *Pueraria*, *Calopogonium*, *Canavalia*, *Chamaecrista*, *Crotalaria*, *Dolichos*, *Indigofera*, *Lotus*, *Phaseolus*, *Pueraria*, *Senna*, *Vicia*, *Vigna*, e na gramínea *Penissetum* (HARVEY, 2009; LERSTEN; BRUBAKER, 1987; WEBER; PORTURAS; KEELER, 2015).

Os agroecossistemas mesmo os conduzidos com manejo conservacionista (orgânico, biodinâmico, natural) são ecossistemas perturbados (PERFECTO; VANDERMEER, 2010). A variação no regime de perturbações afeta o funcionamento e a estrutura das comunidades, reduzindo a diversidade de formigas que usualmente forrageiam na serapilheira, assim como as das que nidificam no solo e na serapilheira, aumentando assim a abundância dos grupos que forrageiam na vegetação e em áreas abertas (KWON; LEE; SUNG, 2014). No caso dos agroecossistemas tais perturbações tentem a resultar em danos relevantes em cultivos comerciais ou de subsistência ao beneficiar guildas de formigas que são hábeis em explorar áreas abertas. Nas condições brasileiras temos as cortadeiras representadas pelas saúvas (*Atta* sp.) e as quenquém (*Acromyrmex* sp.) e as formigas de fogo (*Solenopsis* sp.) que perfazem praticamente a quase totalidade das formigas notadas pelos agricultores seja pelo dano aos cultivos das duas primeiras ou seja pela picada dolorosa da última. Mas os efeitos perceptíveis apenas com a elaboração de questões científicas mostram que os efeitos vão além das picadas e destruição de cultivos, como as pilhas de despejo de resíduos da formigas *Acromyrmex lobicornis* que são responsáveis por um incremento na atividade da microbiota, medida através da emissão de CO₂, em até 160 vezes quando comparada a superfícies sem influência recente das formigas (FERNANDEZ; FARJI-BRENER; SATTI, 2014), ou ainda em um incremento no intemperismo de rochas silicatadas na ordem de mais de 300 vezes (DORN, 2014).

Como muitos outros organismos, as formigas são afetadas pela ação antrópica e suas comunidades por vezes são severamente simplificadas (HOLWAY; SUAREZ, 2006) e em geral apenas estas comunidades simplificadas são notadas pelos agricultores e pesquisadores da área agrícola. Conservar a agrobiodiversidade fora das "áreas de conservação" e manter ou incrementar a produção agrícola através desta conservação é um desafio que vem sendo colocado aos profissionais que manejam agroecossistemas em busca de um melhor manejo do solo favorecendo a manutenção de seu componente vivo (ISBELL et al., 2015; LAL, 2016; LAVELLE, 2014).

Uma das soluções deste desafio passa pelo cultivo de cobertura (SCHIPANSKI et al., 2014) que tende a fazer o uso de serviços ambientais de ocorrência natural que geralmente passam despercebidos ou são subestimados mas que possuem efeitos positivos sobre os cultivos (EVANS et al., 2011).

Os cultivos de cobertura tendem incrementar a biodiversidade do solo e se bem planejados e manejados podem controlar pragas específicas tanto pelo aumento e

manutenção de populações de predadores como de parasitóides (ALTIERI; SCHMIDT, 1985). O uso de plantas de cobertura aumenta a oferta de biomassa que pode ser traduzida em uma nova fonte de energia para o agroecossistema e alterar as chances de pragas se tornarem presas de predadores generalistas como observado em bananais onde o uso de plantas de cobertura aumentou o sucesso de *Solenopsis geminata* em capturar *Cosmopolites sordidus* (Coleoptera, Curculionidae) (MOLLOT et al., 2012). O aumento de permeabilidade da matriz e alteração do microclima na superfície do solo tem efeitos não só na dieta das formigas mas na dieta dos predadores em geral (MOLLOT et al., 2014). É notável que nos dois últimos exemplos a planta utilizada como cobertura, a braquiária (*Urochloa*), não possui nectários ou corpos alimentares o que não inviabiliza a percepção de efeitos positivos no controle de pragas.

Em contraste foi observado um efeito neutro dos plantios de cobertura, a saber *Pisum sativum* e *Secale cereale* sobre predadores em áreas de cultivo milho transgênico com aplicação de herbicidas no estado de Michigan (E.U.A.) para geração de bioenergia onde há a remoção da planta inteira (FOX et al., 2016a). Trata-se de um sistema localizado em um dos extremos da gama de utilização de plantios de cobertura. Fica evidenciado que o mero plantio de cobertura por si só não carregam a solução final para a degradação dos agroecossistemas e a perda da biodiversidade em especial no tocante as espécies de artrópodes predadores e parasitóides onde devem ser observadas as condições físicas, ou seja, não se pode solicitar ajuda ou fornecer abrigo a organismos que estão fora de alcance do sinal emitido ou que não possuam meios de entender e responder ao sinal recebido (MITHÖFER; BOLAND, 2016; SHANNON, 1948). Este “efeito” neutro, apesar de não ter sido tratado assim pelos autores, acaba por reforçar a necessidade do manejo adequado do entorno, ou seja da matriz agroecológica na qual os cultivos econômicos e de cobertura estão ou serão implantados (PERFECTO; VANDERMEER, 2010; TSCHUMI et al., 2016).

Mas nem sempre os exemplos são desanimadores. Um destes é a predação de sementes de plantas espontâneas por besouros carabídeos foi incrementada em 73% quando comparada a áreas com solo exposto (BLUBAUGH et al., 2016). Estes besouros são onívoros e a capacidade de se alimentar de sementes os mantém na área ao permitir que sobrevivam em momentos onde a disponibilidade de artrópodes presa esteja reduzida (BLUBAUGH et al., 2016). De maneira similar raras são as formigas estritamente predadoras e seria razoável esperar que os cultivos de cobertura aumentem a chance de permanência em sua área de influência de formigas onívoras, incluídos aqui de maneira

semelhante as formigas que assim como os carabídeos possuem hábitos como predação de sementes em momentos de escassez de presas (CARROLL; JANZEN, 1973).

Em outra circunstância em um pomar de pera (*Pyrus*) com cultivos de leguminosas como plantas de cobertura, foi aspergida nas plantas de cobertura uma solução com albumina de ovo para permitir a posterior detecção de antígeno estranho aos artrópodes e ao ambiente através do teste ELISA (HORTON; JONES; UNRUH, 2009). Mais de 90% dos predadores generalistas dos grupos Heteroptera, Coccinellidae, Chrysopidae e Araneae coletados nas plantas de cobertura adquiriram o marcador de albumina de ovo e entre 17 a 29% dos coletados na copa apresentavam sinais de terem forrageado ou se originado no cultivo de cobertura com leguminosas (HORTON; JONES; UNRUH, 2009). Os autores não fazem referência a formigas, o que é compreensível que do já se sabe que uma das possíveis causas da maior abundância de presas pouco móveis como as larvas de Lepidoptera no hemisfério norte se deve a uma menor abundância e atividade de artrópodes predadores em especial de formigas arbóreas nesta parte do globo (NOVOTNY et al., 1999; ROSLIN et al., 2017).

Mas de nenhuma forma os resultados sobre os efeitos dos plantios de cobertura são triviais. O efeito dos experimentos dos plantios de cobertura podem não refletir na produtividade da cultura ou nos artrópodes predadores que exploram as folhas do cultivo mas podem ter efeitos positivos na biota do solo ou em parte da biota do solo como nematóides de vida livre (LESLIE et al., 2017). Talvez haja uma necessidade de adequação da experimentação agrícola nestes casos. No experimento de LESLIE e colaboradores (2017) todos os 4 tratamentos estavam conscritos a uma área de menos de meio hectare (0,45 ha) e os efeitos sobre a fauna de predadores e a produtividade pode ser dependente de fatores como continuidade e conectividade dos recursos e a presença de fontes próximas de inimigos naturais como frisado anteriormente (CHUST et al., 2003; KASPARI; WEISER, 2007). A interação predador presa também pode ser afetada pela capacidade de uso do habitat e escala, devendo-se ter parcimônia ao tirar conclusões para escalas distintas (MORRIS, 1987). A presença ou a ausência de coespecíficos também podem ser determinantes na atração de outros indivíduos oriundo de áreas próximas podendo representar o sucesso ou não da colonização de um habitat (AHLERING; FAABORG, 2009). Posso concluir que esta visão pontual não tem se mostrado adequada para o entendimento de como plantas podem atrair insetos úteis para sua proteção em agroecossistemas e há a necessidade de integração com áreas como a Ecologia de paisagens e a Ecologia química.

A comunicação química entre organismos se baseia em semioquímicos e feromônios, dois grandes grupos de substâncias orgânicas voláteis e instáveis. A comunicação química entre as plantas e os insetos, sejam predadores ou fitófagos, ocorre através dos semioquímicos que são moléculas com composição química diversa emitidas através de mecanismos que envolvem a detecção e resposta de padrões moleculares associados a danos (DAMPs - *damage associated molecular patterns*) (DURAN-FLORES; HEIL, 2014; REDDY; GUERRERO, 2004). Em feijão a capacidade de induzir resistência a doenças e a reconhecer danos na própria planta ou em plantas da mesma espécie próximas ocorre com os DAMPs estimulando a produção de ácido jasmônico que por sua vez estimula os EFNs, sendo que este estímulo pode ser previsto antecipadamente através da análise do perfil de radicais livres de oxigênio ou espécies reativas de oxigênio (DURAN-FLORES; HEIL, 2014). Como isto ocorre nas outras leguminosas que também possuem EFNs é algo a ser descrito, mas o estudo de DURAN-FLORES e HEIL (2014) demonstrou que a resposta é taxonomicamente dependente, sendo sensível até mesmo aos cultivares usados na elaboração do extrato. Se os danos as folhas induzem essa cascata de eventos culminando com o estímulo dos EFNs e estes estão presentes em diversas espécies de leguminosas usadas como adubação verde e cultivo de cobertura como o kudzu, a mucuna, a fava dentre outros, é de se esperar que este mecanismo seja útil para recrutar predadores capazes de deter o avanço de herbívoros (BENTLEY, 1977; HARVEY, 2009; KATAYAMA; SUZUKI, 2004; LERSTEN; BRUBAKER, 1987).

Os feromônios por sua vez são substâncias secretadas por um indivíduo que visa induzir uma reação específica em outro indivíduo coespecífico e a composição e a quantidade do feromônio podem variar conforme o sinal que se deseja emitir, da gravidade da situação enfrentada pelo emissor e a urgência da resposta requerida (CZACZKES; GRÜTER; RATNIEKS, 2015; WILSON, 1976). São crescentes as evidências de que as plantas se comunicam entre si através de sinais químicos (DURAN-FLORES; HEIL, 2014; HEIL; SILVA BUENO, 2007). A comunicação entre plantas, entre partes específicas da planta como as flores e insetos polinizadores (BAGGEN; GURR; MEATS, 1999), a emissão de compostos que atraiam nematóides predadores ou fitopatogênicos, a comunicação mesmo que involuntária entre insetos pragas e seus parasitoides e predadores são nós em uma rede de comunicação antiga (MITHÖFER; BOLAND, 2016). Estas redes inseridas nos agroecossistemas necessitam ser estudadas, compreendidas e conduzidas visando o aumento da sustentabilidade e saúde dos

agroecossistemas incluindo o ecossistema solo (DIXON et al., 2002; HEIL, 2014; HOOPER et al., 2005; PONGE, 2015, 2013; VAN DAM; BOUWMEESTER, 2016).

As teias de relações se tornaram tão intrincadas ao longo da evolução que insetos podem, ou melhor, necessitam, usar compostos de plantas como precursores de feromônios sexuais, ou seja, sem as plantas com seus compostos o sucesso reprodutivo de diversas espécies estaria praticamente inviabilizado (REDDY; GUERRERO, 2004). Com esses múltiplos sinais sendo emitidos simultaneamente o cenário hipotético mais prontamente imaginável pode ser um que inclua modelos de moléculas de semioquímicos e feromônios ao vento sendo dispersados e dissipados, porém esta sinalização é importante também no corpo do solo e possui implicações relevantes ao sucesso das culturas (VAN DAM; BOUWMEESTER, 2016). A conexão entre os processos acima e abaixo do solo sempre que possível deve ser levada em consideração pois dentre outros fatores muitas das pragas agrícolas passam parte de seu ciclo de desenvolvimento no solo (BARDGETT et al., 2005; BARDGETT; MOMMER; DE VRIES, 2014; VAN DER PUTTEN et al., 2009). Outra situação que ilustra a complexidade a ser desvendada é a interação entre formigas e a alteração da composição química de nectários em decorrência da visita das formigas aos nectários. Tal muança é mediada por mudanças no microbioma, mais especificamente pela inoculação de leveduras no momento da visita das formigas, leveduras estas que passam a consumir os açúcares presentes no néctar aumentando a concentração de frutose e glicose e reduzindo a de sacarose (DE VEGA; HERRERA, 2013). O quanto estas duas situações se replicam nas relações inseto-planta e em especial na relação formiga-planta é uma grande incógnita. É importante frisar que vários processos baseados em semioquímicos que sozinhos seriam ineficientes quando juntos, como em um cultivo diversificado e com uma diversidade de plantas de cobertura por exemplo tendem a formar uma proteção eficiente e robusta (PICKETT et al., 2014).

Devemos sempre nos atentar que a atração de insetos não é exclusiva para insetos benéficos e algumas relações podem não ser desejáveis para áreas cultivadas e o emprego de algumas plantas de cobertura deve ser pensado com zelo. Em um estudo de relações tri-tróficas envolvendo o feijão fava (*Vicia faba*) e a traça da batatinha (*Pthorimaea operculella*) uma praga importante, se observou que a visita aos nectários de *Vicia* resultaram em um incremento na longevidade de machos e fêmeas, aumento na duração do período de oviposição, na fecundidade e ainda na taxa média de oviposição e do número de ovos no ovário de fêmeas mortas (BAGGEN; GURR; MEATS, 1999). O emprego de uma planta com este potencial de favorecer uma praga relevante pode levar

a rejeição de uma prática útil e válida e é um risco em uma realidade onde poucos estudos existem a respeito para adubos verdes e plantas de cobertura nos trópicos.

Atualmente já existem produtos que podem ser aplicados para conferir resistência a plantas, chamados de elicitores ou fortalecedores de sinal como o BHT (SOBHY; ERB; TURLINGS, 2015). Apesar disto o uso de plantas atrativas é uma solução factível baseados em conhecimentos de ecologia química, ecologia de paisagens, interação inseto-planta e dinâmica de populações ou seja é uma opção viável que requer alto uso de conhecimento com capacidade de prover soluções e manter serviços ambientais que não podem ser obtidos com a aplicação de produtos (GABA et al., 2015; SHELTON; BADENES-PEREZ, 2006).

3 MATERIAL E MÉTODOS

3.1 Área de estudo

As coletas foram realizadas em experimento de campo implantado em área adjacente ao SIPA, o campo experimental da Embrapa Agrobiologia localizado em Seropédica, RJ (latitude 22° 44' S, longitude 43° 40' O e altitude em torno de 25 m), numa região da Baixada Fluminense de relevo levemente ondulado e com solo classificados como PLANOSSOLO.

3.2 Plantas utilizadas e desenho experimental

Foi instalado o experimento em blocos inteiramente casualizado com parcelas de 3,0 x 4,0 m, constituídas de 6 linhas espaçadas de 0,50 m e com 4,0 m de comprimento contendo as planta *Cosmos sulphureus* (Asteraceae), a *Canavalia ensiformis* (Fabaceae), a *Crotalaria spectabilis* (Fabaceae), *Foeniculum vulgare* (Apiaceae) (Quadro 1) e tendo como controle a vegetação espontânea. Dentre as quatro plantas cultivadas foram estabelecidos três níveis de consórcio conforme descrito na tabela 4.

Tabela 3. Número de plantas por linha (4m) adotado no plantio do experimento.

Tipo de cultivo	Espécies	Densidade (por linha)	Espaçamento entre plantas (cm)
Solteiro	<i>Crotalaria spectabilis</i>	15	7
	<i>Canavalia ensiformis</i>	3	33
	<i>Cosmos sulphureus</i>	4	25
	<i>Foeniculum vulgare</i>	2	50
Consórcio 1	<i>Crotalaria spectabilis</i>	15	27
	<i>Canavalia ensiformis</i>	3	133
	<i>Cosmos sulphureus</i>	4	100
	<i>Foeniculum vulgare</i>	2	200
Consórcio 2	<i>Crotalaria spectabilis</i>	20	20
	<i>Canavalia ensiformis</i>	4	100
	<i>Cosmos sulphureus</i>	5	75
	<i>Foeniculum vulgare</i>	3	150
Consórcio 3	<i>Crotalaria spectabilis</i>	30	13
	<i>Canavalia ensiformis</i>	6	67
	<i>Cosmos sulphureus</i>	8	50
	<i>Foeniculum vulgare</i>	4	100

As parcelas foram separadas entre si por uma distância de 5 metros lineares mantida livre de vegetação por capina mecânica periódica nas semanas distintas as das coletas. Foi utilizada irrigação por aspersão. De março a abril de 2017 a área foi mantida livre de vegetação com o uso de arado. Em 15 de maio foi feito o transplante das plantas de erva doce, crotalária e cosmos e no dia 23 do mesmo mês foi feito o plantio do feijão de porco. Nestas duas datas foi aplicado nos olheiros de saúva formicida para o controle de saúvas (Attamix 400P, Insetimax).

Foram realizadas cinco coletas da mirmecofauna ativa na superfície do solo mensalmente entre junho e outubro de 2017. As coletas foram realizadas com 38, 67, 99, 130 e 160 dias após o plantio respectivamente nos dias 22/06, 21/07, 22/08, 22/09 e 22/10/2017. Para tal foram instaladas armadilhas de queda tipo pitfall compostas de potes com 100mm de abertura enterrados ao nível do solo, contendo uma solução de formol a 1% mantidos em campo por sete dias. O material coletado foi levado ao Laboratório de Fauna da Embrapa Agrobiologia e os artrópodes foram separados por ordem e as formigas identificadas por gênero.

3.3 Análise estatística

Foi utilizada uma análise multivariada de variância permutacional (PERMANOVA) pois este teste não é sensível a presença de zeros na matriz, o que é comum com frequência no conjunto de dados. Este teste não paramétrico é usado para comparar grupos de objetos e testar a hipótese nula de que os centróides e a dispersão dos grupos, conforme definido pelo espaço de medida, são equivalentes para todos os grupos (ANDERSON, 2017). Foi utilizada a distância euclidiana para os cálculos utilizando o pacote Vegan no programa R (R CORE TEAM, 2018). Apesar de não ser um teste que não necessita de uma distribuição normal dos dados foi feita uma transformação $\log(n+1)$ nos dados de abundância devido a uma presença massiva de indivíduos de formiga de correição que superou mais de mil indivíduos em algumas amostras enquanto a maioria das demais formigas estavam na casa das dezenas (MCNATTY; ABBOTT; LESTER, 2009).

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Vários grupos de artrópodes foram coletados dentre eles o mais abundante foi Formicidae, sendo identificados 25.301 indivíduos de formigas incluindo operárias, machos e rainhas. Dentre as formigas se destacaram em ordem de ocorrência no total coletado os gêneros: *Labidus* (86%), *Wasmannia* (6,64%), *Pheidole* (2,85%), *Solenopsis* (1,39%), *Atta* (1,32%), *Dorymyrmex* (0,59%). Se optou por manter a identificação no nível taxonômico de gênero para as análises estatísticas com base no conceito de suficiência taxonômica que permite ao mesmo tempo que se retenha a informação e se reduza o tempo de laboratório e se evite erros com inconsistências na determinação de espécies ou morfotipos que são mais sujeitos a subjetividade do parataxomista (SOUZA; MOURA; FRANKLIN, 2009). Este último fator pode se agravar em gêneros como *Dorymyrmex* que possui cerca de 90 espécies muitas não descritas, apresenta variações de cor e ornamentação dentro da própria espécie e carece de uma chave taxonômica ampla para espécies (CUEZZO; GUERRERO, 2012).

O gênero mais abundante nas amostras pertence ao grupo das formigas legionárias ou de correição (KRONAUER, 2009), que são essencialmente predadoras de topo e se alimentam através de ações organizadas com um grande número de operárias em frentes

denominados *raids* (SCHNEIRLA, 1934) capazes de remover grande quantidade de biomassa de artrópodes modulando assim a fauna do solo e da serapilheira (KASPARI et al., 2011; SCHÖNING; MOFFETT, 2007; SOUZA; MOURA, 2008). Uma vez que o objetivo deste estudo é o de se entender a colonização de áreas com cultivos de plantas atrativas as formigas do gênero *Labidus* coletadas são tratadas neste estudo em separado das demais quanto a interpretação dos resultados pois são consideradas como não residentes. É necessário ressaltar ainda que sua presença é altamente desejável dado ao seu potencial de eliminar imaturos de artrópodes (KASPARI et al., 2011; KASPARI; O'DONNELL, 2003; ROBERTS; COOPER; PETIT, 2000). A maioria dos registros sobre *Labidus* e outras formigas de correição neotropicais remetem a áreas de floresta (KUMAR; O'DONNELL, 2009; ROBERTS; COOPER; PETIT, 2000; SCHNEIRLA, 1932). O acesso das *Labidus* ao local do experimento foi possível pois as mesmas se deslocam ao longo da vegetação espontânea remanescente a margem dos acessos e no entorno do experimento como observado pelo autor em 21/07/17 durante a implantação das armadilhas para a segunda coleta. Esta vegetação fornece aparentemente proteção suficiente contra a exposição solar e dissecação uma vez que estas forrageiam na superfície.

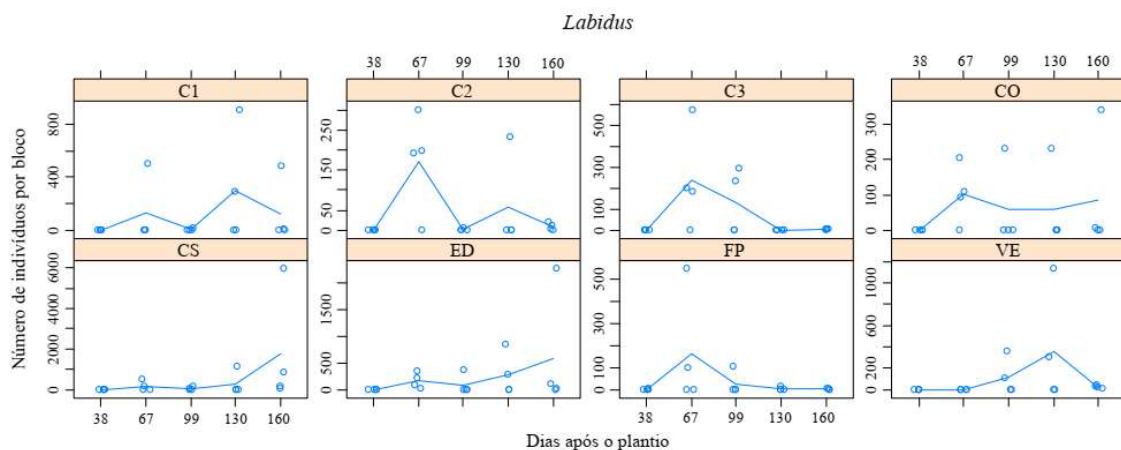


Figura 18. Número de indivíduos de *Labidus* coletados em cada bloco por tratamento (C1 – Consórcio 1, C2 – Consórcio 2, C3 – Consórcio 3, CO – Cosmos, CS – Crotalária, ED – Erva doce, FP – Feijão de Porco, VE – vegetação espontânea) nas cinco coletas representadas por dias após o plantio (38, 67, 99, 130 e 160).

O segundo gênero mais abundante *Wasmannia* é reconhecido por sua capacidade de dominar áreas antropizadas (FOUCAUD et al., 2009) e as evidências para explicar a dominância ecológica destas formigas se baseiam em um estudo experimental conduzido

com *Solenopsis invicta* Buren (KING; TSCHINKEL, 2008). Tal estudo utilizou um desenho fatorial com dois tipos de perturbação antrópica (aração e capina) e com ou sem a introdução de ninhos de *Solenopsis* e demonstrou que a perturbação, especialmente por aração reduz a abundância e diversidade de outras espécies de formigas que ocorrem no local de estudo e que o pior cenário é o onde foi feita a aração e a introdução de ninhos (KING; TSCHINKEL, 2008). Assim sendo ficou evidenciada a máxima de que “o inimigo de meu inimigo é meu amigo” e este princípio aparenta ter influenciado os resultados do presente estudo. *Wasmannia* foi detectada em todas as coletas e a na primeira, segunda e quinta coletas foram coletadas rainhas. Uma das formas deste gênero se dispersar inclui rainhas fundadoras de origem clonal ou não acompanhadas de operárias do ninho materno (FOUCAUD et al., 2009, 2010) e em meu estudo todas as vezes que foram coletadas rainhas de *Wasmannia* as mesmas foram coletadas com operárias. Outra possibilidade a ser verificada futuramente também baseada em uma informação existente para *Solenopsis* é que está descrita no capítulo II desta tese que se trata da capacidade de fixação biológica de nitrogênio. Advoga-se que esta capacidade apresentada por formigas com a presença de bactérias fixadoras de nitrogênio em seu microbioma pode vir a se confirmar como um holofenótipo importante para outros holobiontes com capacidade de colonizar áreas perturbadas.

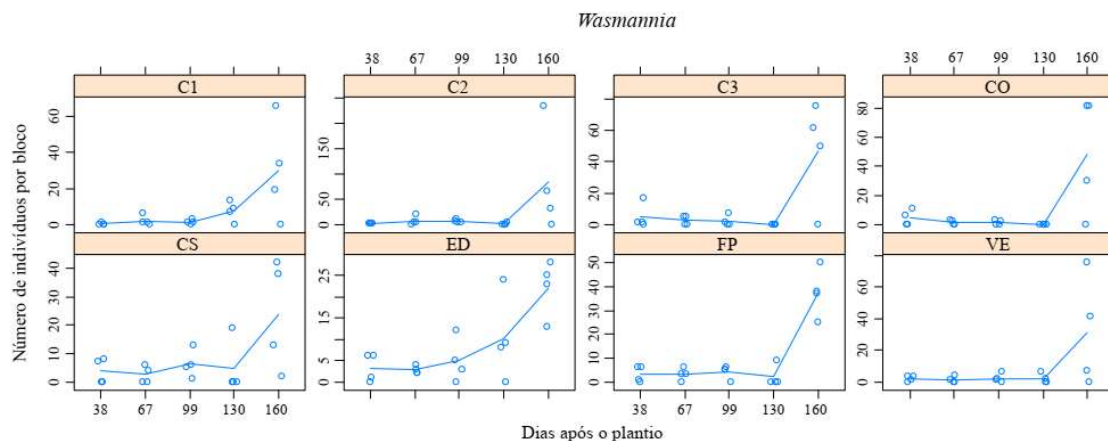


Figura 19. Número de indivíduos de *Wasmannia* coletados em cada bloco por tratamento (C1 – Consórcio 1, C2 – Consórcio 2, C3 – Consórcio 3, CO – Cosmos, CS – Crotalária, ED – Erva doce, FP – Feijão de Porco, VE – vegetação espontânea) nas cinco coletas representadas por dias após o plantio (38, 67, 99, 130 e 160).

O terceiro gênero e quarto gêneros mais abundantes, *Pheidole* e *Solenopsis*, tiveram rainhas detectadas nas amostras da quinta e última coleta o que indica a formação de colônias nas parcelas do experimento. Como a metodologia de armadilha de queda tipo *pitfall* coleta apenas as formigas ativas poderia suscitar o argumento de que estas rainhas fossem rainhas fundadoras, mais especificamente, rainhas que estariam chegando no local da parcela e foram coletadas enquanto buscavam um local de nidificação. Pessoalmente opto pela primeira interpretação pois colônias incipientes podem modificar o local do ninho o que não limita a coleta apenas a formigas oriundas de fora da parcela, ou seja de outras colônias. Outra evidência que reforça a interpretação escolhida de que se trata de rainhas de colônias já estabelecidas e logo testemunhas destas colônias é que em sua maioria estas foram coletadas com operárias do mesmo gênero.

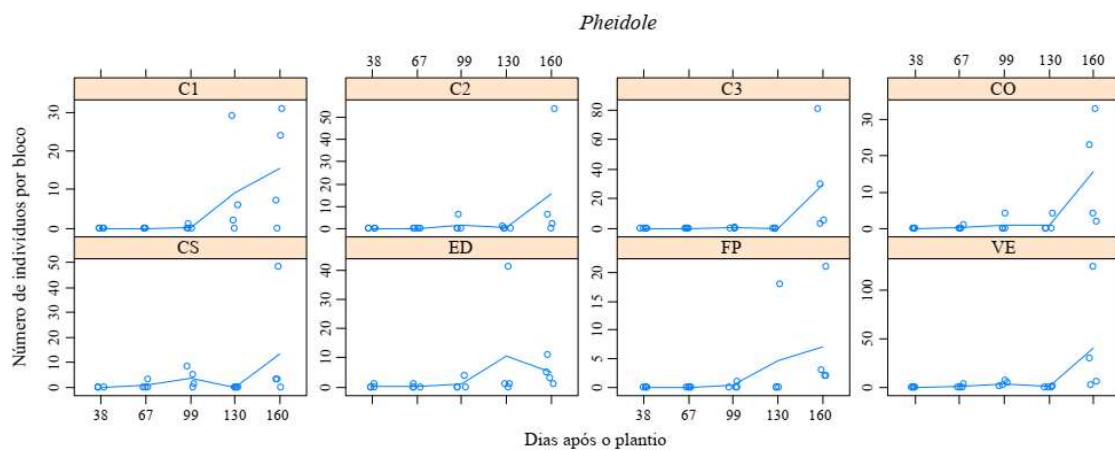


Figura 20. Número de indivíduos de *Pheidole* coletados em cada bloco por tratamento (C1 – Consórcio 1, C2 – Consórcio 2, C3 – Consórcio 3, CO – Cosmos, CS – Crotalária, ED – Erva doce, FP – Feijão de Porco, VE – vegetação espontânea) nas cinco coletas representadas por dias após o plantio (38, 67, 99, 130 e 160).

Pheidole é um gênero megadiverso com mais de mil espécies e com uma ampla plasticidade de comportamento e de formas de obtenção de recursos alimentares que variam do parasitismo social a predação (LACH; PARR; ABBOTT, 2010; MARÍN; JACKSON; PERFECTO, 2015; VAN DEN BERG, 1993) apresentando hábitos de nidificação em diferentes estratos inclusive no solo (BACCARO et al., 2015). O quarto gênero mais abundante foi *Solenopsis* que abrange as formigas conhecidas como lava-pés ou formigas de fogo, tidas como formigas generalistas mas com potencial de predação considerável dada sua capacidade de recrutamento (EUBANKS, 2001; MOLLOT et al., 2014; STILES; JONES, 2001). *Pheidole* e *Solenopsis* tendem a competir por recursos e

em alguns casos se conhece reações agressivas e de defesa elicitadas em ninhos de *Pheidole* apenas quando estes são atacados por *Solenopsis* (WILSON, 1976).

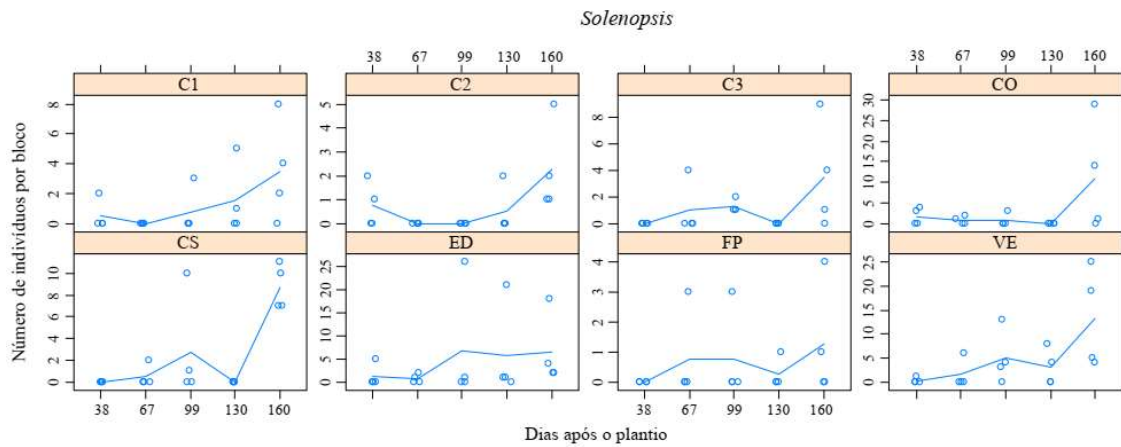


Figura 21. Número de indivíduos de *Solenopsis* coletados em cada bloco por tratamento (C1 – Consórcio 1, C2 – Consórcio 2, C3 – Consórcio 3, CO – Cosmos, CS – Crotalária, ED – Erva doce, FP – Feijão de Porco, VE – vegetação espontânea) nas cinco coletas representadas por dias após o plantio (38, 67, 99, 130 e 160).

O quinto gênero mais coletado foi *Atta* que corresponde a formigas cortadeiras conhecidas como saúvas. Estas como informado na metodologia foram alvo de controle químico no início do experimento, porém sua abundância flutuou pouco ao longo do experimento o que pode ser explicado pelo fato que a parte central de seu ninho estava localizado fora da área do experimento.

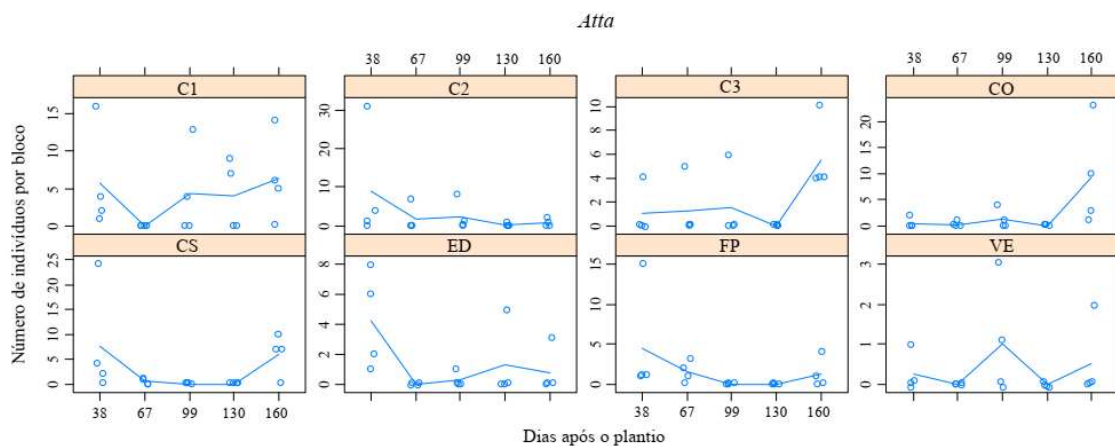


Figura 22. Número de indivíduos de *Atta* coletados em cada bloco por tratamento (C1 – Consórcio 1, C2 – Consórcio 2, C3 – Consórcio 3, CO – Cosmos, CS – Crotalária, ED – Erva doce, FP – Feijão de Porco, VE – vegetação espontânea) nas cinco coletas representadas por dias após o plantio (38, 67, 99, 130 e 160).

O sexto gênero em abundância foi *Dorymyrmex* comum em áreas abertas e com operárias que se movimentam rapidamente em busca de presas que podem incluir formigas aladas de outras espécies, apresentado ainda uma capacidade de forragear nas horas mais quentes do dia escapando da competição com outras espécies, pode apresentar ainda o hábito de ordenhar insetos sugadores (BACCARO et al., 2015; STUART; JACKSON; MCCOY, 2003). Apesar de ser considerado um grupo de formigas comum e com potencial para se tornarem dominantes em áreas perturbadas (GRAHAM et al., 2004) abriga também espécies raras e potencialmente ameaçadas (CUEZZO; GUERRERO, 2012).

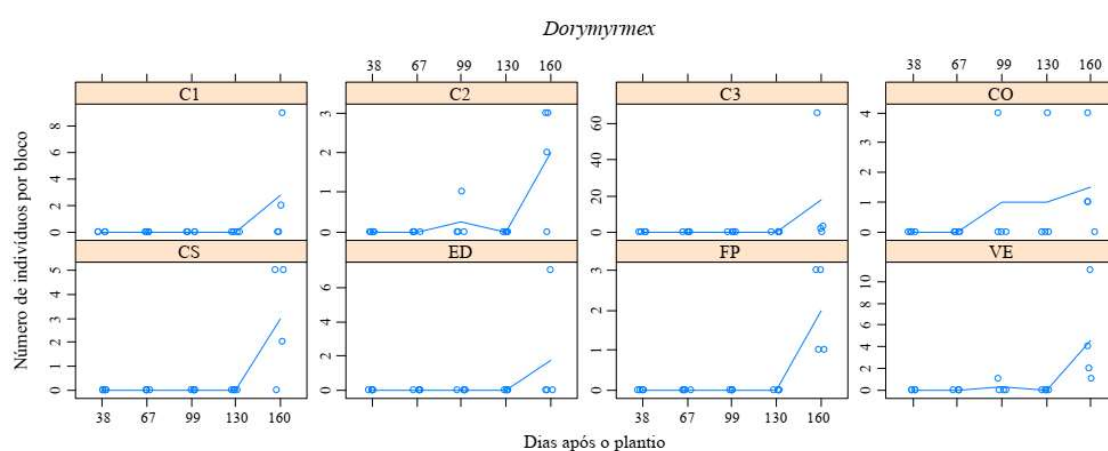


Figura 23. Número de indivíduos de *Dorymyrmex* coletados em cada bloco por tratamento (C1 – Consórcio 1, C2 – Consórcio 2, C3 – Consórcio 3, CO – Cosmos, CS – Crotalária, ED – Erva doce, FP – Feijão de Porco, VE – vegetação espontânea) nas cinco coletas representadas por dias após o plantio (38, 67, 99, 130 e 160).

Tabela 4. Resultado da PERMANOVA com dados das comunidades de formigas das cinco coletas.

	gl	SQ	SQM	Pseudo-F	R2	Pr(>F)	
BLOCO	1	0.2990	0.29904	37.859	0.02374	0.0237	*
COLETA	1	24.737	247.371	313.175	0.19638	1,00E-01	***
TRATAMENTO	7	0.5029	0.07184	0.9095	0.03992	0.5526	
Resíduos	118	93.206	0.07899		0.73995		
Total	127	125.963			100.000		

Ao coletar formigas edáficas no experimento com plantas atrativas desenhado a princípio para verificar a atratividade de outros inimigos naturais como os percevejos do gênero *Orius* (Heteroptera:Anthocoridae) e joaninhas (Coleoptera:Coccinellidae) um

diferencial seria a possibilidade não apenas das formigas serem recrutadas para as parcelas com os diferentes tratamentos mas também que ocorresse o estabelecimento de novas colônias. Na primeira coleta foi registrada apenas uma amostra com uma rainha de *Wasmannia* acompanhada de seis operárias, na segunda coleta foram duas amostras com rainhas também de *Wasmannia* sendo uma com uma rainha e três operárias e uma na amostra do tratamento com 1 rainha e duas operárias. Não foi registrada nenhuma casta reprodutiva na terceira coleta. Na quarta coleta foram registradas duas rainhas de *Ectatomma* sendo uma coletada sem operárias e uma rainha com cinco operárias. Na quinta coleta os registros de castas reprodutivas teve um salto acompanhado pela ocorrência maior de formigas como um todo, incremento este prontamente perceptível na triagem e confirmado pela análise da PERMANOVA (Tabela 4) totalizando 16 amostras com castas reprodutivas sendo: oito ocorrências para *Brachymyrmex*, cinco ocorrências para *Solenopsis* e *Wasmannia* e três ocorrências para *Pheidole*. Ainda na quinta coleta foram coletados indivíduos de castas reprodutivas que foram excluídos das análises estatísticas uma vez que não foi possível determinar com precisão o gênero das mesmas totalizando quatro rainhas e dois machos.

5 CONCLUSÕES

A presença de formigas de correição, um grupo de formigas edáficas essencialmente predadoras nas áreas de experimentação agrícola do CNPAB necessitam de se tornar objeto de um estudo específico para o qual sugiro uma abordagem de ecologia de paisagem. A capacidade de remoção de presas, sejam outras formigas como sugere os dados de um experimento com plantio de batata doce do Laboratório de Controle Biológico ainda não publicado ou de imaturos de pragas agrícolas merece ser dimensionado e os meios de manter essa parte da biodiversidade preservada e prestando serviços ambientais deve ser conhecido.

Especificamente em relação a *Wasmannia* que é considerada uma formiga vagabunda (*tramp ant*) e com alto potencial de se tornar uma espécie dominante os dados de presença de rainhas deste grupo na primeira e segunda coletas podem vir a embasar a hipótese de que talvez a aração seja capaz de destruir ninhos de diversas espécies de

formigas mas que existe a possibilidade de que alguns ninhos de *Wasmannia* resistam ao revolvimento do solo facilitando a ampliação de suas colônias após cessada a perturbação uma vez que as demais formigas residentes tiveram seus ninhos senão aniquilados severamente destruídos. Desta maneira *Wasmannia* seria praticamente o que resta da mimercofauna e não necessariamente o que há de melhor em termos de competição por recursos.

Entendo que estes resultados de abundância total e o da presença de indivíduos de castas reprodutivas são suficientes para sustentar ao menos quatro afirmações, (i) houve a colonização das parcelas ao final do experimento com o efeito significativo da coleta ($p < 0,001$) devendo este efeito ser imputado ao tempo decorrente desde a última aração, (ii) houve um aumento da abundância das espécies residentes como se pode inferir nas análises gráficas, (iii) não houve efeito dos tratamentos e (iv) assim como já havia sido proposto por KING e TSCHINKEL (2008) a perturbação antrópica aqui representada pela aração na ocasião da implantação do experimento tende a reduzir a abundância e a diversidade de espécies coocorrentes e favorecer formigas com capacidade de colonizar áreas perturbadas como *Wasmannia*, *Pheidole*, *Solenopsis* e *Dorymyrmex*, todas representadas nos resultados aqui expostos. Excetuando *Atta* reconhecida por seu hábito de cortar folhas e cultivar fungos e *Labidus* que é um grupo de formigas predadoras, todas as demais formigas registradas são predadoras generalistas e podem vir a reduzir a incidência de pragas em culturas agrícolas. Logo se não houve efeito dos tratamentos há de se recomendar que se mantenha uma cobertura vegetal ainda que espontânea e que estes refúgios não sejam submetidos ao revolvimento do solo se mantendo assim a mimercofauna edáfica nos cordões de vegetação próximo aos cultivos e concomitantemente seu potencial de prover serviços ambientais.

CONCLUSÕES GERAIS

Este trabalho teve como objetivo central avaliar as alterações no solo promovidas por formigas em especial *Solenopsis invicta* seja quanto a alteração nos teores de nutrientes seja no tocante a microbiota. A intenção era se preencher lacunas e testar hipóteses que a princípio poderiam parecer insustentáveis como a ocorrência de FBN em formigas. O alvo real era gerar dados sobre os impactos na fertilidade, na movimentação de solo e na manutenção destes potenciais serviços ambientais.

Como pensar em serviços ambientais oferecidos por animais que se desconhece as suas funções em relação a fertilidade do solo? Como quantificar estes serviços diante da escassez de informações básicas? Como contribuir para sedimentar a visão de que as formigas são parte importante dos ecossistemas e conseqüentemente dos agroecossistemas, formigas e não somente as de interesse agrônômico no sentido estrito como as saúvas?

Agora sabemos que as formigas de fogo em um agroecossistema conduzido com orientação conservativa seguindo os preceitos da agricultura orgânica desde 1993 tendem a aumentar os teores de carbono, fósforo, potássio, silício e reduzir a acidez total dos solos. Uma grata surpresa foi a detecção de teores de silício muito mais altos nos ninhos que nas amostras de solo superficial. O silício é importante para o ciclo do carbono e o ciclo do carbono dispensa apresentações no cenário de mudanças climáticas em que estamos inseridos. A fitossanidade tende a ser forte e globalmente beneficiada pelo aumento dos níveis de silício biodisponível, vide o aumento na produção de raízes e conseqüentemente o incremento na resistência ao stress hídrico.

Sabemos ainda que em média mais de 40% das bactérias associadas a *Solenopsis invicta* na SIPA são bactérias com potencial de fixação biológica de nitrogênio ou bactérias promotoras de crescimento. Estas associações indicam que a bioprospecção nos ninhos deste holobionte bem sucedido pode ser promissora para se encontrar por exemplo espécies de bactérias solubilizadoras de fósforo, potássio e silício. Outro gênero de bactérias presente nas amostras, *Xenorhabdus* associadas a nematóides entomopatogênicos pode ter potencial para o controle de formigas de fogo nos ambientes onde ela se encontra como espécie invasora. E mesmo que ainda não se possa afirmar com certeza absoluta, caso isto exista na ciência, há fortes indícios de que estamos diante de um caso de fixação biológica de nitrogênio decorrente de simbiose entre bactérias e um inseto, neste caso temos as primeiras evidências experimentais de ocorrência de FBN em Formicidae, para ser mais exato, nas operárias já que já se conhece FBN

em jardins de fundo de *Atta*. Talvez este resultado após ser confirmado experimentalmente em outros locais sirva de base para se entender o sucesso de *Solenopsis invicta* como holobionte invasor.

O dados do experimento de plantas atrativas poderiam desanimar os mais desavisados, não houve resultado significativo para os tratamentos. Mas com um pouco de atenção surge a informação de que cessada a perturbação antrópica, no caso a aração, que leva a uma intensa simplificação e o decorrer de poucos meses a complexidade tende a se reestabelecer independente da cobertura vegetal utilizada inclusive com o estabelecimento de colônias. Outra informação que foi fruto de serendipidade é a massiva presença de formigas de correição que conseguem explorar as áreas cultivadas aparentemente devido a presença de vegetação remanescente nas áreas próximas ao experimento. Me refiro inclusive a vegetação espontânea crescendo ao lado de acessos e formações arbóreas esparsas dominadas por apenas uma espécie.

Em linhas gerais estamos diante de diversos seres diminutos e outros mais diminutos ainda que possuem a capacidade de prestar serviços ainda não valorados, para isto basta que estes não sejam sistematicamente perturbados e que se permita seu estabelecimento e movimentação na paisagem.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ADAMS, E. S. Experimental analysis of territory size in a population of the fire ant *Solenopsis invicta*. **Behavioral Ecology**, v. 14, n. 1, p. 48–53, 2003.
- AGARWAL, V. M.; RASTOGI, N. Deterrent effect of a guild of extrafloral nectary-visiting ant species on *Raphidopalpa foveicollis*, a major insect pest of sponge gourd, *Luffa cylindrica*. **Entomologia Experimentalis et Applicata**, v. 128, n. 2, p. 303–311, 2008.
- AHLERING, M. A.; FAABORG, J. AVIAN HABITAT MANAGEMENT MEETS CONSPECIFIC ATTRACTION: IF YOU BUILD IT, WILL THEY COME? [http://dx.doi.org/10.1642/0004-8038\(2006\)123\[301:AHMMCA\]2.0.CO;2](http://dx.doi.org/10.1642/0004-8038(2006)123[301:AHMMCA]2.0.CO;2), 24 jan. 2009.
- AKBAR, S.; DOWD, S. E.; STEVENS, D. C. Draft Genome Sequence of *Cystobacter ferrugineus* Strain Cbfe23. 2017.
- AKRAM, M. S.; SHAHID, M.; TARIQ, M.; AZEEM, M.; JAVED, M. T.; SALEEM, S.; RIAZ, S. Deciphering *Staphylococcus sciuri* SAT-17 Mediated Anti-oxidative Defense Mechanisms and Growth Modulations in Salt Stressed Maize (*Zea mays* L.). **Frontiers in Microbiology**, v. 7, n. JUN, p. 867, 9 jun. 2016.
- ALBERT, R. M.; WEINER, S. Study of Phytoliths in Prehistoric Ash Layers from Kebara and Tabun Caves Using a Quantitative Approach. In: **Phytoliths: Applications in Earth Science and Human History**. Tokyo: AA Balkema Publishers, 2001. p. 251–266.
- ALMEIDA, F. S.; QUEIROZ, J. M.; MAYHE-NUNES, A.; MAYHÉ-NUNES, A. J. Distribuição e abundância de ninhos de *Solenopsis invicta* Buren (Hymenoptera: Formicidae) em um agroecossistema diversificado sob manejo orgânico. **Floresta e Ambiente**, v. 14(1), n. 1, p. 34–44, 2007.
- ALTIERI, M. A. The ecological role of biodiversity in agroecosystems. **Agriculture, Ecosystems and Environment**, v. 74, n. 1–3, p. 19–31, 1999.
- ALTIERI, M. A.; SCHMIDT, L. L. Cover crop manipulation in northern california orchards and vineyards: Effects on arthropod communities. **Biological Agriculture and Horticulture**, v. 3, n. 1, p. 1–24, jan. 1985.
- AMUNDSON, R.; RICHTER, D. D.; HUMPHREYS, G. S.; JOBBÁGY, E. G.; GAILLARDET, J. Coupling between biota and earth materials in the critical zone. **Elements**, v. 3, n. 5, p. 327–332, 2007.
- ANANDAN, R.; DHARUMADURAI, D.; MANOGARAN, G. P. **Actinobacteria - Basics and Biotechnological Applications**. [s.l.] InTech, 2016.
- ANDERSON, K. E.; RUSSELL, J. A.; MOREAU, C. S.; KAUTZ, S.; SULLAM, K. E.; HU, Y.; BASINGER, U.; MOTT, B. M.; BUCK, N.; WHEELER, D. E. Highly similar microbial communities are shared among related and trophically similar ant species.

Molecular Ecology, v. 21, n. 9, p. 2282–2296, 2012.

ANDERSON, M. J. Permutational Multivariate Analysis of Variance (PERMANOVA). In: **Wiley StatsRef: Statistics Reference Online**. [s.l.] John Wiley & Sons, Ltd, 2017. p. 1–15.

ARMBRECHT, I.; GALLEGO, M. C. Testing ant predation on the coffee berry borer in shaded and sun coffee plantations in Colombia. **Entomologia Experimentalis et Applicata**, v. 124, n. 3, p. 261–267, 2007.

ASAF, S.; NUMAN, M.; KHAN, A. L.; AL-HARRASI, A. **Sphingomonas: from diversity and genomics to functional role in environmental remediation and plant growth** *Critical Reviews in Biotechnology* Taylor and Francis Ltd, , 17 fev. 2020.

BACCARO, F. B.; FEITOSA, R. M.; FERNANDEZ, F.; FERNANDES, I. O.; IZZO, T. J.; SOUZA, J. L. P.; SOLAR, R. **Guia para os gêneros de formigas do Brasil**. [s.l: s.n.].

BAGGEN, L. R.; GURR, G. M.; MEATS, A. Flowers in tri-trophic systems: Mechanisms allowing selective exploitation by insect natural enemies for conservation biological control. **Entomologia Experimentalis et Applicata**, v. 91, n. 1, p. 155–161, 1999.

BAHADUR, I.; MAURYA, R.; ROY, P.; KUMAR, A. Potassium-Solubilizing Bacteria (KSB): A Microbial Tool for K-Solubility, Cycling, and Availability to Plants. In: **Plant Growth Promoting Rhizobacteria for Agricultural Sustainability**. Singapore: Springer Singapore, 2019. p. 257–265.

BAR-SHMUEL, N.; BEHAR, A.; SEGOLI, M. What do we know about biological nitrogen fixation in insects? Evidence and implications for the insect and the ecosystem. **Insect Science**, v. 27, n. 3, p. 392–403, 8 jun. 2020.

BARBOUR, E. H. Nature, structure, and phylogeny of *Daemonelix*. **BULLETIN OF THE GEOLOGICAL SOCIETY OF AMERICA**, v. 8, n. 306–314, p. 31–39, 1897.

BARDGETT, R. D.; BOWMAN, W. D.; KAUFMANN, R.; SCHMIDT, S. K. A temporal approach to linking aboveground and belowground ecology. **Trends in Ecology and Evolution**, v. 20, n. 11, p. 634–641, 2005.

BARDGETT, R. D.; MOMMER, L.; DE VRIES, F. T. Going underground: Root traits as drivers of ecosystem processes. **Trends in Ecology and Evolution**, v. 29, n. 12, p. 692–699, 2014.

BAXTER, F. P.; HOLE, F. D. Ant (*Formica cinerea*) Pedoturbation in a Prairie Soil. **Soil Science Society of America Journal**, v. 31, n. 1, p. 425, 1967.

BEHAR, A.; YUVAL, B.; JURKEVITCH, E. Enterobacteria-mediated nitrogen fixation in natural populations of the fruit fly *Ceratitis capitata*. **Molecular Ecology**, v. 14, n. 9, p. 2637–2643, 1 ago. 2005.

BENCKISER, G. Ants and sustainable agriculture. A review. **Agronomy for Sustainable Development**, v. 30, n. 2, p. 191–199, 16 abr. 2010.

BENEMANN, J. R. Nitrogen Fixation in Termites. **Science**, v. 181, n. 4095, p. 164–165,

13 jul. 1973.

BENTLEY, B. L. Extrafloral Nectaries and Protection by Pugnacious Bodyguards. **Annual Review of Ecology and Systematics**, v. 8, n. 1, p. 407–427, 28 nov. 1977.

BIBRA, M.; KUNREDDY, V.; SANI, R. Thermostable Xylanase Production by *Geobacillus* sp. Strain DUSELR13, and Its Application in Ethanol Production with Lignocellulosic Biomass. **Microorganisms**, v. 6, n. 3, p. 93, 5 set. 2018.

BILDSTEIN, K. L.; BLOOD, E.; FREDERICK, P. The relative importance of biotic and abiotic vectors in nutrient transport. **Estuaries**, v. 15, n. 2, p. 147–157, 1992.

BISCHOFF, R.; SCHLÜTER, H. Amino acids: Chemistry, functionality and selected non-enzymatic post-translational modifications. **Journal of Proteomics**, v. 75, n. 8, p. 2275–2296, 18 abr. 2012.

BITYUTSKII, N.; KAIDUN, P.; YAKKONEN, K. Earthworms can increase mobility and bioavailability of silicon in soil. **Soil Biology and Biochemistry**, v. 99, p. 47–53, ago. 2016.

BLUBAUGH, C. K.; HAGLER, J. R.; MACHTLEY, S. A.; KAPLAN, I. Cover crops increase foraging activity of omnivorous predators in seed patches and facilitate weed biological control. **Agriculture, Ecosystems and Environment**, v. 231, p. 264–270, 1 set. 2016.

BOCKHEIM, J. G.; GENNADIYEV, A. N.; HAMMER, R. D.; TANDARICH, J. P. Historical development of key concepts in pedology. **Geoderma**, v. 124, n. 1–2, p. 23–36, 2005.

BOOTS, B.; CLIPSON, N. Linking ecosystem modification by the yellow meadow ant (*Lasius flavus*) to microbial assemblages in different soil environments. **European Journal of Soil Biology**, v. 55, p. 100–106, 2013.

BORM, S. VAN; BUSCHINGER, A.; BOOMSMA, J. J.; BILLEN, J. Tetraponera ants have gut symbionts related to nitrogen-fixing root-nodule bacteria. **Hungarian Quarterly**, v. 49, n. 191, p. 2023–2027, 2008.

BOTTINELLI, N.; JOUQUET, P.; CAPOWIEZ, Y.; PODWOJEWSKI, P.; GRIMALDI, M.; PENG, X. Why is the influence of soil macrofauna on soil structure only considered by soil ecologists? **Soil and Tillage Research**, v. 146, n. PA, p. 118–124, 2015.

BOULTON, A. M.; AMBERMAN, K. D. How ant nests increase soil biota richness and abundance: A field experiment. **Biodiversity and Conservation**, v. 15, n. 1, p. 69–82, 2006.

BRANNER, J. C. Geologic work of ants in tropical america. **BULLETIN OF THE GEOLOGICAL SOCIETY OF AMERICA**, v. 21, p. 449–496, 1910.

BRIONES, M. J. I. Soil fauna and soil functions: a jigsaw puzzle. **Frontiers in Environmental Science**, v. 2, n. April, p. 1–22, 2014.

BROADLEY, M.; BROWN, P.; CAKMAK, I.; MA, J. F.; RENGEL, Z.; ZHAO, F.

Beneficial Elements. In: **Marschner's Mineral Nutrition of Higher Plants: Third Edition**. Sydney: Elsevier Inc., 2011. p. 249–269.

BRUCH, C. Costumbres e nidos de hormigas. **An. Soc. Cient. Argent.**, v. 84, p. 154–172, 1917.

BRUCH, C. **Estudios mirmecológicos** **An. Mus. Nac. Hist. Nat. B. Aires**, 1928.

BURDMAN, S.; WALCOTT, R. R. **Plant-pathogenic Acidovorax species**. [s.l.] American Phytopathological Society (APS Press), 2018.

CALEGARI, M. R.; MADELLA, M.; VIDAL-TORRADO, P.; OTERO, X. L.; MACIAS, F.; OSTERRIETH, M. Opal phytolith extraction in oxisols. **Quaternary International**, v. 287, p. 56–62, 2013.

CALLAHAN, B. J.; MCMURDIE, P. J.; HOLMES, S. P. Exact sequence variants should replace operational taxonomic units in marker-gene data analysis. **ISME Journal**, v. 11, n. 12, p. 2639–2643, 1 dez. 2017.

CALLAHAN, B. J.; MCMURDIE, P. J.; ROSEN, M. J.; HAN, A. W.; JOHNSON, A. J. A.; HOLMES, S. P. DADA2: High-resolution sample inference from Illumina amplicon data. **Nature Methods**, v. 13, n. 7, p. 581–583, 29 jun. 2016.

CANI, P. D.; DE VOS, W. M. Next-Generation Beneficial Microbes: The Case of *Akkermansia muciniphila*. **Frontiers in Microbiology**, v. 8, n. SEP, p. 1765, 22 set. 2017.

CARROLL, C. R.; JANZEN, D. H. Ecology of foraging by ants. **Annual Review of Ecology and Systematics**, 1973.

CAUGANT, D. A.; BRYNILDSRUD, O. B. **Neisseria meningitidis: using genomics to understand diversity, evolution and pathogenesis** **Nature Reviews Microbiology** **Nature Research**, , 1 fev. 2020. Disponível em: <<https://www.nature.com/articles/s41579-019-0282-6>>. Acesso em: 30 jul. 2020

CHAPARRO, J. M.; SHEFLIN, A. M.; MANTER, D. K.; VIVANCO, J. M. Manipulating the soil microbiome to increase soil health and plant fertility. **Biology and Fertility of Soils**, v. 48, n. 5, p. 489–499, 2012.

CHAUDHARY, H. J.; PENG, G.; HU, M.; HE, Y.; YANG, L.; LUO, Y.; TAN, Z. Genetic Diversity of Endophytic Diazotrophs of the Wild Rice, *Oryza alta* and Identification of the New Diazotroph, *Acinetobacter oryzae* sp. nov. **Microbial Ecology**, v. 63, n. 4, p. 813–821, 2012.

CHUST, G.; PRETUS, J. L.; DUCROT, D.; BEDÒS, A.; DEHARVENG, L. Identification of landscape units from an insect perspective. **Ecography**, v. 26, n. August 2002, p. 257–268, 2003.

CLAY, N. A.; LUCAS, J.; KASPARI, M.; KAY, A. D. Manna from heaven: Refuse from an arboreal ant links aboveground and belowground processes in a lowland tropical forest. **Ecosphere**, v. 4, n. 11, p. Article 141, 2013.

COCK, M. J. W.; BIESMEIJER, J. C.; CANNON, R. J. C.; GERARD, P. J.; GILLESPIE, D.; JIMENEZ, J. J.; LAVELLE, P. M.; RAINA, S. K. The positive contribution of invertebrates to sustainable agriculture and food security. **CAB Reviews: Perspectives in Agriculture, Veterinary Science, Nutrition and Natural Resources**, v. 7, n. 043, p. 1–27, 2012.

COLE, J. R.; WANG, Q.; FISH, J. A.; CHAI, B.; MCGARRELL, D. M.; SUN, Y.; BROWN, C. T.; PORRAS-ALFARO, A.; KUSKE, C. R.; TIEDJE, J. M. Ribosomal Database Project: Data and tools for high throughput rRNA analysis. **Nucleic Acids Research**, v. 42, n. D1, p. D633, 1 jan. 2014.

CONLEY, D. J. Terrestrial ecosystems and the global biogeochemical silica cycle. **Global Biogeochemical Cycles**, v. 16, n. 4, p. 68-1-68–8, dez. 2002.

CRONIN, T. W.; SHASHAR, N.; CALDWELL, R. L.; MARSHALL, J.; CHEROSKE, A. G.; CHIOU, T.-H. Polarization vision and its role in biological signaling. **Integrative and comparative biology**, v. 43, n. 4, p. 549–558, 2003.

CUEZZO, F.; GUERRERO, R. J. The Ant Genus *Dorymyrmex* Mayr (Hymenoptera: Formicidae: Dolichoderinae) in Colombia. v. 2012, p. 24, 2012.

CURTIS, A. D.; WALLER, D. A. The effects of decreased pO₂ and increased pCO₂ on nitrogen fixation rates in termites (Isoptera: Rhinotermitidae). **Journal of Insect Physiology**, v. 42, n. 9, p. 867–872, 1996.

CZACZKES, T. J.; GRÜTER, C.; RATNIEKS, F. L. W. Trail Pheromones, An integrative view of their role in social insect colony organization. **Annual Review of Entomology**, v. 60, p. 581–599, 2015.

CZACZKES, T. J.; HEINZE, J.; RUTHER, J. Nest etiquette-where ants go when nature calls. **PLoS ONE**, v. 10, n. 2, 2015.

DAHAL, B.; NANDAKAFLE, G.; PERKINS, L.; BRÖZEL, V. S. Diversity of free-living nitrogen fixing *Streptomyces* in soils of the badlands of South Dakota. **Microbiological Research**, v. 195, p. 31–39, 1 jan. 2017.

DARDANELLI, M. S.; MANYANI, H.; GONZÁLEZ-BARROSO, S.; RODRÍGUEZ-CARVAJAL, M. A.; GIL-SERRANO, A. M.; ESPUNY, M. R.; LÓPEZ-BAENA, F. J.; BELLOGÍN, R. A.; MEGÍAS, M.; OLLERO, F. J. Effect of the presence of the plant growth promoting rhizobacterium (PGPR) *Chryseobacterium balustinum* Aur9 and salt stress in the pattern of flavonoids exuded by soybean roots. **Plant and Soil**, v. 328, n. 1, p. 483–493, 8 fev. 2010.

DARWIN, C. R. **The Formation of the Vegetable Mould Through the Action of Worms**. London: John Murray, 1881.

DAVIDSON, D. W.; PATRELL-KIM, L. Tropical arboreal ants: Why so abundant? In: **Neotropical biodiversity and conservation**. [s.l: s.n.]. p. 127–140.

DE BONT, J. A. M.; MULDER, E. G. Invalidity of the Acetylene Reduction Assay in Alkane- Utilizing, Nitrogen-Fixing Bacteria. **APPLIED AND ENVIRONMENTAL MICROBIOLOGY**, v. 31, n. 5, p. 640–647, 1976.

DE VEGA, C.; HERRERA, C. M. Microorganisms transported by ants induce changes in floral nectar composition of an ant-pollinated plant. **American Journal of Botany**, v. 100, n. 4, p. 792–800, 2013.

DEFAUW, S. L.; VOGT, J. T.; BOYKIN, D. L. Influence of mound construction by red and hybrid imported fire ants on soil chemical properties and turfgrass in a sod production agroecosystem. **Insectes Sociaux**, v. 55, n. 3, p. 301–312, 2008.

DEL TORO, I.; RIBBONS, R. R.; PELINI, S. L. The little things that run the world revisited: A review of ant-mediated ecosystem services and disservices (Hymenoptera: Formicidae). **Myrmecological News**, v. 17, n. August, p. 133–146, 2012.

DELAMUTA, J. R. M.; RIBEIRO, R. A.; ARAÚJO, J. L. S.; ROUWS, L. F. M.; ZILLI, J. É.; PARMA, M. M.; MELO, I. S.; HUNGRIA, M. *Bradyrhizobium stylosanthis* sp. nov., comprising nitrogen-fixing symbionts isolated from nodules of the tropical forage legume *Stylosanthes* spp. **International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology**, v. 66, n. 8, p. 3078–3087, 1 ago. 2016.

DILWORTH, M. J. Acetylene reduction by nitrogen-fixing preparations from *Clostridium pasteurianum*. **Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - General Subjects**, v. 127, n. 2, p. 285–294, out. 1966.

DIXON, P. **VEGAN, a package of R functions for community ecology** *Journal of Vegetation Science* Opulus Press AB, , 1 dez. 2003. Disponível em: <<https://onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.1111/j.1654-1103.2003.tb02228.x>>. Acesso em: 11 ago. 2020

DIXON, R. A.; ACHNINE, L.; KOTA, P.; LIU, C. J.; REDDY, M. S. S.; WANG, L. The phenylpropanoid pathway and plant defence - A genomics perspective. **Molecular Plant Pathology**, v. 3, n. 5, p. 371–390, 2002.

DORN, R. I. Ants as a powerful biotic agent of olivine and plagioclase dissolution. **Geology**, v. 42, n. 9, p. 771–774, 2014.

DURAN-FLORES, D.; HEIL, M. Damaged-self recognition in common bean (*Phaseolus vulgaris*) shows taxonomic specificity and triggers signaling via reactive oxygen species (ROS). **Frontiers in plant science**, v. 5, n. October, p. 585, 2014.

EHRlich, H. L. How microbes influence mineral growth and dissolution. **Chemical Geology**, v. 132, n. 1–4, p. 5–9, out. 1996.

EL-HAMALAWI, Z. A.; MENGE, J. A. The role of snails and ants in transmitting the avocado stem canker pathogen, *Phytophthora citricola*. **Journal of the American Society for Horticultural Science**, v. 121, n. 5, p. 973–977, 1996.

EPSTEIN, E. Silicon. **Annu. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol.**, v. 50, n. 50, p. 641–664, 28 jun. 1999.

EUBANKS, M. D. Estimates of the Direct and Indirect Effects of Red Imported Fire Ants on Biological Control in Field Crops. **Biological Control**, v. 21, n. 1, p. 35–43, 2001.

EVANS, T. A.; DAWES, T. Z.; WARD, P. R.; LO, N. Ants and termites increase crop

- yield in a dry climate. **Nature Communications**, v. 2, n. August 2015, p. 262, 2011.
- FARJI-BRENER, A. G.; WERENKRAUT, V. The effects of ant nests on soil fertility and plant performance: a meta-analysis. **Journal of Animal Ecology**, v. 86, n. 4, p. 866–877, 2017.
- FELDHAAR, H. Bacterial symbionts as mediators of ecologically important traits of insect hosts. **Ecological Entomology**, v. 36, n. 5, p. 533–543, 1 out. 2011.
- FERNANDEZ, A.; FARJI-BRENER, A. G.; SATTI, P. Moisture enhances the positive effect of leaf-cutting ant refuse dumps on soil biota activity. **Austral Ecology**, v. 39, n. 2, p. 198–203, 2014.
- FIELDING, R. A.; REEVES, A. R.; JASUJA, R.; LIU, C.; BARRETT, B. B.; LUSTGARTEN, M. S. Muscle strength is increased in mice that are colonized with microbiota from high-functioning older adults. **Experimental Gerontology**, v. 127, p. 110722, 1 nov. 2019.
- FITTKAU, E. J.; KLINGE, H. On Biomass and Trophic Structure of the Central Amazonian Rain Forest Ecosystem. **Biotropica**, v. 5, n. 1, p. 2, abr. 1973.
- FLOREN, A.; BIUN, A.; LINSENMAIR, E. K. Arboreal ants as key predators in tropical lowland rainforest trees. **Oecologia**, v. 131, n. 1, p. 137–144, 1 mar. 2002.
- FOSTER, W.; ELLWOOD, M. D. F.; FOSTER, W. A. Doubling the estimate of invertebrate biomass in a rainforest canopy. 2004.
- FOUCAUD, J.; ORIVEL, J.; FOURNIER, D.; DELABIE, J. H. C.; LOISEAU, A.; LE BRETON, J.; CERDAN, P.; ESTOUP, A. Reproductive system, social organization, human disturbance and ecological dominance in native populations of the little fire ant, *Wasmannia auropunctata*. **Molecular Ecology**, v. 18, n. 24, p. 5059–5073, 1 dez. 2009.
- FOUCAUD, J.; ORIVEL, J.; LOISEAU, A.; DELABIE, J. H. C.; JOURDAN, H.; KONGHOULEUX, D.; VONSHAK, M.; TINDO, M.; MERCIER, J. L.; FRESNEAU, D.; MIKISSA, J. B.; MCGLYNN, T.; MIKHEYEV, A. S.; OETTLER, J.; ESTOUP, A. Worldwide invasion by the little fire ant: Routes of introduction and eco-evolutionary pathways. **Evolutionary Applications**, v. 3, n. 4, p. 363–374, 2010.
- FOWLER, H. G.; BUENO, O. C.; SADATSUNE, T.; MONTELLI, A. C.; BERNDT, K.-P.; EICHLER, W.; CZAJKOWSKA, M.; EDWARDS, J. P.; BAKER, L. F.; SY, M. Ants as potential vectors of pathogens in hospitals in the state of sao paulo, brazil. **International Journal of Tropical Insect Science**, v. 14, n. 03, p. 367–370, 19 jun. 1993.
- FOX, A. F.; KIM, T. N.; BAHLAI, C. A.; WOLTZ, J. M.; GRATTON, C.; LANDIS, D. A. Cover crops have neutral effects on predator communities and biological control services in annual cellulosic bioenergy cropping systems. **Agriculture, Ecosystems and Environment**, v. 232, p. 101–109, set. 2016a.
- FOX, A. R.; SOTO, G.; VALVERDE, C.; RUSSO, D.; LAGARES, A.; ZORREGUIETA, Á.; ALLEVA, K.; PASCUAN, C.; FRARE, R.; MERCADO-BLANCO, J.; DIXON, R.; AYUB, N. D. Major cereal crops benefit from biological nitrogen fixation when inoculated with the nitrogen-fixing bacterium *Pseudomonas*

protegens Pf-5 X940. **Environmental Microbiology**, v. 18, n. 10, p. 3522–3534, 1 out. 2016b.

FUKAMI, J.; CEREZINI, P.; HUNGRIA, M. **Azospirillum: benefits that go far beyond biological nitrogen fixation** **AMB Express** Springer Verlag, , 1 dez. 2018. Disponível em: <<https://link.springer.com/articles/10.1186/s13568-018-0608-1>>. Acesso em: 30 jul. 2020

GABA, S.; LESCOURRET, F.; BOUDSOCQ, S.; ENJALBERT, J.; HINSINGER, P.; JOURNET, E.-P.; NAVAS, M.-L.; WERY, J.; LOUARN, G.; MALÉZIEUX, E.; PELZER, E.; PRUDENT, M.; OZIER-LAFONTAINE, H.; GABA, S.; PRUDENT, M.; LESCOURRET, F.; BOUDSOCQ, S.; HINSINGER, P.; JOURNET, E. <P; et al. Multiple cropping systems as drivers for providing multiple ecosystem services: from concepts to design. **Agron. Sustain. Dev**, v. 35, p. 607–623, 2015.

GADAU, J. DNA isolation from ants. **Cold Spring Harbor Protocols**, v. 4, n. 7, p. pdb.prot5245-pdb.prot5245, 1 jul. 2009.

GAST, R. K.; PORTER, R. E. *Salmonella* Infections. In: **Diseases of Poultry**. [s.l.] Wiley, 2020. p. 717–753.

GIGLIOLI, I. Insects and Yeasts. **Nature**, v. 56, n. 1459, p. 575–577, 1897.

GOLYEVA, A. Biomorphic analysis as a part of soil morphological investigations. **Catena**, v. 43, n. 3, p. 217–230, 2001.

GRAHAM, J. H.; HUGHIE, H. H.; JONES, S.; WRINN, K.; KRZYSIK, A. J.; DUDA, J. J.; FREEMAN, D. C.; EMLÉN, J. M.; ZAK, J. C.; KOVACIC, D. A.; CHAMBERLIN-GRAHAM, C.; BALBACH, H. Habitat disturbance and the diversity and abundance of ants (Formicidae) in the Southeastern Fall-Line Sandhills. **Journal of insect science (Online)**, v. 4, p. 30, 2004.

GULCU, B.; RAJA, K.; HAZIR, S. Entomopathogenic Nematodes and their Mutualistic Bacteria: Their Ecology and Application as Microbial Control Agents. **Biopesticides International**, v. 13, n. 2, p. 79–112, 2017.

GUNTZER, F.; KELLER, C.; MEUNIER, J. D. Benefits of plant silicon for crops: A review. **Agronomy for Sustainable Development**, v. 32, n. 1, p. 201–213, 2012a.

GUNTZER, F.; KELLER, C.; MEUNIER, J. D. **Benefits of plant silicon for crops: A review** **Agronomy for Sustainable Development**, 30 jan. 2012b. Disponível em: <<http://link.springer.com/10.1007/s13593-011-0039-8>>. Acesso em: 7 mar. 2020

HAEDER, S.; WIRTH, R.; HERZ, H.; SPITELLER, D. Candidicin-producing *Streptomyces* support leaf-cutting ants to protect their fungus garden against the pathogenic fungus *Escovopsis*. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, v. 106, n. 12, p. 4742–6, 2009.

HALFEN, A. F.; HASIOTIS, S. T. Neoichnological Study of the Traces and Burrowing Behaviors of the Western Harvester Ant *Pogonomyrmex Occidentalis* (Insecta: Hymenoptera: Formicidae): Paleopedogenic and Paleoecological Implications. **Palaios**, v. 25, n. 11, p. 703–720, 2010a.

HALFEN, A. F.; HASIOTIS, S. T. NEOICHOLOGICAL STUDY OF THE TRACES AND BURROWING BEHAVIORS OF THE WESTERN HARVESTER ANT *POGONOMYRMEX OCCIDENTALIS* (INSECTA: HYMENOPTERA: FORMICIDAE): PALEOPEDOGENIC AND PALEOECOLOGICAL IMPLICATIONS. **PALAIOS**, 2010b.

HALLMANN, C. A.; SORG, M.; JONGEJANS, E.; SIEPEL, H.; HOFLAND, N.; SCHWAN, H.; STENMANS, W.; MÜLLER, A.; SUMSER, H.; HÖRREN, T.; GOULSON, D.; DE KROON, H. More than 75 percent decline over 27 years in total flying insect biomass in protected areas. **PLoS ONE**, v. 12, n. 10, p. e0185809, 18 out. 2017.

HARDY, R. W. F.; HOLSTEN, R. D.; JACKSON, E. K.; BURNS, R. C. The Acetylene-Ethylene Assay for N₂ Fixation: Laboratory and Field Evaluation. **Plant Physiology**, v. 43, p. 1185–1207, 1968.

HARVEY, A. W. Extrafloral Nectaries in Kudzu, *Pueraria montana* (Lour.) Merr., and Groundnut, *Apios americana* Medicus (Fabaceae). **Castanea**, v. 74, n. 4, p. 360–371, 2009.

HASIOTIS, S. T.; HALFEN, A. F. The Story of O : The Dominance of Organisms as a Soil-Forming Factor From an Integrated Geologic Perspective and Modern Field and Experimental Studies. **World congress of soil science**, n. August, p. 100–103, 2010.

HEIL, M. Herbivore-induced plant volatiles: Targets, perception and unanswered questions. **Journal of Physiology**, v. 204, n. 2, p. 297–306, 2014.

HEIL, M.; MCKEY, D. Protective Ant-Plant Interactions as Model Systems in Ecological and Evolutionary Research. **Annual Review of Ecology, Evolution, and Systematics**, v. 34, n. 1, p. 425–553, nov. 2003.

HEIL, M.; SILVA BUENO, J. C. Within-plant signaling by volatiles leads to induction and priming of an indirect plant defense in nature. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, v. 104, n. 13, p. 5467–5472, 2007.

HIGDON, S. M.; POZZO, T.; KONG, N.; HUANG, B.; YANG, M. L.; JEANNOTTE, R.; BROWN, C. T.; BENNETT, A. B.; WEIMER, B. C. Genomic characterization of a diazotrophic microbiota associated with maize aerial root mucilage. **bioRxiv**, p. 2020.04.27.064337, 29 abr. 2020.

HOFFMAN, B. M.; LUKOYANOV, D.; YANG, Z.-Y.; DEAN, D. R.; SEEFELDT, L. C. Mechanism of Nitrogen Fixation by Nitrogenase: The Next Stage. **Chemical Reviews**, v. 114, n. 8, p. 4041–4062, 23 abr. 2014.

HOLE, F. D. Effects of animals on soil. **Geoderma**, v. 25, n. 1981, p. 75–112, 1981.

HÖLLDOBLER, B.; WILSON, E. **The ants**. [s.l: s.n.].

HOLWAY, D. A.; SUAREZ, A. V. Homogenization of ant communities in mediterranean California: The effects of urbanization and invasion. **Biological Conservation**, v. 127, n. 3, p. 319–326, 2006.

HOOPER, D. U.; CHAPIN, F. S.; EWEL, J. J.; HECTOR, A.; INCHAUSTI, P.; LAVOREL, S.; LAWTON, J. H.; LODGE, D. M.; LOREAU, M.; NAEEM, S.; SCHMID, B.; SETÄLÄ, H.; SYMSTAD, A. J.; VANDERMEER, J.; WARDLE, D. A. Effects of biodiversity on ecosystem functioning: A consensus of current knowledge. **Ecological Monographs**, v. 75, n. 1, p. 3–35, 2005.

HORTON, D. R.; JONES, V. P.; UNRUH, T. R. Use of a new immunomarking method to assess movement by generalist predators between a cover crop and a tree canopy in a pear orchard. **American Entomologist**, v. 55, n. 1, p. 49–56, 2009.

HU, G.; LIM, K. S.; HORVITZ, N.; CLARK, S. J.; REYNOLDS, D. R.; SAPIR, N.; CHAPMAN, J. W. Mass seasonal bioflows of high-flying insect migrants. **Science**, v. 354, n. 6319, p. 1584–1587, 23 dez. 2016.

HU, L.; XIA, M.; LIN, X.; XU, C.; LI, W.; WANG, J.; ZENG, R.; SONG, Y. Earthworm gut bacteria increase silicon bioavailability and acquisition by maize. **Soil Biology and Biochemistry**, v. 125, p. 215–221, out. 2018a.

HU, Y.; ŁUKASIK, P.; MOREAU, C. S.; RUSSELL, J. A. Correlates of gut community composition across an ant species (*Cephalotes varians*) elucidate causes and consequences of symbiotic variability. **Molecular Ecology**, v. 23, n. 6, p. 1284–1300, 2014.

HU, Y.; SANDERS, J. G.; ŁUKASIK, P.; D'AMELIO, C. L.; MILLAR, J. S.; VANN, D. R.; LAN, Y.; NEWTON, J. A.; SCHOTANUS, M.; KRONAUER, D. J. C.; PIERCE, N. E.; MOREAU, C. S.; WERTZ, J. T.; ENGEL, P.; RUSSELL, J. A. Herbivorous turtle ants obtain essential nutrients from a conserved nitrogen-recycling gut microbiome. **Nature Communications**, v. 9, n. 1, 2018b.

HUANG, J.; SHENG, X. F.; XI, J.; HE, L. Y.; HUANG, Z.; WANG, Q.; ZHANG, Z. D. Depth-related changes in community structure of culturable mineral weathering bacteria and in weathering patterns caused by them along two contrasting soil profiles. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 80, n. 1, p. 29–42, 2014.

ISELL, F.; TILMAN, D.; POLASKY, S.; LOREAU, M. The biodiversity-dependent ecosystem service debt. **Ecology Letters**, v. 18, n. 2, p. 119–134, 2015.

ISHAK, H. D.; MILLER, J. L.; SEN, R.; DOWD, S. E.; MEYER, E.; MUELLER, U. G. Microbiomes of ant castes implicate new microbial roles in the fungus-growing ant *Trachymyrmex septentrionalis*. **Scientific Reports**, v. 1, p. 20–22, 2011a.

ISHAK, H. D.; PLOWES, R.; SEN, R.; KELLNER, K.; MEYER, E.; ESTRADA, D. A.; DOWD, S. E.; MUELLER, U. G. Bacterial Diversity in *Solenopsis invicta* and *Solenopsis geminata* Ant Colonies Characterized by 16S amplicon 454 Pyrosequencing. **Microbial Ecology**, v. 61, n. 4, p. 821–831, 2011b.

JACKSON, T. A. Weathering, secondary mineral genesis, and soil formation caused by lichens and mosses growing on granitic gneiss in a boreal forest environment. **Geoderma**, v. 251–252, n. August, p. 78–91, 2015.

JANE QUILLIN, S.; STEVEN SEIFERT, H. *Neisseria gonorrhoeae* host adaptation and pathogenesis. 2018.

JIANG, Z.; TUO, L.; HUANG, D.; OSTERMAN, I. A.; TYURIN, A. P.; LIU, S.; LUKYANOV, D. A.; SERGIEV, P. V.; DONTSOVA, O. A.; KORSHUN, V. A.; LI, F.; SUN, C. Diversity, Novelty, and Antimicrobial Activity of Endophytic Actinobacteria From Mangrove Plants in Beilun Estuary National Nature Reserve of Guangxi, China. **Frontiers in Microbiology**, v. 9, n. MAY, p. 868, 4 maio 2018.

JOHANSSON, H.; DHAYGUDE, K.; LINDSTRÖM, S.; HELANTERÄ, H.; SUNDSTRÖM, L.; TRONTTI, K. A metatranscriptomic approach to the identification of microbiota associated with the ant *Formica exsecta*. **PLoS ONE**, v. 8, n. 11, 2013.

JOHNSON, D. L. Biomantle evolution and the redistribution of earth materials and artifacts. **Soil Science**, v. 149, n. 2, p. 84–102, 1990.

JOHNSON, D. L.; DOMIER, J. E. J.; JOHNSON, D. N. Animating the biodynamics of soil thickness using process vector analysis: A dynamic denudation approach to soil formation. **Geomorphology**, v. 67, n. 1- 2 SPEC. ISS., p. 23–46, 2005.

JOHNSON, D. L.; JOHNSON, D. N.; HACKLEY, K. C.; CAHILL, R. A. **Mima mounds as upper soil biomantles : What happens when the dominant bioturbators leave and invertebrates take over?** 18th World Congress of Soil Science July 9-15, 2006 - Philadelphia, Pennsylvania, USA. **Anais...**2006

JOHNSON, D. L.; SCHAEZTL, R. J. Differing views of soil and pedogenesis by two masters: Darwin and Dokuchaev. **Geoderma**, v. 237, p. 176–189, 2014.

JOHNSON, D. L.; WATSON-STEGNER, D. **Proisotropic and proanisotropic processes of pedoturbation** **Soil Science**, 1987a.

JOHNSON, D. L.; WATSON-STEGNER, D. Evolution model of pedogenesis. **Soil Science**, v. 143, n. 5, p. 349–366, 1987b.

JONES, C. G. Ecosystem engineers and geomorphological signatures in landscapes. **Geomorphology**, v. 157–158, p. 75–87, 2012.

JONES, L. H. P.; HANDRECK, K. A. Silica In Soils, Plants, and Animals. **Advances in Agronomy**, v. 19, n. C, p. 107–149, 1967.

JOUQUET, P.; JAMOTEAU, F.; MAJUMDAR, S.; PODWOJEWSKI, P.; NAGABOVANALLI, P.; CANER, L.; BARBONI, D.; MEUNIER, J. D. The distribution of Silicon in soil is influenced by termite bioturbation in South Indian forest soils. **Geoderma**, v. 372, p. 114362, 1 ago. 2020.

KASAI, H. *Smaragdicoscus*. In: **Bergey's Manual of Systematics of Archaea and Bacteria**. [s.l.] John Wiley & Sons, Ltd, 2015. p. 1–4.

KASPARI, M.; O'DONNELL, S. High rates of army ant raids in the Neotropics and implications for ant colony and community structure. **Evolutionary Ecology Research**, v. 5, n. 6, p. 933–939, 2003.

KASPARI, M.; POWELL, S.; LATTKE, J.; O'DONNELL, S. Predation and patchiness in the tropical litter: Do swarm-raiding army ants skim the cream or drain the bottle? **Journal of Animal Ecology**, v. 80, n. 4, p. 818–823, 2011.

- KASPARI, M.; WEISER, M. The size-grain hypothesis: Do macroarthropods see a fractal world? **Ecological Entomology**, v. 32, n. 3, p. 279–282, 2007.
- KASPARI, M.; WEISER, M. D. Kaspari and Weiser 2000- Ant Activity along Moisture Gradients in a Neotropical Forest.pdf. **Biotropica**, v. 32, n. 4, p. 703–711, 2000.
- KATAYAMA, N.; SUZUKI, N. Role of extrafloral nectaries of *Vicia faba* in attraction of ants and herbivore exclusion by ants. **Entomological Science**, v. 7, n. 2, p. 119–124, jun. 2004.
- KAUTZ, S.; RUBIN, B. E. R.; RUSSELL, J. A.; MOREAU, C. S. Surveying the microbiome of ants: Comparing 454 pyrosequencing with traditional methods to uncover bacterial diversity. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 79, n. 2, p. 525–534, 2013.
- KAYASTH, M.; KUMAR, V.; GERA, R. *Gordonia* sp.: a salt tolerant bacterial inoculant for growth promotion of pearl millet under saline soil conditions. **3 Biotech**, v. 4, n. 5, p. 553–557, 2 out. 2014.
- KELLNER, K.; ISHAK, H. D.; LINKSVAYER, T. A.; MUELLER, U. G. Bacterial community composition and diversity in an ancestral ant fungus symbiosis. **FEMS Microbiology Ecology**, v. 91, n. 7, 2015.
- KING, J. R. Where do eusocial insects fit into soil food webs? **Soil Biology and Biochemistry**, v. 102, p. 55–62, 2016.
- KING, J. R.; TSCHINKEL, W. R. Experimental evidence that human impacts drive fire ant invasions and ecological change. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, v. 105, n. 51, p. 20339–20343, 23 dez. 2008.
- KIRKBY, E. Introduction, Definition and Classification of Nutrients. In: **Marschner's Mineral Nutrition of Higher Plants: Third Edition**. [s.l.] Elsevier Inc., 2011. p. 3–5.
- KRONAUER, D. J. C. Recent advances in army ant biology (Hymenoptera: Formicidae). **Myrmecological News**, v. 12, n. September, p. 51–65, 2009.
- KUAN, K. B.; OTHMAN, R.; ABDUL RAHIM, K.; SHAMSUDDIN, Z. H. Plant Growth-Promoting Rhizobacteria Inoculation to Enhance Vegetative Growth, Nitrogen Fixation and Nitrogen Remobilisation of Maize under Greenhouse Conditions. **PLOS ONE**, v. 11, n. 3, p. e0152478, 24 mar. 2016.
- KUMAR, A.; O'DONNELL, S. Elevation and forest clearing effects on foraging differ between surface - and subterranean - foraging army ants (Formicidae: Ecitoninae). **Journal of Animal Ecology**, v. 78, n. 1, p. 91–97, 2009.
- KWON, T.-S.; LEE, C.; SUNG, J. Diversity decrease of ant (Formicidae, Hymenoptera) after a forest disturbance: different responses among functional guilds. **Zoological Studies**, v. 53, n. 1, p. 37, 2014.
- LACH, L.; PARR, C.; ABBOTT, K. (EDS.). **Ant ecology**. New York: Oxford University Press, 2010.

- LAL, R. Soil health and carbon management. **Food and Energy Security**, v. 5, n. 4, p. 212–222, 2016.
- LAPOLLA, J. S.; MUELLER, U. G.; SEID, M.; COVER, S. P. Predation by the army ant *Neivamyrmex rugulosus* on the fungus-growing ant *Trachymyrmex arizonensis*. **Insectes Sociaux**, v. 49, n. 3, p. 251–256, 2002.
- LAU, S. K. P.; CHOW, W. N.; FOO, C. H.; CURREEM, S. O. T.; LO, G. C. S.; TENG, J. L. L.; CHEN, J. H. K.; NG, R. H. Y.; WU, A. K. L.; CHEUNG, I. Y. Y.; CHAU, S. K. Y.; LUNG, D. C.; LEE, R. A.; TSE, C. W. S.; FUNG, K. S. C.; QUE, T. L.; WOO, P. C. Y. *Elizabethkingia anophelis* bacteremia is associated with clinically significant infections and high mortality. **Scientific Reports**, v. 6, n. 1, p. 1–10, 17 maio 2016.
- LAVELLE, P. Conserving biodiversity in agroecosystems. n. November, 2014.
- LAVELLE, P.; BLANCHART, E.; MARTIN, A.; SPAIN, A. V.; MARTIN, S. Impact of Soil Fauna on the properties of Soils in the Humid Tropics. **Myths and Science of Soils of the Tropics. SSSA Special Publication no. 29.**, n. 29, p. 29, 1992.
- LERSTEN, N. R.; BRUBAKER, C. L. Extrafloral Nectaries in Leguminosae: Review and Original Observations in *Erythrina* and *Mucuna* (Papilionoideae; Phaseoleae). **Bulletin of the Torrey Botanical Club**, v. 114, n. 4, p. 437, out. 1987.
- LESLIE, A. W.; WANG, K. H.; MEYER, S. L. F.; MARAHATTA, S.; HOOKS, C. R. R. Influence of cover crops on arthropods, free-living nematodes, and yield in a succeeding no-till soybean crop. **Applied Soil Ecology**, v. 117–118, p. 21–31, set. 2017.
- LEVINGS, S. C.; FRANKS, N. R. Patterns of Nested Dispersion in a Tropical Ground Ant Community. **Ecology**, v. 63, n. 2, p. 338–344, 1982.
- LI, D.; ROTHBALLER, M.; ENGEL, M.; HOSER, J.; SCHMIDT, T.; KUTTLER, C.; SCHMID, M.; SCHLOTTER, M.; HARTMANN, A. Phenotypic variation in *Acidovorax radicans* influences plant growth promotion. **FEMS Microbiology Ecology**, v. 79, n. 3, p. 751–762, 1 mar. 2012.
- LIANG, Y.; NIKOLIC, M.; BÉLANGER, R.; GONG, H.; SONG, A. Silicon in agriculture: From theory to practice. **Silicon in Agriculture: From Theory to Practice**, p. 1–235, 2015a.
- LIANG, Y.; NIKOLIC, M.; BÉLANGER, R.; GONG, H.; SONG, A.; LIANG, Y.; NIKOLIC, M.; BÉLANGER, R.; GONG, H.; SONG, A. Silicon and Insect Pest Resistance. In: **Silicon in Agriculture**. Dordrecht: Springer Netherlands, 2015b. p. 197–207.
- LOBRY DE BRUYN, L. A. Ants as bioindicators of soil function in rural environments. **Agriculture, Ecosystems and Environment**, v. 74, n. 1–3, p. 425–441, 1999.
- LOBRY DE BRUYN, L. A.; CONACHER, A. J. The Role of Termites and Ants in Soil Modification: A Review. **Aust. J. Soil Res. Soil Biology and Biochemistry**, v. 28, p. 55–93, 1990.
- LOFFLER, E.; MARGULES, C. *Wombats lasiorhinus-latifrons* detected from space.

- Remote Sensing of Environment**, v. 9, p. 47–56, 1980.
- LUBCHENCO, J.; BARNER, A. K.; CERNY-CHIPMAN, E. B.; REIMER, J. N. Sustainability rooted in science. **Nature**, v. 8, n. 10, p. 741–745, 2015.
- LYFORD, W. H. **Importance of ants to brown podzolic soil genesis in New England**, 1963.
- MA, F. M.; TAKAHASHI, A. **Soil, Fertilizer, and Plant Silicon Research in Japan**. [s.l.] Elsevier Science B.V., 2002.
- MAHESHWARI, D. K.; DHEEMAN, S.; AGARWAL, M. Phytohormone-Producing PGPR for Sustainable Agriculture. In: [s.l.] Springer, Cham, 2015. p. 159–182.
- MANNA, M.; PARK, I.; SEO, Y.-S. Genomic Features and Insights into the Taxonomy, Virulence, and Benevolence of Plant-Associated Burkholderia Species. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 20, n. 1, p. 121, 29 dez. 2018.
- MANNING, D. A. C. Mineral sources of potassium for plant nutrition. A review. **Agronomy for Sustainable Development**, v. 30, n. 2, p. 281–294, 2010.
- MARICHAL, R.; GRIMALDI, M.; FEIJOO, M. A.; OSZWALD, J.; PRAXEDES, C.; RUIZ COBO, D. H.; DEL PILAR HURTADO, M.; DESJARDINS, T.; DA SILVA JUNIOR, M. L.; DA SILVA COSTA, L. G.; MIRANDA, I. S.; DELGADO OLIVEIRA, M. N.; BROWN, G. G.; TSÉLOUIKO, S.; MARTINS, M. B.; DECAËNS, T.; VELASQUEZ, E.; LAVELLE, P. Soil macroinvertebrate communities and ecosystem services in deforested landscapes of Amazonia. **Applied Soil Ecology**, v. 83, n. June, p. 177–185, 2014.
- MARÍN, L.; JACKSON, D.; PERFECTO, I. A positive association between ants and spiders and potential mechanisms driving the pattern. **Oikos**, v. 124, n. 8, p. 1078–1088, 2015.
- MARSCHNER, P. **Marschner's Mineral Nutrition of Higher Plants: Third Edition**. [s.l.] Elsevier Inc., 2011.
- MASSEY, F. P.; ENNOS, A. R.; HARTLEY, S. E. Silica in grasses as a defence against insect herbivores: Contrasting effects on folivores and a phloem feeder. **Journal of Animal Ecology**, v. 75, n. 2, p. 595–603, 31 mar. 2006.
- MASSEY, F. P.; HARTLEY, S. E. Physical defences wear you down: Progressive and irreversible impacts of silica on insect herbivores. **Journal of Animal Ecology**, v. 78, n. 1, p. 281–291, 1 jan. 2009.
- MCMURDIE, P. J.; HOLMES, S. phyloseq: An R Package for Reproducible Interactive Analysis and Graphics of Microbiome Census Data. **PLoS ONE**, v. 8, n. 4, p. e61217, 22 abr. 2013.
- MCNATTY, A.; ABBOTT, K. L.; LESTER, P. J. Invasive ants compete with and modify the trophic ecology of hermit crabs on tropical islands. **Oecologia**, v. 160, n. 1, p. 187–194, 2009.

MEHRA, O. P.; JACKSON, M. L. Iron oxide removal from soils and clays by a dithionite-citrate system buffered with sodium bicarbonate. **Proceedings 7th nat. Conf. Clays**, v. 5, p. 317–327, 1960.

MEYSMAN, F. J. R.; MIDDELBURG, J. J.; HEIP, C. H. R. Bioturbation: a fresh look at Darwin's last idea. **Trends in Ecology and Evolution**, v. 21, n. 12, p. 688–695, 2006.

MIDEGA, C. A. O.; KHAN, Z. R.; VAN DEN BERG, J.; OGOL, C. K. P. O.; BRUCE, T. J.; PICKETT, J. A. Non-target effects of the “push-pull” habitat management strategy: Parasitoid activity and soil fauna abundance. **Crop Protection**, v. 28, n. 12, p. 1045–1051, 2009.

MIDEGA, C. A. O.; KHAN, Z. R.; VAN DEN BERG, J.; OGOL, C. K. P. O.; DIPPENAAR-SCHOEMAN, A. S.; PICKETT, J. A.; WADHAMS, L. J. Response of ground-dwelling arthropods to a “push-pull” habitat management system: Spiders as an indicator group. **Journal of Applied Entomology**, v. 132, n. 3, p. 248–254, 2008.

MINCHIN, F. R.; SHEEHY, J. E.; WITTY, J. F. Further Errors in the Acetylene Reduction Assay: Effects of Plant Disturbance. **Journal of Experimental Botany**, v. 37, n. 10, p. 1581–1591, 1986.

MINCHIN, F. R.; WITTY, J. F.; SHEEHY, J. E.; MÜLLER, M. A major error in the acetylene reduction assay: Decreases in nodular nitrogenase activity under assay conditions. **Journal of Experimental Botany**, v. 34, n. 5, p. 641–649, 1983.

MITHÖFER, A.; BOLAND, W. Do you speak chemistry? Small chemical compounds represent the evolutionary oldest form of communication between organisms. **EMBO reports**, v. 17, n. 5, p. 626–9, 1 maio 2016.

MOLLOT, G.; DUYCK, P. F.; LEFEUVRE, P.; LESCOURRET, F.; MARTIN, J. F.; PIRY, S.; CANARD, E.; TIXIER, P. Cover cropping alters the diet of arthropods in a banana plantation: A metabarcoding approach. **PLoS ONE**, v. 9, n. 4, 2014.

MOLLOT, G.; TIXIER, P.; LESCOURRET, F.; QUILICI, S.; DUYCK, P.-F. New primary resource increases predation on a pest in a banana agroecosystem. **Agricultural and Forest Entomology**, v. 14, n. 3, p. 317–323, ago. 2012.

MORALES-JIMÉNEZ, J.; ZÚÑIGA, G.; VILLA-TANACA, L.; HERNÁNDEZ-RODRÍGUEZ, C. Bacterial community and nitrogen fixation in the red turpentine beetle, *dendroctonus valens* LeConte (Coleoptera: Curculionidae: Scolytinae). **Microbial Ecology**, v. 58, n. 4, p. 879–891, 2009.

MORAN, N. A.; TELANG, A. Bacteriocyte-Associated Symbionts of Insects. **BioScience**, v. 48, n. 4, p. 295–304, 1 abr. 1998.

MORRIS, D. W. Ecological scale and habitat use. **Ecology**, v. 68, n. 2, p. 362–369, 1 abr. 1987.

MURALL, C. L.; ABBATE, J. L.; PUELMA TOUZEL, M.; ALLEN-VERCOE, E.; ALIZON, S.; FROISSART, R.; MCCANN, K.; SUDAKARAN, S.; KOST, C.; KALTENPOTH, M.; OLIVER, K. M.; MARTINEZ, A. J.; HU, Y.; HOLWAY, D. A.; ŁUKASIK, P.; CHAU, L.; KAY, A. D.; LEBRUN, E. G.; MILLER, K. A.; et al. By their

own devices: invasive Argentine ants have shifted diet without clear aid from symbiotic microbes. **Molecular Ecology**, v. 25, n. 3, p. 217–228, 2017.

NABITY, P. D.; ORPET, R.; MIRESMAILLI, S.; BERENBAUM, M. R. Silica and Nitrogen Modulate Physical Defense Against Chewing Insect Herbivores in Bioenergy Crops *Miscanthus × giganteus* and *Panicum virgatum* (Poaceae). **DeLucia Source: Journal of Economic Entomology**, v. 105, n. 3, p. 878–883, 2012.

NARDI, J. B.; MACKIE, R. I.; DAWSON, J. O. Could microbial symbionts of arthropod guts contribute significantly to nitrogen fixation in terrestrial ecosystems? **Journal of Insect Physiology**, v. 48, n. 8, p. 751–763, 2002.

NEUMANN, K.; STRÖMBERG, C. A. E.; BALL, T.; ALBERT, R. M.; VRYDAGHS, L.; CUMMINGS, L. S. International Code for Phytolith Nomenclature (ICPN) 2.0. **Annals of Botany**, 23 jul. 2019.

NKEM, J. N.; DE BRUYN, L. A. L.; GRANT, C. D.; HULUGALLE, N. R. The impact of ant bioturbation and foraging activities on surrounding soil properties. **Pedobiologia**, v. 44, p. 609–621, 2000.

NOGUEIRA, A. R. DE A.; MATOS, A. DE O.; CARMO, C. A. F. DE S. DO; SILVA, O. J.; MONTEIRO, F. L.; OLIVEIRA, G. B. DE S.; PITTA, G. V. E.; CARLOS, G. M.; OLIVEIRA, H. DE; COMASTRI FILHO, J. A.; MIYAZAWA, M.; OLIVEIRA NETO, W. DE. **Tecido Vegetal**. São Carlos: Embrapa Pecuária Sudeste, 2005.

NOVOTNY, V.; BASSET, Y.; AUGA, J.; BOEN, W.; DAL, C.; DROZD, P.; KASBAL, M.; ISUA, B.; KUTIL, R.; MANUMBOR, M. Predation risk for herbivorous insects on tropical vegetation: A search for enemy-free space and time. **Austral Ecology**, v. 24, n. 5, p. 477–483, out. 1999.

O'DOWD, D. J. Pearl Bodies as Ant Food: An Ecological Role for Some Leaf Emergences of Tropical Plants. **Biotropica**, v. 14, n. 1, p. 40, mar. 1982.

OZAKI, K.; TAKASHIMA, S.; SUKO, O. Ant Predation Suppresses Populations of the Scale Insect *Aulacaspis marina* in Natural Mangrove. **Biotropica**, v. 32, n. 4, p. 764–768, 2000.

PACHECO, J. A.; MACKAY, W. P. **THE SYSTEMATICS AND BIOLOGY OF THE NEW WORLD THIEF ANTS OF THE GENUS SOLENOPSIS (HYMENOPTERA: FORMICIDAE)**. Lewiston, Queenston, Lampeter: The Edwin Mellen Press, 2013.

PATON, T. R.; HUMPHREYS, G. S.; MITCHELL, P. B. **Soils: a new global view**. London: UCL Press, 1995.

PERFECTO, I. Foraging behavior as a determinant of asymmetric competitive interaction between two ant species in a tropical agroecosystem. **Oecologia**, v. 98, p. 184–192, 1994.

PERFECTO, I.; VANDERMEER, J. The agroecological matrix as alternative to the land-sparing/agriculture intensification model. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, v. 107, n. 13, p. 5786–91, 2010.

- PERRICHOT, V.; LACAU, S.; NÉRAUDEAU, D.; NEL, A. Fossil evidence for the early ant evolution. **Naturwissenschaften**, v. 95, n. 2, p. 85–90, 2008.
- PHILLIPS, J. D. Soils as extended composite phenotypes. **Geoderma**, v. 149, n. 1–2, p. 143–151, 15 fev. 2009.
- PIANKA, E. R. **Evolutionary ecology**. [s.l.] Benjamin Cummings, 2000.
- PICKETT, J. A.; WOODCOCK, C. M.; MIDEGA, C. A.; KHAN, Z. R. Push–pull farming systems. **Current Opinion in Biotechnology**, v. 26, p. 125–132, 1 abr. 2014.
- PINKALSKI, C.; DAMGAARD, C.; JENSEN, K. M. V; PENG, R.; OFFENBERG, J. Quantification of Ant Manure Deposition in a Tropical Agroecosystem: Implications for Host Plant Nitrogen Acquisition. **Ecosystems**, v. 18, n. 8, p. 1373–1382, 2015.
- PINTO-TOMÁS, A. A.; ANDERSON, M. A.; SUEN, G.; STEVENSON, D. M.; CHU, F. S. T.; CLELAND, W. W.; WEIMER, P. J.; CURRIE, C. R. Supporting Online Material for Symbiotic Nitrogen Fixation in the Fungus Gardens of Leaf-Cutter Ants Materials and Methods. 2009a.
- PINTO-TOMÁS, A. A.; ANDERSON, M. A.; SUEN, G.; STEVENSON, D. M.; CHU, F. S. T. T.; CLELAND, W. W.; WEIMER, P. J.; CURRIE, C. R.; WALLACE CLELAND, W.; WEIMER, P. J.; CURRIE, C. R.; PINTO-TOMAS, A. A.; ANDERSON, M. A.; SUEN, G.; STEVENSON, D. M.; CHU, F. S. T. T.; CLELAND, W. W.; WEIMER, P. J.; CURRIE, C. R.; et al. Symbiotic nitrogen fixation in the fungus gardens of leaf-cutting ants. **Science**, v. 326, n. November 2009, p. 1120–1123, 2009b.
- POLLITT, E. J. G.; SZKUTA, P. T.; BURNS, N.; FOSTER, S. J. Staphylococcus aureus infection dynamics. **PLOS Pathogens**, v. 14, n. 6, p. e1007112, 14 jun. 2018.
- PONGE, J.-F. The soil as an ecosystem. **Biology and Fertility of Soils**, v. 51, n. 6, p. 645–658, 2015.
- PONGE, J. F. Disturbances, organisms and ecosystems: A global change perspective. **Ecology and Evolution**, v. 3, n. 4, p. 1113–1124, 2013.
- POTPROMMANEE, L.; WANG, X.-Q.; HAN, Y.-J.; NYOBE, D.; PENG, Y.-P.; HUANG, Q.; LIU, J.; LIAO, Y.-L.; CHANG, K.-L. Characterization of a thermophilic cellulase from *Geobacillus* sp. HTA426, an efficient cellulase-producer on alkali pretreated of lignocellulosic biomass. **PLOS ONE**, v. 12, n. 4, p. e0175004, 13 abr. 2017.
- POWELL, C. M.; HANSON, J. D.; BEXTINE, B. R. Bacterial Community Survey of *Solenopsis invicta* Buren (Red imported fire Ant) Colonies in the Presence and Absence of *Solenopsis invicta* Virus (SINV). **Current Microbiology**, v. 69, n. 4, p. 580–585, 1 out. 2014.
- PRESTWICH, G. D.; BENTLEY, B. L.; CARPENTER, E. J. Nitrogen sources for neotropical nasute termites: Fixation and selective foraging. **Oecologia**, v. 46, n. 3, p. 397–401, 1980.
- QUAST, C.; PRUESSE, E.; YILMAZ, P.; GERKEN, J.; SCHWEER, T.; YARZA, P.; PEPLIES, J.; GLÖCKNER, F. O. The SILVA ribosomal RNA gene database project:

Improved data processing and web-based tools. **Nucleic Acids Research**, v. 41, n. D1, p. D590–D596, 1 jan. 2013.

R CORE TEAM. **R: A language and environment for statistical computing** Vienna, Austria R Foundation for Statistical Computing, , 2018.

RADHAKRISHNAN, R.; HASHEM, A.; ABD ALLAH, E. F. Bacillus: A biological tool for crop improvement through bio-molecular changes in adverse environments. **Frontiers in Physiology**, v. 8, n. SEP, p. 667, 6 set. 2017.

RAMOS, P. L.; VAN TRAPPEN, S.; THOMPSON, F. L.; ROCHA, R. C. S.; BARBOSA, H. R.; DE VOS, P.; MOREIRA-FILHO, C. A. Screening for endophytic nitrogen-fixing bacteria in Brazilian sugar cane varieties used in organic farming and description of *Stenotrophomonas Pavanii* sp. nov. **International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology**, v. 61, n. 4, p. 926–931, 1 abr. 2011.

REDDY, G. V. P.; GUERRERO, A. **Interactions of insect pheromones and plant semiochemicals** **Trends in Plant Science**, 2004. Disponível em: <<http://citeseerx.ist.psu.edu/viewdoc/download?doi=10.1.1.571.7942&rep=rep1&type=pdf>>. Acesso em: 16 abr. 2018

REMIGI, P.; ZHU, J.; YOUNG, J. P. W.; MASSON-BOIVIN, C. Symbiosis within Symbiosis: Evolving Nitrogen-Fixing Legume Symbionts. **Trends in Microbiology**, v. 24, n. 1, p. 63–75, jan. 2016.

REYES, R. D. H.; CAFARO, M. J. Paratrechina longicornis ants in a tropical dry forest harbor specific Actinobacteria diversity. **Journal of Basic Microbiology**, v. 55, n. 1, p. 11–21, 2015.

REYNOLDS, O. L.; PADULA, M. P.; ZENG, R.; GURR, G. M. Silicon: Potential to promote direct and indirect effects on plant defense against arthropod pests in agriculture. **Frontiers in Plant Science**, v. 7, n. June, p. 744, 13 jun. 2016.

RICHARDS, P. J. Aphaenogaster ants as bioturbators: Impacts on soil and slope processes. **Earth-Science Reviews**, v. 96, n. 1–2, p. 92–106, 2009.

RINK, W. J.; DUNBAR, J. S.; TSCHINKEL, W. R.; KWAPICH, C.; REPP, A.; STANTON, W.; THULMAN, D. K. Subterranean transport and deposition of quartz by ants in sandy sites relevant to age overestimation in optical luminescence dating. **Journal of Archaeological Science**, v. 40, n. 4, p. 2217–2226, 2013.

ROBERTS, D. L.; COOPER, R. J.; PETIT, L. J. Use of premontane moist forest and shade coffee agroecosystems by army ants in western Panama. **Conservation Biology**, v. 14, n. 1, p. 192–199, 2000.

RODRIGUES, F. A.; DATNOFF, L. E. **Silicon and plant diseases**. [s.l.] Springer International Publishing, 2015.

ROSLIN, T.; HARDWICK, B.; NOVOTNY, V.; PETRY, W. K.; ANDREW, N. R.; ASMUS, A.; BARRIO, I. C.; BASSET, Y.; BOESING, A. L.; BONEBRAKE, T. C.; CAMERON, E. K.; DÁTTILO, W.; DONOSO, D. A.; DROZD, P.; GRAY, C. L.; HIK, D. S.; HILL, S. J.; HOPKINS, T.; HUANG, S.; et al. Latitudinal gradients: Higher

predation risk for insect prey at low latitudes and elevations. **Science**, v. 356, n. 6339, p. 742–744, 19 maio 2017.

RUBIN, B. E. R.; SANDERS, J. G.; HAMPTON-MARCELL, J.; OWENS, S. M.; GILBERT, J. A.; MOREAU, C. S. DNA extraction protocols cause differences in 16S rRNA amplicon sequencing efficiency but not in community profile composition or structure. **MicrobiologyOpen**, v. 3, n. 6, p. 910–921, 2014.

RUSSELL, J. A.; MOREAU, C. S.; GOLDMAN-HUERTAS, B.; FUJIWARA, M.; LOHMAN, D. J.; PIERCE, N. E. Bacterial gut symbionts are tightly linked with the evolution of herbivory in ants. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, v. 106, n. 50, p. 21236–21241, 2009.

SAIZ, E.; SGOURIDIS, F.; DRIJFHOUT, F. P.; ULLAH, S. Biological nitrogen fixation in peatlands: Comparison between acetylene reduction assay and $^{15}\text{N}_2$ assimilation methods. **Soil Biology and Biochemistry**, v. 131, p. 157–165, 1 abr. 2019.

SANABRIA, C.; LAVELLE, P.; FONTE, S. J. Ants as indicators of soil-based ecosystem services in agroecosystems of the Colombian Llanos. **Applied Soil Ecology**, v. 84, p. 24–30, 2014.

SÁNCHEZ-LÓPEZ, A.; PINTELON, I.; STEVENS, V.; IMPERATO, V.; TIMMERMANS, J.-P.; GONZÁLEZ-CHÁVEZ, C.; CARRILLO-GONZÁLEZ, R.; VAN HAMME, J.; VANGRONVELD, J.; THIJS, S. Seed Endophyte Microbiome of *Crotalaria pumila* Unpeeled: Identification of Plant-Beneficial Methylobacteria. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 19, n. 1, p. 291, 19 jan. 2018.

SAPOUNTZIS, P.; ZHUKOVA, M.; HANSEN, L. H.; SØRENSEN, S. J.; SCHIØTT, M.; BOOMSMA, J. J. Acromyrmex leaf-cutting ants have simple gut microbiota with nitrogen-fixing potential. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 81, n. 16, p. 5527–5537, 2015.

SCHAETZL, R. J.; ANDERSON, S. **Soils: Genesis and Geomorphology**. 1ª ed. New York: Cambridge University Press, 2005.

SCHIPANSKI, M. E.; BARBERCHECK, M.; DOUGLAS, M. R.; FINNEY, D. M.; HAIDER, K.; KAYE, J. P.; KEMANIAN, A. R.; MORTENSEN, D. A.; RYAN, M. R.; TOOKER, J.; WHITE, C. A framework for evaluating ecosystem services provided by cover crops in agroecosystems. **Agricultural Systems**, v. 125, p. 12–22, mar. 2014.

SCHNEIRLA, T. C. STUDIES ON ARMY ANTS IN PANAMA. 1932.

SCHNEIRLA, T. C. Raiding and Other Outstanding Phenomena in the Behavior of Army Ants. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 20, n. 5, p. 316–321, 1934.

SCHÖNING, C.; MOFFETT, M. W. Driver ants invading a termite nest: Why do the most catholic predators of all seldom take this abundant prey? **Biotropica**, v. 39, n. 5, p. 663–667, 2007.

SCHRÖDER, D.; DEPPISCH, H.; OBERMAYER, M.; KROHNE, G.; STACKEBRANDT, E.; HÖLLDOBLER, B.; GOEBEL, W.; GROSS, R. Intracellular endosymbiotic bacteria of *Camponotus* species (carpenter ants): systematics, evolution

and ultrastructural characterization. **Molecular Microbiology**, v. 21, n. 3, p. 479–489, ago. 1996.

SEAMAN, R. E.; MARINO, P. C. Influence of Mound Building and Selective Seed Predation by the Red Imported Fire Ant (*Solenopsis invicta*) on an Old-Field Plant Assemblage. **Journal of the Torrey Botanical Society**, v. 130, n. 3, p. 193, jul. 2003.

SEN, R.; ISHAK, H. D.; ESTRADA, D.; DOWD, S. E.; HONG, E.; MUELLER, U. G. Generalized antifungal activity and 454-screening of *Pseudonocardia* and *Amycolatopsis* bacteria in nests of fungus-growing ants. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, v. 106, n. 42, p. 17805–10, 2009.

SHANNON, C. **A Mathematical Theory of Communication**, **Bell System Technical Journal**, 1948. Disponível em: <<http://math.harvard.edu/~ctm/home/text/others/shannon/entropy/entropy.pdf>>. Acesso em: 24 maio. 2017

SHARMA, I. P.; CHANDRA, S.; KUMAR, N.; CHANDRA, D. PGPR: Heart of soil and their role in soil fertility. In: **Agriculturally Important Microbes for Sustainable Agriculture**. Singapore: Springer Singapore, 2017. v. 1p. 51–67.

SHELTON, A. M.; BADENES-PEREZ, F. R. Concepts and Applications of Trap Cropping in Pest Management. **Annual Review of Entomology**, v. 51, n. 1, p. 285–308, 2006.

SHOWLER, A. T.; KNAUS, R. M.; REAGAN, T. E. Studies of the territorial dynamics of the red imported fire ant (*Solenopsis invicta* Buren, Hymenoptera: Formicidae). **Agriculture, Ecosystems and Environment**, v. 30, n. 1–2, p. 97–105, 1 jan. 1990.

SHUKLA, R. K.; SINGH, H.; RASTOGI, N.; AGARWAL, V. M. Impact of abundant Pheidole ant species on soil nutrients in relation to the food biology of the species. **Applied Soil Ecology**, v. 71, n. SEPTEMBER 2013, p. 15–23, 2013.

SILVA-JUNIOR, E. A.; RUZZINI, A. C.; PALUDO, C. R.; NASCIMENTO, F. S.; CURRIE, C. R.; CLARDY, J.; PUPO, M. T. Pyrazines from bacteria and ants: Convergent chemistry within an ecological niche. **Scientific Reports**, v. 8, n. 1, p. 2595, 7 dez. 2018.

SINGH, R. P.; JHA, P. N. The PGPR *Stenotrophomonas maltophilia* SBP-9 augments resistance against biotic and abiotic stress in wheat plants. **Frontiers in Microbiology**, v. 8, n. OCT, p. 1945, 9 out. 2017.

SIROVÁ, D.; ŠANTRŮČEK, J.; ADAMEC, L.; BÁRTA, J.; BOROVEC, J.; PECH, J.; OWENS, S. M.; ŠANTRŮČKOVÁ, H.; SCHÄUFELE, R.; ŠTORCHOVÁ, H.; VRBA, J. Dinitrogen fixation associated with shoots of aquatic carnivorous plants: Is it ecologically important? **Annals of Botany**, v. 114, n. 1, p. 125–133, 2014.

SKOURI-PANET, F.; BENZERARA, K.; COSMIDIS, J.; FÉRARD, C.; CAUMES, G.; DE LUCA, G.; HEULIN, T.; DUPRAT, E. In vitro and in silico evidence of phosphatase diversity in the biomineralizing bacterium *Ramlibacter tataouinensis*. **Frontiers in Microbiology**, v. 8, n. JAN, p. 2592, 11 jan. 2018.

SMITH, J. J.; PLATT, B. F.; LUDVIGSON, G. A.; THOMASSON, J. R. Ant-nest ichnofossils in honeycomb calcretes, Neogene Ogallala Formation, High Plains region of western Kansas, U.S.A. **Palaeogeography, Palaeoclimatology, Palaeoecology**, v. 308, n. 3–4, p. 383–394, 2011.

SMITH, V. R. Introduced slugs and indigenous caterpillars as facilitators of carbon and nutrient mineralisation on a sub-Antarctic island. **Soil Biology and Biochemistry**, v. 39, n. 2, p. 709–713, 1 fev. 2007.

SOARES, R. M.; FANTINATO, G. G. P.; FERREIRA, E. G. C.; MARCELINO-GUIMARÃES, F. C. Plant-to-seed transmission of *Curtobacterium flaccumfaciens* pv. *flaccumfaciens* on soybean. **Tropical Plant Pathology**, v. 43, n. 4, p. 376–379, 1 ago. 2018.

SOBHY, I. S.; ERB, M.; TURLINGS, T. C. Plant strengtheners enhance parasitoid attraction to herbivore-damaged cotton via qualitative and quantitative changes in induced volatiles. **Pest Management Science**, v. 71, n. 5, p. 686–693, 1 maio 2015.

SOMMER, M.; KACZOREK, D.; KUZYAKOV, Y.; BREUER, J. Silicon pools and fluxes in soils and landscapes - A review. **Journal of Plant Nutrition and Soil Science**, v. 169, n. 3, p. 310–329, 2006.

SOUZA, H. J. DE; DELABIE, J. H. C. ‘Murundus’ structures in the semi-arid region of Brazil: testing their geographical congruence with mound-building termites (Blattodea: Termitoidea: Termitidae). **Annales de la Societe Entomologique de France**, v. 52, n. 6, p. 369–385, 2016.

SOUZA, J. L. P. DE; MOURA, C. A. R. DE; FRANKLIN, E. Eficiência em inventários de formigas em uma reserva florestal na Amazônia Central. **Pesquisa Agropecuaria Brasileira**, v. 44, n. 8, p. 940–948, 2009.

SOUZA, J. L. P.; MOURA, C. A. R. Predation of ants and termites by army ants, *Nomamyrmex esenbeckii* (Formicidae, Ecitoninae). in the Brazilian Amazon. **Sociobiology**, v. 52, n. 2, 2008.

SPATZAL, T.; PEREZ, K. A; EINSLE, O.; HOWARD, J. B.; REES, D. C. Ligand binding to the FeMo-cofactor: Structures of CO-bound and reactivated nitrogenase. **Science**, v. 345, n. 6204, p. 1620–1623, 2014.

STAAL, M.; LINTEL-HEKKERT, S. TE; HARREN, F.; STAL, L. Nitrogenase activity in cyanobacteria measured by the acetylene reduction assay: a comparison between batch incubation and on-line monitoring. **Environmental Microbiology**, v. 3, n. 5, p. 343–351, maio 2001.

STEIN, L. Y.; KLOTZ, M. G. **The nitrogen cycle** Current Biology Cell Press, , 8 fev. 2016.

STILES, J. H.; JONES, R. H. Top-down Control by the Red Imported Fire Ant (*Solenopsis invicta*). **The American Midland Naturalist**, v. 146, n. 1, p. 171–185, 2001.

STREET-PERROTT, F. A.; BARKER, P. A. Biogenic silica: a neglected component of the coupled global continental biogeochemical cycles of carbon and silicon. **Earth Surf.**

Process. Landforms, v. 33, p. 1436–1457, 2008.

STRÖMBERG, C. A. E.; DI STILIO, V. S.; SONG, Z. Functions of phytoliths in vascular plants: an evolutionary perspective. **Functional Ecology**, v. 30, n. 8, p. 1286–1297, 1 ago. 2016.

STUART, R. J.; JACKSON, I. W.; MCCOY, C. W. Predation on neonate larvae of *Diaprepes abbreviatus* (Coleoptera: Curculionidae) in Florida citrus: Testing for daily patterns of neonate drop, ant predators and chemical repellency. **Florida Entomologist**, v. 86, n. 1, p. 61–72, 2003.

STÜEKEN, E. E.; BUICK, R.; GUY, B. M.; KOEHLER, M. C. Isotopic evidence for biological nitrogen fixation by molybdenum-nitrogenase from 3.2 Gyr. **Nature**, v. 520, n. 7549, p. 666–669, 16 abr. 2015.

SUDAKARAN, S.; KOST, C.; KALTENPOTH, M.; MORMUL, R. P.; FERREIRA, F. A.; MICHELAN, T. S.; CARVALHO, P.; SILVEIRA, M. J.; THOMAZ, S. M.; OLIVER, K. M.; MARTINEZ, A. J.; LAYEGHIFARD, M.; HWANG, D. M.; GUTTMAN, D. S.; HU, Y.; HOLWAY, D. A.; ŁUKASIK, P.; CHAU, L.; KAY, A. D.; et al. How resident microbes modulate ecologically-important traits of insects. **Trends in Microbiology**, v. 25, n. 3, p. 375–390, 2017.

TAMAYO, D.; HEIL, M. N Fixation in Insects : Its Potential Contribution to N Cycling in Ecosystems and Insect Biomass. In: BRUIJN, F. J. DE (Ed.). **Biological Nitrogen Fixation**. 1^a ed. [s.l.] Willey-Blackwell, 2015. v. 2p. 1141–1149.

TÄYASU, I.; SUGIMOTO, A.; WADA, E.; ABE, T. Xylophagous termites depending on atmospheric nitrogen. **Naturwissenschaften**, v. 81, n. 5, p. 229–231, 1994.

TEIXEIRA, P. C.; DONAGEMMA, G. K.; FONTANA, A.; TEIXEIRA, W. G. **Manual de métodos de análise de solo**. Brasília: EMBRAPA, 2017.

TILMAN, D.; CASSMAN, K. G.; MATSON, P. A.; NAYLOR, R.; POLASKY, S. Agriculture sustainability and intensive production practices. **Nature**, v. 418, n. 8 August, p. 671–677, 2002.

TRIBOUILLOIS, H.; FORT, F.; CRUZ, P.; CHARLES, R.; FLORES, O.; GARNIER, E.; JUSTES, E. A Functional Characterisation of a Wide Range of Cover Crop Species: Growth and Nitrogen Acquisition Rates, Leaf Traits and Ecological Strategies. **PLOS ONE**, v. 10, n. 3, p. e0122156, 19 mar. 2015.

TSCHINKEL, W. R. Sociometry and sociogenesis of colonies of the fire ant *Solenopsis invicta* during one annual cycle. **Ecological Monographs**, v. 63, n. 4, p. 425–457, fev. 1993.

TSCHINKEL, W. R. Subterranean ant nests: Trace fossils past and future? **Palaeogeography, Palaeoclimatology, Palaeoecology**, v. 192, n. 1–4, p. 321–333, 2003.

TSCHINKEL, W. R. Methods for casting subterranean ant nests. **Journal of insect science (Online)**, v. 10, n. 88, p. 88, 2010.

TSCHINKEL, W. R. Biomantling and bioturbation by colonies of the Florida harvester

- ant, *Pogonomyrmex badius*. **PLoS ONE**, v. 10, n. 3, p. 1–19, 2015.
- TSCHUMI, M.; ALBRECHT, M.; COLLATZ, J.; DUBSKY, V.; ENTLING, M. H.; NAJAR-RODRIGUEZ, A. J.; JACOT, K. Tailored flower strips promote natural enemy biodiversity and pest control in potato crops. **Journal of Applied Ecology**, v. 53, n. 4, p. 1169–1176, 1 ago. 2016.
- TUBAÑA, B. S.; HECKMAN, J. R. Silicon in soils and plants. In: **Silicon and Plant Diseases**. [s.l.] Springer International Publishing, 2015. p. 7–51.
- TUMA, J.; EGGLETON, P.; FAYLE, T. M. Ant-termite interactions: an important but under-explored ecological linkage. **Biological Reviews**, v. 95, n. 3, p. 555–572, 25 jun. 2020.
- TZIPERMAN, E.; HALEVY, I.; JOHNSTON, D. T.; KNOLL, A. H.; SCHRAG, D. P. Biologically induced initiation of Neoproterozoic snowball-Earth events. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, v. 108, n. 37, p. 15091–6, 2011.
- UBEDA, C.; BUCCI, V.; CABALLERO, S.; DJUKOVIC, A.; TOUSSAINT, N. C.; EQUINDA, M.; LIPUMA, L.; LING, L.; GOBOURNE, A.; NO, D.; TAUR, Y.; JENQ, R. R.; VAN DEN BRINK, M. R. M.; XAVIER, J. B.; PAMER, E. G. Intestinal Microbiota Containing *Barnesiella* Species Cures Vancomycin-Resistant *Enterococcus faecium* Colonization. 2013.
- VAN DAM, N. M.; BOUWMEESTER, H. J. Metabolomics in the Rhizosphere: Tapping into Belowground Chemical Communication. **Trends in Plant Science**, v. 21, n. 3, p. 256–265, 2016.
- VAN DEN BERG, H. **Natural control of *Helicoverpa armigera* in smallholder crops in East Africa**. [s.l.: s.n.].
- VAN DER PUTTEN, W. H.; BARDGETT, R. D.; DE RUITER, P. C.; HOL, W. H. G.; MEYER, K. M.; BEZEMER, T. M.; BRADFORD, M. A.; CHRISTENSEN, S.; EPPINGA, M. B.; FUKAMI, T.; HEMERIK, L.; MOLOFSKY, J.; SCHÄDLER, M.; SCHERBER, C.; STRAUSS, S. Y.; VOS, M.; WARDLE, D. A. Empirical and theoretical challenges in aboveground-belowground ecology. **Oecologia**, v. 161, n. 1, p. 1–14, 2009.
- VASCONCELLOS, A.; SANTANA, G. G.; SOUZA, A. K. Nest spacing and architecture, and swarming of males of *Dinoponera quadriceps* (Hymenoptera, Formicidae) in a remnant of the Atlantic forest in Northeast Brazil. **Brazilian Journal of Biology**, v. 64, n. 2, p. 357–362, 2004.
- VIDKJÆR, N. H.; WOLLENWEBER, B.; GISLUM, R.; JENSEN, K. M. V.; FOMSGAARD, I. S. Are ant feces nutrients for plants? A metabolomics approach to elucidate the nutritional effects on plants hosting weaver ants. **Metabolomics**, v. 11, n. 4, p. 1013–1028, 2015.
- VIEIRA, A. S.; ANTONIALLI-JUNIOR, W. F.; FERNANDES, W. D. Modelo arquitetônico de ninhos da formiga *Ectatomma vizotoi* Almeida (Hymenoptera, Formicidae). **Revista Brasileira de Entomologia**, v. 489, n. 1997, p. 489–493, 2007.

- VIMAL, S. R.; PATEL, V. K.; SINGH, J. S. Plant growth promoting *Curtobacterium albidum* strain SRV4: An agriculturally important microbe to alleviate salinity stress in paddy plants. **Ecological Indicators**, v. 105, p. 553–562, 1 out. 2019.
- VITOUSEK, P. M.; CASSMAN, K.; CLEVELAND, C.; CREWS, T.; FIELD, C. B.; GRIMM, N. B.; HOWARTH, R. W.; MARINO, R.; MARTINELLI, L.; RASTETTER, E. B.; SPRENT, J. I. Towards an ecological understanding of biological nitrogen fixation. **Biogeochemistry**, v. 5758, p. 1–45, 2002.
- VOGT, J. T.; GRANTHAM, R. A.; SMITH, W. A.; ARNOLD, D. C. Prey of the Red Imported Fire Ant (Hymenoptera: Formicidae) in Oklahoma Peanuts. **Environmental Entomology**, v. 30, n. 1, p. 123–128, 1 fev. 2001.
- WALL, D. H.; SIX, J. Give soils their due. **Science**, v. 347, n. 6223, p. 695, 2015.
- WANG, D.; MCSWEENEY, K.; LOWERY, B.; NORMAN, J. M. Nest structure of ant *Lasius neoniger* Emery and its implications to soil modification. **Geoderma**, v. 66, n. 3, p. 259–272, 1995.
- WARD, P. S. Phylogeny, classification, and species-level taxonomy of ants (Hymenoptera: Formicidae). **Zootaxa**, v. 563, n. 1668, p. 549–563, 2007.
- WARD, P. S. The Phylogeny and Evolution of Ants. **Annual Review of Ecology, Evolution, and Systematics**, v. 45, n. 1, 2014.
- WAY, M. J.; KHOO, K. C. Role of Ants in Pest Management. **Annual Review of Entomology**, n. 45, p. 479–503, 1992.
- WEBER, M. G.; PORTURAS, L. D.; KEELER, K. H. **World List of Plants with Extrafloral Nectaries - Home**. Disponível em: <<http://www.extrafloralnectaries.org/>>. Acesso em: 16 abr. 2018.
- WEIL, R. R.; BRADY, N. C. **The Nature and Properties of Soils**. 15. ed. Essex: Pearson Higher Ed USA, 2016.
- WIELGOSS, A.; TSCHARNTKE, T.; RUMEDE, A.; FIALA, B.; SEIDEL, H.; SHAHABUDDIN, S.; CLOUGH, Y. Interaction complexity matters: disentangling services and disservices of ant communities driving yield in tropical agroecosystems. **Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences**, v. 281, n. 1775, 2014.
- WILKINSON, M. T.; RICHARDS, P. J.; HUMPHREYS, G. S. Breaking ground: Pedological, geological, and ecological implications of soil bioturbation. **Earth-Science Reviews**, v. 97, n. 1–4, p. 257–272, 2009.
- WILSKE, B.; ECCARD, J. A.; ZISTL-SCHLINGMANN, M.; HOHMANN, M.; METHLER, A.; HERDE, A.; LIESENJOHANN, T.; DANNENMANN, M.; BUTTERBACH-BAHL, K.; BREUER, L. Effects of short term bioturbation by common voles on biogeochemical soil variables. **PLoS ONE**, v. 10, n. 5, p. 1–19, 2015.
- WILSON, E. O. The organization of colony defense in the ant *Pheidole dentata* mayr (Hymenoptera: Formicidae). **Behavioral Ecology and Sociobiology**, v. 1, n. 1, p. 63–81, 1976.

WILSON, E. O.; TAYLOR, R. W. A fossil ant colony. **Psyche**, v. 71, n. 1964, p. 93–103, 1964.

WONISCH, H.; GÉRARD, F.; DIETZEL, M.; JAFFRAIN, J.; NESTROY, O.; BOUDOT, J. P. Occurrence of polymerized silicic acid and aluminum species in two forest soil solutions with different acidity. **Geoderma**, v. 144, n. 3–4, p. 435–445, 15 abr. 2008.

WOOLFOLK, S.; STOKES, C. E.; WATSON, C.; BROWN, R.; BAIRD, R. Bacteria Associated with Red Imported Fire Ants (*Solenopsis invicta*) from Mounds in Mississippi. **Southeastern Naturalist**, v. 15, n. 1, p. 83–101, 1 mar. 2016.

WU, D.; ZENG, L.; ZHOU, A.; XU, Y. Effects of *Solenopsis invicta* (Hymenoptera: Formicidae) Tending on the Probing Behavior of *Phenacoccus solenopsis* (Hemiptera: Pseudococcidae). **Florida Entomologist**, v. 96, n. 4, p. 1343–1349, 1 dez. 2013.

YAN, G. C.; NIKOLIC, M.; YE, M. JUN; XIAO, Z. X.; LIANG, Y. C. Silicon acquisition and accumulation in plant and its significance for agriculture. **Journal of Integrative Agriculture**, v. 17, n. 10, p. 2138–2150, 2018.

YI, Z.; YU, S. H. I.; HAI-JUN, G.; HAI-LIANG, Z.; HUAN-LI, L. I.; YAN-HONG, H. U.; YI-CHAO, W. Beneficial effects of silicon on photosynthesis of tomato seedlings under water stress. **Journal of Integrative Agriculture**, v. 17, n. 10, p. 2151–2159, 2018.

ZADEL, U.; NESME, J.; MICHALKE, B.; VESTERGAARD, G.; PŁAZA, G. A.; SCHRÖDER, P.; RADL, V.; SCHLOTTER, M. Changes induced by heavy metals in the plant-associated microbiome of *Miscanthus x giganteus*. **Science of the Total Environment**, v. 711, p. 134433, 1 abr. 2020.

ZHANG, Y.; GAO, X.; SHEN, Z.; ZHU, C.; JIAO, Z.; LI, R.; SHEN, Q. Pre-colonization of PGPR triggers rhizosphere microbiota succession associated with crop yield enhancement. **Plant and Soil**, v. 439, n. 1–2, p. 553–567, 15 jun. 2019.