



UNIVERSIDADE ESTADUAL DO SUDOESTE DA BAHIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM AGRONOMIA
ÁREA DE CONCENTRAÇÃO: FITOTECNIA

BIOATIVIDADE DE EXTRATOS VEGETAIS A OPERÁRIAS DE *Atta sexdens*
(HYMENOPTERA: FORMICIDAE) EM DUAS METODOLOGIAS DE
EXPOSIÇÃO POR INGESTÃO

FLÁVIA VIDAL TEIXEIRA

VITÓRIA DA CONQUISTA
BAHIA - BRASIL

2022

FLÁVIA VIDAL TEIXEIRA

**BIOATIVIDADE DE EXTRATOS VEGETAIS A OPERÁRIAS DE *Atta sexdens*
(HYMENOPTERA: FORMICIDAE) EM DUAS METODOLOGIAS DE
EXPOSIÇÃO POR INGESTÃO**

Dissertação apresentada à Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Agronomia, Área de concentração em Fitotecnia, para obtenção do título de “Mestre”.

Orientadora: Profa. Dra. Aldenise Alves Moreira
Coorientadora: Profa. Dra. Aline Silva

VITÓRIA DA CONQUISTA
BAHIA – BRASIL

2022

T266b

Teixeira, Flávia Vidal.

Bioatividade de extratos vegetais a operárias de *Atta sexdens* (Hymenoptera: Formicidae) em duas metodologias de exposição por ingestão. / Flávia Vidal Teixeira, 2022.

63f.: il.

Orientador (a): Dr^a. Aldenise Alves Moreira.

Dissertação (mestrado) – Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia, Programa de Pós-Graduação em Agronomia, Área de concentração em Fitotecnia. Vitória da Conquista, 2022.

Inclui referência F. 36 - 50.

1. Formiga cortadeira. 2. Controle - Iscas formicidas. 3. Plantas tóxicas. I. Moreira, Aldenise Alves. II. Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia, Programa de Pós-Graduação em Agronomia. T.III.

CDD. 632.7

Catálogo na fonte: **Juliana Teixeira de Assunção – CRB 5/1890**

UESB – Campus Vitória da Conquista – BA



UNIVERSIDADE ESTADUAL DO SUDOESTE DA BAHIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM AGRONOMIA
Área de Concentração em Fitotecnia

Campus de Vitória da Conquista, BA

DECLARAÇÃO DE APROVAÇÃO

Título: Bioatividade de extratos vegetais a operárias de *Atta sexdens* (Hymenoptera: Formicidae) em duas metodologias de exposição por ingestão.

Autor (a): Flávia Vidal Teixeira

Aprovado como parte das exigências para obtenção do Título de MESTRE EM AGRONOMIA, ÁREA DE CONCENTRAÇÃO EM FITOTECNIA, pela seguinte Banca Examinadora:

Aldenise Alves Moreira, D.Sc., Presidente (UESB)

Vanderlúcia Fonseca de Paula, D.Sc., (UESB)

Roberto da Silva Camargo, D.Sc., (UNESP)

Data de realização: 31 de Agosto de 2022

Estrada do Bem Querer, Km 4, CEP 45031-900, Caixa Postal 95, Vitória da Conquista, Bahia, Brasil
Telefone: (77) 3425-9383, e- mail: ppgagronomia@uesb.edu.br

DEDICATÓRIA

A minha amada mãe Solange (Severina da Silva Teixeira), pelo esforço para que eu chegasse até aqui. Ao meu noivo, Tácio de Jesus Andrade, por todo apoio e incentivo. Ao meu pai (*In memoriam*), José Vidal Teixeira, que infelizmente não está mais entre nós, mas fico feliz em realizar seu sonho.

AGRADECIMENTOS

A Deus e meus guias, por mostrar meus caminhos e ser meu refúgio em momentos difíceis.

À minha irmã e sobrinha, Fernanda Vidal e Maria Fernanda Vidal, pelo amor incondicional, apoio, incentivo, confiança e por serem sempre meu porto seguro. Reconhecendo o motivo de minha ausência.

À minha família do coração, Rodrigo e Luine, que, muito mais que amigos, são irmãos, por todo amor, carinho e apoio.

À minha orientadora, professora D. Sc. Aldenise Alves Moreira, pela dedicação e por ser mais que uma orientadora, tornou-se um exemplo de profissional e pessoa que um dia quero me tornar!

À professora D. Sc. Maria Aparecida Castellani, pela paciência, dedicação, por todo o apoio e ensinamentos transmitidos, obrigada!

À professora D. Sc. Aline Silva (UESC), pela coorientação e colaboração no planejamento e execução do trabalho, obrigada!

À professora D. Sc. Vanderlúcia Fonseca de Paula, do *Campus* de Jequié, pela coleta, preparação e fornecimento dos extratos utilizados nos bioensaios, obrigada!

Aos Doutores Roberto Camargo da Silva (UNESP/Bocatu, SP) e Carlos Alberto Oliveira de Matos (UNESP/Itapeva, SP), pela colaboração na análise e discussão dos dados.

Aos professores da Pós-Graduação em Agronomia, pelos ensinamentos transmitidos.

À colega Talytha Ravenna, pela colaboração na realização do trabalho, companheirismo e momentos de relaxamento.

Aos colegas da UESB, pela colaboração, amizade, companheirismo e momentos de descontração, em especial, à Ana Carolina.

À Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia – UESB, pela contribuição em minha formação pessoal e profissional.

À FAPESB, pelo apoio financeiro para a realização desta pesquisa e pela bolsa de estudos concedida.

Aos amigos do Laboratório: Matheus, Willian, Francisca, Daniela, Micaela, Julia, Beatriz, Suzy e Jack, pelo apoio, companheirismo e auxílio durante a condução do experimento e realização das análises laboratoriais, assim como pelos momentos alegres e descontraídos durante o tempo em que trabalhamos juntos.

A todos que, de alguma forma, contribuíram para esta importante etapa de minha vida. Muito obrigada!

“Comece fazendo o que é necessário, depois o que é possível,
e de repente você estará fazendo o impossível”.

São Francisco de Assis

RESUMO

TEIXEIRA, F.V. **Bioatividade de extratos vegetais a operárias de *Atta sexdens* (Hymenoptera: Formicidae) em duas metodologias de exposição por ingestão.** Vitória da Conquista- BA, UESB, 2022. 63p. (Dissertação: Mestrado em Agronomia; Área de Concentração: Fitotecnia)*.

A formiga cortadeira *Atta sexdens* destaca-se como cortadeira de várias culturas de importância econômica. O controle com iscas formicidas é o mais utilizado, no entanto, um dos ingredientes ativos mais usados, a sulfluramida, foi enquadrada como poluente orgânico, evidenciando a urgente necessidade de se buscar novos ingredientes ativos com maior segurança ecológica e ambiental. Dessa forma, o presente trabalho teve por objetivos avaliar a bioatividade de extratos botânicos em operárias da formiga cortadeira *A. sexdens*, bem como comparar duas metodologias de exposição dos extratos por ação de ingestão, com o intuito de selecionar extratos que possuam características essenciais para uso em iscas tóxicas para futuro isolamento de substâncias e prospecção de inseticidas. Para tanto, foram realizados dois bioensaios (I e II) no Laboratório de Mirmecologia da UESB, Vitória da Conquista, Bahia. O bioensaio I foi realizado em Delineamento Inteiramente Casualizado (DIC), com oito tratamentos e quatro repetições, totalizando 32 parcelas; já o II, com dez tratamentos e três repetições, com 30 parcelas, cada parcela era composta por dez operárias. Para o bioensaio I, foram utilizados os tratamentos: 1. *M. maracasana*-cascas; 2. *C. mastigophorus*-caule; 3. *E. macrocalyx*-folhas; 4. *E. macrocalyx*-galhos; 5. *E. plowmanii*-folhas; 6. *E. plowmanii*-galhos; 7. Controle 1 – dieta + etanol; e 8. Controle 2 - apenas dieta. No bioensaio II, foram incluídos os extratos de *C. mastigophorus*-caule e *M. maracasana* – caule. Foram realizadas avaliações diárias da mortalidade acumulada, de acordo com cada metodologia. A função de sobrevivência foi calculada pelo estimador de Kaplan-Meier. As curvas de sobrevivência de operárias de *A. sexdens*, expostas aos extratos vegetais no bioensaio I, evidenciaram diferença significativa entre si e com as curvas dos controles. Para o bioensaio II, constatou-se que a sobrevivência na primeira avaliação (24 horas) foi relativamente alta em todos os tratamentos com extratos. As análises da comparação pareada das curvas de sobrevivência, obtidas para os mesmos extratos nos bioensaios, evidenciaram diferenças significativas entre as metodologias para seis dos extratos estudados e, também, para o tratamento Controle com Dieta+Etanol. De modo geral, os tempos de sobrevivência foram maiores, quando se usou a metodologia II, exceto para *M. maracasana*-cascas e *E. plowmanii*-galhos. Os extratos de *M. maracasana*, *C. mastigophorus*, *E. macrocalyx* e de *E. plowmanii* apresentaram atividade inseticida às operárias de *A. sexdens*. A atividade inseticida dos extratos testados é inédita para operárias de *A. sexdens* e apresentam potencial para fracionamento e seleção das substâncias responsáveis por essa atividade.

Palavras-chave: Formigas cortadeiras; controle; plantas tóxicas.

ABSTRACT

* Orientadora: Profa. Dra. Aldenise Alves Moreira, UESB.
Coorientadora: Profa. Dra. Aline Silva, UESC.

TEIXEIRA, F.V. **Bioactivity of plant extracts to workers of *Atta sexdens* (Hymenoptera: Formicidae) in two methodologies of exposure by ingestion.** Vitória da Conquista-BA, UESB, 2022. 63p. (Dissertation: Master Science in Agronomy; Area of Concentration: Crop Science)*.

The leaf-cutting ant *Atta sexdens* stands out as a leaf-cutting ant in several crops of economic importance. Control with ant baits is the most used, however, one of the most used active ingredients, sulfluramid, was classified as an organic pollutant, highlighting the urgent need to seek new active ingredients with greater ecological and environmental safety. Thus, the present work aimed to evaluate the bioactivity of botanical extracts in workers of the leaf-cutting ant *A. sexdens*, as well as to compare two methodologies of exposure of extracts by ingestion action, in order to select extracts that have essential characteristics for use in toxic baits for future isolation of substances and prospecting for insecticides. For that, two bioassays (I and II) were carried out at the Myrmecology Laboratory of UESB, Vitória da Conquista, Bahia. Bioassay I was carried out in a completely randomized design (DIC), with eight treatments and four replications, totaling 32 plots; II, with ten treatments and three replications, with 30 plots, each plot was composed of ten workers. For bioassay I, the following treatments were used: 1. *M. maracasana*-cascas; 2. *C. mastigophorus*-stem; 3. *E. macrocalyx*-leaves; 4. *E. macrocalyx*-twigs; 5. *E. plowmanii*-leaves; 6. *E. plowmanii*-twigs; 7. Control 1 – diet + ethanol; and 8. Control 2 - only diet 2. In bioassay II, extracts of *C. mastigophorus*-stem and *M. maracasana*-stem were included. Daily assessments of accumulated mortality were performed, according to each methodology. The survival function was calculated by the Kaplan-Meier estimator. The survival curves of workers of *A. sexdens*, exposed to plant extracts in bioassay I, showed a significant difference between them and with the curves of controls. For bioassay II, survival at the first evaluation (24 hours) was found to be relatively high in all treatments with extracts. The analysis of the paired comparison of survival curves, obtained for the same extracts in the bioassays, showed significant differences between the methodologies for six of the extracts studied and also for the Control treatment with Diet+Ethanol. In general, survival times were longer when methodology II was used, except for *M. maracasana*-cascas and *E. plowmanii*-branches. The extracts of *M. maracasana*, *C. mastigophorus*, *E. macrocalyx* and *E. plowmanii* showed insecticidal activity against workers of *A. sexdens*. The insecticidal activity of the tested extracts is unprecedented for workers of *A. sexdens* and has potential for fractionation and selection of substances responsible for this activity.

Keywords: leaf-cutting ant; control; toxic plants.

* Adviser: Aldenise Alves Moreira, D.Sc., UESB.

Co-advisor: Aline Silva, D.Sc., UESC.

LISTA DE FIGURAS

	Página
<p>Figura 1. Vegetais utilizados para obtenção dos extratos utilizados nos bioensaios: (A) <i>Metrodorea maracasana</i> (Rutaceae); (B) <i>Conchocarpus mastigophorus</i> (Rutaceae); (C) <i>Erythoxylum macrocalyx</i> (Erythroxilaceae); e (D) <i>Erythoxylum plowmanii</i> (Erythroxilaceae).....</p>	29
<p>Figura 2. Bioensaio com extratos, oferecidos por ingestão, a operárias de <i>Atta sexdens</i>: Metodologia I, com dieta 1, com os tratamentos, oferecida por 24 horas (A) e troca por fungo simbiote nos demais dias de observação; e (B) metodologia II, com dieta (C), com os tratamentos, oferecida em todos os dias de observação (D).....</p>	32
<p>Figura 3. Curvas de probabilidade de sobrevivência para operárias de <i>Atta sexdens</i> (Hymenoptera: Formicidae) em diferentes extratos, de acordo com a metodologia de Nagamoto et al. (2004).</p>	35
<p>Figura 4. Curvas de probabilidade de sobrevivência para operárias de <i>Atta sexdens</i> (Hymenoptera: Formicidae) em diferentes extratos, de acordo com a metodologia de Bueno et al. (1997).</p>	38
<p>Figura 5. Curvas de probabilidade de sobrevivência para operárias de <i>Atta sexdens</i> (Hymenoptera: Formicidae) dos tratamentos (A) <i>Metrodorea maracasana</i>-cascas (MMC) (BUE1 e SAT1); (B) Dieta (Cont. 2) (BUE10 e SAT8); (C) <i>Conchocarpus mastigophorus</i>-caule (CMCL) (BUE2 e SAT2-5); (D) <i>Erythoxylum macrocalyx</i>-folhas (EMF) (BUE5 e SAT2-5); (E) <i>Erythoxylum macrocalyx</i>-galhos (EMG) (BUE6 e SAT2-5); (F) <i>Erythoxylum plowmanii</i>-folhas (EPF) (BUE7 e SAT2-5); (G) <i>Erythoxylum plowmanii</i>-galhos (EPG) (BUE8 e SAT6); (H) Dieta + Etanol (Cont. 1) (BUE9 e SAT7= Dieta + Etanol (Controle 1).</p>	40

LISTA DE TABELAS

	Página
Tabela 1. Diferenças entre as metodologias I (Nagamoto et al., 2004) e II (Bueno et al., 1997) para avaliação da atividade inseticida, ao longo do tempo, em operárias de <i>A. sexdens</i>	32
Tabela 2. Valor P da análise de sobrevivência para operárias de <i>Atta sexdens</i> (Hymenoptera: Formicidae) em diferentes extratos, de acordo com a metodologia de Nagamoto et al. (2004).....	34
Tabela 3. Valor P da análise de sobrevivência para operárias de <i>Atta sexdens</i> (Hymenoptera: Formicidae) em diferentes extratos, de acordo com a metodologia de Bueno et al. (1997).....	37
Tabela 4. Comparação pareada dos métodos de Nagamoto et al. (2004) e Bueno et al. (1997) em cada tratamento.	39

LISTA DE SIMBOLOS

g	Gramma
H	Horas
Kg	Quilo
CMC	<i>Conchocarpus mastigophorus</i> - casca
MMCL	<i>Metrodorea maracasana</i> - caule
MMC	<i>Metrodorea maracasana</i> -cascas
CMCL	<i>Conchocarpus mastigophorus</i> -caule
EMF	<i>Erythoxylum macrocalyx</i> -folhas
EMG	<i>Erythoxylum macrocalyx</i> -galhos
EPF	<i>Erythoxylum plowmanii</i> -folhas
EPG	<i>Erythoxylum plowmanii</i> -galhos
DIC	Delineamento Inteiramente Casualizado
CDE	Controle – dieta + etanol
CD	Controle - dieta
UESB	Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia
°C	Graus Celsius
=	Igual
±	Mais ou menos
%	Porcentagem
°	Graus
”	Segundos
’	Minutos
atm	Atmosfera
N	Norte
S	Sul
mL	Militro
m	Metro
BA	Bahia
mg	Miligrama
W	Oeste
BUE	Bueno
SAT	Satoru
+	Mais
CEIS	Centro de Estudos de Insetos Sociais

SUMÁRIO

	Página
1 INTRODUÇÃO	14
2 REFERENCIAL TEÓRICO.....	17
2.1 Características e importância das formigas cortadeiras.....	17
2.2 Métodos químicos de controle de formigas cortadeiras.....	18
2.3 Plantas tóxicas às formigas cortadeiras.....	20
2.4. Plantas utilizadas na obtenção dos extratos.....	22
2.4.1 O gênero <i>Metrodorea</i>	22
2.4.2 O gênero <i>Conchocarpus</i>	23
2.4.3 O gênero <i>Erythroxyllum</i>	24
2.5 Metodologias utilizadas em estudos sobre bioatividade de extratos vegetais em formigas cortadeiras.....	25
3 MATERIAL E MÉTODOS.....	27
3.1 Local experimental.....	27
3.2 Coleta e manutenção das colônias de <i>A. sexdens</i> em laboratório.....	27
3.3 Extratos vegetais utilizados nos bioensaios com operárias de <i>A. sexdens</i>	27
3.4 Bioensaio I: bioatividade de extratos vegetais em operárias de <i>A. sexdens</i> utilizando a metodologia I (Nagamoto et al., 2004)	28
3.5 Bioensaio II: bioatividade de extratos vegetais em operárias de <i>A. sexdens</i> utilizando a metodologia II (Bueno et al., 1997)	30
3.6 Análise dos dados.....	33
4 RESULTADOS.....	34
4.1 Bioensaio I: bioatividade de extratos vegetais nas operárias de <i>A. sexdens</i> utilizando a metodologia I (Nagamoto et al., 2004)	34
4.2 Bioensaio II: bioatividade de extratos vegetais nas operárias de <i>A. sexdens</i> utilizando a metodologia II (Bueno et al., 1997)	36
4.3 Comparação entre as metodologias I (Nagamoto et al., 2004) e II (Bueno et al., 1997) para avaliação da atividade inseticida ao longo do tempo em operárias de <i>A. sexdens</i>	39
5. DISCUSSÃO.....	41
5.1 Bioensaio I: bioatividade de extratos vegetais nas operárias de <i>A. sexdens</i> utilizando a metodologia de Nagamoto et al. (2004).....	41
5.2 Bioensaio II: bioatividade de extratos vegetais nas operárias de <i>A. sexdens</i> utilizando a metodologia de Bueno et al. (1997).....	44
5.3 Comparação entre as metodologias I (Nagamoto et al., 2004) e II (Bueno et al., 1997) para avaliação da atividade inseticida ao longo do tempo em operárias de <i>A. sexdens</i>	46
6 CONCLUSÕES.....	48
7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	49

1 INTRODUÇÃO

Formigas dos gêneros *Atta* Fabricius, 1804 e *Acromyrmex* Mayer, 1865 (Hymenoptera: Formicidae) são conhecidas como formigas cortadeiras por conta do seu hábito de desfolha, no qual cortam e coletam partes frescas das plantas para servir de substrato para o cultivo do seu fungo simbiótico (*Leucoagaricus gongylophorus* Möller, 2002) (Britto et al., 2016).

As formigas cortadeiras assumem o *status* de pragas gerais nos agroecossistemas agrícolas, florestais e em pastagens no Brasil e na região Neotropical (Gandra et al., 2016). Os danos causados por herbivoria das formigas nos ecossistemas de Floresta Neotropical podem chegar a 25%, sendo capaz de remover de 10 a 15% de todas as folhas encontradas em áreas de forrageamento (Swanson et al., 2019). Estimativas de danos ocasionados por formigas especializadas no corte de plantas dicotiledôneas, cana-de-açúcar e de pastagens, principalmente, têm ressaltado a importância econômica de, pelo menos, cinco espécies de *Atta* no Brasil, dentre as quais a *Atta sexdens* Lineu, 1758, destacando-se em função da sua polifagia e ampla distribuição geográfica.

Desfolhas ocasionadas pelas formigas cortadeiras podem ocorrer em qualquer período e idade das plantas, fazendo-se necessário um controle eficiente para garantir a produtividade das culturas (Pereira, 2021). O método mais utilizado é o químico (Forti et al., 2007), por meio de iscas tóxicas, com destaque para a Sulfloramida e o Fipronil como princípios ativos mais empregados na fabricação de iscas formicidas. A Sulfloramida está sofrendo restrições na produção e utilização em países signatários da Convenção de Estocolmo sobre Poluentes Orgânicos Persistentes (POPs), pois suas características contribuem para a contaminação da água, do solo, e, inevitavelmente, intoxicam fauna e flora. Os riscos da utilização desse tipo de pesticida são decorrentes dos compostos químicos gerados pela sua rápida degradação, entre eles o Ácido Perfluorooctanoico Sulfônico (PFOS), poluente extremamente persistente e bioacumulável (Bion, 2019).

Considerando o cenário atual de possível suspensão da sulfloramida no Brasil, uma das alternativas é encontrar substâncias químicas de menor impacto ambiental e maior segurança para substituição dos ingredientes ativos utilizados atualmente nas iscas formicidas. A natureza é considerada a principal fonte dessas substâncias, pois algumas plantas possuem compostos que podem ser repelentes ou tóxicos às formigas

e/ou ao fungo simbiote, podendo servir como modelos para prospecção de inseticidas botânicos ou sintéticos mais ambientalmente aceitos (Sousa et al., 2018).

Dentro da perspectiva da descoberta de compostos tóxicos para formigas cortadeiras ou seu fungo, a literatura é relativamente abrangente, destacando-se os trabalhos pioneiros do Centro de Estudos de Insetos Sociais (CEIS) da UNESP, Rio Claro, SP. Diferentes espécies e famílias botânicas já foram estudadas, a exemplo dos extratos de *Tabebuia vellosi*, *Azadirachta indica*, *Magonia pubescens*, *Annona reticulata* e *Amburana acreana* (Souza et al., 2011); *Aspidosperma spruceanum* Benth ex. Mull Arg., *Casearia arborea* (Rich.) Urb., *Casearia sylvestris* Sw., *Erythroxylum affine* A.St.-Hil., *Esenbeckia grandiflora* Mart., *Ocotea brasiliensis* Coe-Teix, *Simarouba amara* Aubl., *Tabernaemontana bracteolaris* Mart. ex Müll.Arg. e *Zanthoxylum rhoifolium* Lam. (Gomes et al., 2016); *Mentha piperita* L. e *Ruta graveolens* L. (Da Silva et al., 2020). Óleos vegetais também têm sido estudados, a exemplo do óleo essencial de *Aristolochia trilobata* L. (De Oliveira et al., 2017) e óleo de *Melaleuca alternifolia* Cheel. (Buteler et al., 2021).

A descoberta e *screening* de substâncias com atividade tóxica ou repelente a insetos, com o objetivo de prospecção de inseticidas, se constituem em tema de trabalhos de inúmeras instituições públicas e privadas no mundo. Nesse contexto, o Brasil apresenta grande potencial, dada a diversidade da sua flora, especialmente em regiões de clima semiárido, onde predominam vegetação típica de biomas exclusivos do País, como é o caso da Caatinga e de áreas de Floresta Estacional Semidecidual (Mata-de-Cipó), contemplando espécies botânicas endêmicas e, ainda, não exploradas comercialmente. A espécie *Metrodorea maracasana* Kaastra é um exemplo típico de vegetal endêmico do semiárido que tem apresentado bioatividade ao microcrustáceo *Artemia salina* Leach (Santana, 2012) e a mosca-das-frutas *Ceratitis capitata* Wiedmman (Costa, 2016), cuja toxicidade ainda não foi explorada para formigas cortadeiras.

Metodologias para bioensaios de *screening* de extratos botânicos, quanto à sua atividade tóxica a insetos, incluem, geralmente, aplicações tópicas com avaliação da mortalidade em diferentes tempos de exposição. No entanto, algumas especificidades devem ser observadas na fase de *screening* de compostos tóxicos a formigas cortadeiras, em função do tipo de controle químico a ser utilizado. Para uso na termonebulização, o produto deverá apresentar forte efeito de contato, enquanto para iscas tóxicas, o tóxico ideal deve agir por ingestão, ser tóxico em baixas concentrações e apresentar efeito

retardado (mortalidade < 15% em 24 horas e > 90% com 21 dias) (Nagamoto et al., 2004). Basicamente, duas metodologias para avaliação tóxica por ingestão são referenciadas na literatura, a de Bueno et al. (1997), que predominava até 2004; e a desenvolvida por Nagamoto et al. (2004), recomendada pela Instrução Normativa nº 36 de novembro de 2009 (Mapa, 2009). Todavia, considerando que ambas são adequadas para a seleção de extrato ou composto, por indicarem resultados similares, as vantagens de cada uma em relação à otimização do tempo e esforço laboral não são conhecidas. Diante do exposto, o estudo foi desenvolvido com os objetivos de avaliar a bioatividade de extratos botânicos em operárias da formiga cortadeira *A. sexdens*, bem como comparar duas metodologias de exposição dos extratos por ação de ingestão, com o intuito de selecionar extratos que possuam características necessárias para uso em iscas tóxicas para futuro isolamento de substâncias e prospecção de inseticidas.

2 REFERENCIAL TEÓRICO

2.1 Características e importância das formigas cortadeiras

As formigas cortadeiras pertencem à Ordem Hymenoptera: à família Formicidae: na qual reúnem todas as formigas à subfamília Myrmicinae e à tribo Attini. Essas formigas pertencem aos gêneros *Atta* e *Acromyrmex*, popularmente conhecidas como saúvas e quenquéns, respectivamente. Vivem no continente Americano desde o Sul dos Estados Unidos da América do Norte (latitude 44 N) até o centro da Argentina (latitude 33 S) (Forti e Boaretto, 1997).

Essas espécies são insetos sociais e se dividem em castas, que realizam tarefas tanto no interior como no exterior dos ninhos. A divisão é entre rainha: reprodutora; soldados: proteção e forrageamento; forrageiras: forrageamento e carregamento; generalistas: diversas funções; e jardineiras: cuidados com o fungo, prole, manutenção e limpeza do fungo e do ninho (Sujimoto, 2018). Essa divisão já torna as formigas de difícil controle, pois, de forma conjunta, elas mantêm a colônia produtiva e protegida, tanto de ataques, como de contaminação. Além disso, apresentam plasticidade a mudanças climáticas e à perda numerosa de indivíduos, pois mesmo com a diminuição da população, não há alteração comportamental e na taxa de coleta de folhas (Bueno, 2020).

A associação simbiótica dessas formigas com o fungo *L. gongylophorus* é considerada uma das razões de seu sucesso ecológico na natureza (Vasconcelos e Fowler, 1990). A origem dessa associação formiga-fungo simbiote é estimada em 50 milhões de anos aproximadamente (Mueller et al., 2001; Schultz et al., 2008) e o elevado grau de polifagia dessas espécies é provavelmente devido à interação com o fungo. Assim, as formigas fragmentam as folhas, levam ao ninho, onde inserem o fungo mutualístico que degrada e absorve esse material (Herz Schultz e Brady, 2008); e é capaz de intermediar a assimilação de todos os polissacarídeos das plantas e a celulose, sendo então as fontes mais importantes para a nutrição do simbiote (Siqueira et al., 1998).

As hifas produzidas pelo fungo alimentam as formigas e trazem uma boa fonte energética, principalmente por ser originada da seiva das plantas que foram fornecidas (Bass e Cherrett, 1995).

As formigas do gênero *Atta* são consideradas pragas de grande importância para as culturas comerciais da América Latina. O fato de elas cortarem parte dos vegetais tem representado altos prejuízos (Amante, 1972), constituindo-se em uma das pragas mais gerais de plantas cultivadas, como reflexo das mudanças ecológicas provocadas pelo homem e, em particular, do modo como se obtém o alimento (Cherrett, 1968). Estima-se que a quantidade de vegetação cortada, apenas por *Atta* spp., seja de 12 a 17% do que é produzido. A implantação de monoculturas pelo homem aumenta a densidade populacional dessas formigas e facilita a colonização de novas áreas (Cherrett, 1986; Della Lucia e Fowler, 1993).

A saúva *A. sexdens*, conhecida popularmente como “saúva limão”, possui uma ampla distribuição geográfica, ocorrendo em praticamente todos os Estados brasileiros (Della Lúcia et al., 1993). Essa espécie destaca-se como cortadeira de dicotiledôneas, assumindo importância econômica em eucalipto, citros, mandioca e outras culturas de interesse econômico (Mariconi, 1970).

2.2 Métodos químicos de controle de formigas cortadeiras

As formigas cortadeiras podem ser controladas com táticas culturais, físicas, biológicas e químicas. No entanto, o controle químico é o único que apresenta tecnologia disponível para utilização, em escala comercial, no controle desses insetos.

O uso de inseticidas para controle de formigas cortadeiras difere, principalmente, pelo tipo de formulação e modo de aplicação do produto, destacando-se a termonebulização e as iscas tóxicas, com uso de ingredientes ativos de diferentes grupos e subgrupos químicos.

A termonebulização consiste na produção de uma “fumaça” tóxica (gotas em torno de 40 μ), a partir de um formicida veiculado em óleo mineral ou diesel sob a ação do calor, aplicado diretamente nos orifícios sobre o monte de terra solta, através de equipamentos denominados termonebulizadores (Della Lucia e Vilela, 1993). Neste caso, o inseticida deve ter boa ação de contato e atingir grande número de operárias, resultando na paralisação imediata do corte de folhas. Apesar de a termonebulização apresentar eficiência no controle de grandes ninhos, localizados em áreas muito extensas, nos períodos que não é possível a utilização de iscas e quando é necessária a paralisação imediata do corte, ela também apresenta desvantagem operacional e econômica, sendo a manutenção dos equipamentos um dos principais entraves à sua

utilização (Forti e Boaretto, 1997). Além das desvantagens apontadas, a termonebulização pode causar considerável impacto ambiental. O monitoramento da fumaça, dentro e fora do ninho de *Atta capiguara* Gonçalves, indicou que mesmo antes da mesma atingir as câmaras de fungo (7 minutos), já havia penetrado no solo num raio de 0,5 m a 1 m de profundidade (3 minutos) do ponto de aplicação, um dado preocupante quanto ao impacto da técnica na biota do solo (Bolazzi et al., 2014).

Já as iscas tóxicas são mais utilizadas por oferecerem maior segurança ao aplicador, dispensarem mão de obra e equipamentos especializados e por permitirem o tratamento de formigueiros em locais de difícil acesso (Loeck e Nakano, 1984). No entanto, essas iscas precisam atender a algumas características para serem ideais: deve ser atrativa às formigas (a certa distância do ninho); ser carregada sempre que encontrada; ser de ação retardada (para ser conduzida por longas distâncias); ter o composto tóxico amplamente distribuído pela colônia (antes dos sintomas iniciais de intoxicação); apresentar especificidade às espécies-alvo; ter baixa toxicidade a mamíferos; e permanecer efetiva no solo por aproximadamente 10 dias, sob condições de altas temperaturas, umidade e chuva (Etheridge e Phillips, 1976; Nagamoto et al., 2004).

As iscas tóxicas comerciais são constituídas de um substrato (veículo) atrativo em mistura com o princípio ativo tóxico, formuladas em pellets. O inseticida é dissolvido em óleo vegetal (6%) e incorporado ao substrato. O material, amplamente utilizado como veículo, é a polpa cítrica desidratada, particularmente aquela derivada de laranja (Robinson, 1979). As formigas exibem uma série de comportamentos que levam ao processamento dos pellets nas câmaras de fungo e à intoxicação das operárias, culminando com a desorganização do fungo mutualístico e morte da rainha (Diniz e Bueno, 2009; Andrade et al., 2002; Camargo et al., 2017; Forti et al., 2019; Silva et al., 2015). A boa distribuição do produto tóxico nas câmaras fungo é outro componente importante relacionado à eficácia da isca tóxica e essa distribuição pode variar em função do modo de ação do produto tóxico (Catalani et al., 2019).

Alguns estudos têm apontado que até mesmo produtos mais específicos para controle de fungos, como o fungicida ciclo-hexamida, pode provocar mortalidade em operárias de formigas, quando oferecidos em altas concentrações em dietas artificiais (Sousa et al., 2018). A associação de bioativos para fungos e formigas pode ser um caminho inovador para a construção de um novo modelo de isca tóxica.

De modo geral, pode-se afirmar que a detecção da bioatividade e da distribuição temporal da mortalidade nas operárias de formigas cortadeiras é o primeiro passo para a prospecção de novos componentes ativos para uso em iscas tóxicas e que muitas possibilidades ainda podem ser exploradas na flora brasileira.

2.3 Plantas tóxicas às formigas cortadeiras

Um dos assuntos que vem despertando o interesse de pesquisadores de diversas instituições nacionais e internacionais de pesquisa e inovação é o estudo de produtos naturais presentes nos vegetais superiores, principalmente os que fazem parte do metabolismo secundário, que constituem novas fontes para o controle de insetos-praga. Diante disso e das constatações de que existem compostos químicos com efeitos inibitórios ou arrestantes sobre as formigas cortadeiras, abrem-se possibilidades de estudos no sentido de desenvolver tecnologia alternativas de controle. Isto será possível através da utilização desses compostos inibitórios às formigas ou ao fungo simbiote, na melhoria das iscas já existentes, no desenvolvimento de novas iscas e de outras tecnologias de aplicação mais efetivas no controle e na segurança ambiental e humana (Della Lucia et al., 2014; Brito et al., 2016).

O substrato no qual o fungo se desenvolve varia com o gênero de formiga. Assim, gêneros primitivos usam fezes e carcaças de insetos, enquanto os mais derivados, como *Atta* e *Acromyrmex*, cultivam o fungo quase que exclusivamente a partir de flores e folhas cortadas de plantas vivas (Martin, 1970; Della Lucia, 1993; 2011).

Formigas tendem a rejeitar plantas que contêm compostos químicos prejudiciais ao fungo, e os compostos secundários do fungo, circulando por trofalaxia e durante o ato de lamber o corpo das operárias do ninho, regulam a seleção de vegetais pelas formigas (Ridley et al., 1996). A busca por métodos de controle de formigas cortadeiras mais efetivos e menos agressivos ao homem e ao meio ambiente tem encontrado boas perspectivas na utilização de produtos originários de plantas potencialmente tóxicas ao fungo e/ou às formigas cortadeiras (Bueno, 1990).

Embora muitos autores afirmem que compostos químicos prejudiciais ao fungo e compostos secundários do fungo circulam por trofalaxia, para alguns autores a trofalaxia não é o maior agente dispersor de substâncias dentro da colônia. Eles argumentam que a intoxicação ocorre por meio do contato direto com iscas tóxicas

durante o seu processamento e incorporação ao jardim de fungos, e que os comportamentos higiênicos, como a autolimpeza e limpeza mútua, bem como o contato entre operárias contaminadas e não contaminadas, proporcionam a dispersão do inseticida para os demais integrantes da colônia (Andrade et al., 2002; Camargo et al., 2017; Forti et al., 2019, 2020; Catalani et al., 2019, 2020, 2022).

Uma importante contribuição nessa linha de estudo foi obtida com a planta *Azadirachta indica*, cuja substância azadiractina, presente nas sementes, mostrou efeito inibitório no crescimento e reprodução e ação repelente e deterrente para a maioria dos insetos (Rembold, 1987; Jacobson, 1989; Saxena, 1989; Nasiruddin e Mordue, 1993).

Existem alguns relatos antigos sobre o efeito de plantas tóxicas no controle de saúvas sobre efeitos tóxicos de *Sesamum indicum* (gergelim) em formigas cortadeiras (Santos, 1925; Barbielini, 1926; Borges, 1926; Barreto, 1930, 1936). Diante dessas observações, Gonçalves (1944) tratou um formigueiro artificial de *A. sexdens rubropilosa* com folhas de *S. indicum*, durante quatro meses, mas não observou nenhum efeito sobre a colônia ou o fungo. Já Hebling-Beraldo et al. (1984, 1986, 1987) obtiveram mortalidade total das colônias de *A. sexdens rubropilosa* em laboratório, tratadas com folhas dessa planta. Bueno et al. (1995) observaram uma redução gradual no número de formigas e no tamanho do jardim de fungo, bem como alterações no comportamento das operárias, no teor de umidade das câmaras, na consistência e no aspecto geral do lixo acumulado nos formigueiros.

Vários estudos de crescimento do fungo simbiote das formigas cortadeiras têm permitido identificar compostos químicos das plantas que são tóxicos às formigas ou ao fungo. Dentro dessa linha de pesquisa, destacam-se, no Brasil, estudos com plantas de gergelim (*S. indicum*) (Hebling-Beraldo et al., 1986; Pagnocca et al., 1990; Bueno et al., 1995; Sinhori et al., 1997; Costa et al., 1997), de mamona (*Ricinus communis*) (Acácio-Bigi et al., 1997; Fernandes et al., 1997; Villa et al., 1998); de *Canavalia ensiformes* (Takahashi-Del-Bianco et al., 1997, 1998); e de *Virola* (Pagnocca et al., 1996).

De acordo com os ensaios de atividade realizados por Leite (2000) com folhas de mamona, no crescimento do fungo simbiote das formigas cortadeiras, os responsáveis pelo efeito tóxico são ácidos graxos de cadeia curta. Já Gomes et al. (2016) obtiveram em seu estudo uma ação tóxica às formigas cortadeiras, por contato dos extratos da folha e do galho de *Zanthoxylum rhoifolium*, casca de *Simarouba amara*, galho de *Aspidosperma spruceanum* e folha de *Casearia arborea*, e uma ação de

ingestão dos extratos de galho e folha de *Z. rhoifolium*, folha de *Esebenckia grandiflora* e casca de *Casearia sylvestris*.

2.4 Plantas utilizadas na obtenção dos extratos

2.4.1 O gênero *Metrodorea*

A família Rutaceae constitui o maior grupo da ordem Rurales (Dahlgreen, 1980), possuindo 150 gêneros, com 1500 espécies de tamanhos variados, e amplamente distribuídas nas regiões tropicais e temperadas do globo terrestre, sendo mais abundantes na América tropical, sul da África, Ásia e Austrália. No Brasil, são descritas cerca de 160 espécies (Albuquerque, 1976). Essa família apresenta uma diversidade muito grande de metabólitos secundários, destacando-se: os alcaloides, especialmente os derivados do ácido antranílico (Mester, 1983; Waterman, 1975), cumarinas, lignanas, flavonoides, terpenoides e limonoides.

Metrodorea é um dos gêneros pertencentes à família Rutaceae, taxonomicamente localizado na subtribo Pilocarpinae, tribo Galipeae (antiga Cusparieae) (Kaastra, 1982). *Metrodorea* possui seis espécies descritas (*M. flavida* K. Krause, *M. maracasana* Kaastra, *M. Concinna*, *M. mollis* Taub., *M. nigra* A. St.-Hil. e *M. stipularis* Mart.), sendo cinco nativas do Brasil (Pombal et al., 2000) e apenas uma (*M. flavida*) não é endêmica (Pirani et al., 2010).

Alguns estudos químicos já foram realizados sobre duas espécies do gênero *Metrodorea* (Pernin et al., 1999; Baetas et al., 1996; Baetas et al., 1999; Müller et al., 1995), destacando-se aqueles relacionados à *M. maracasana*, cujos extratos têm apresentado toxicidade a microcústáceos (*Artemia salina* Leach) e a moscas-das-frutas (Diptera: Tephritidae). A toxicidade de extratos de galhos, folhas e cascas de *M. maracasana*, coletadas em dois fragmentos de florestas estacionais, conhecidas como mata de cipó, localizados nos municípios de Maracás e Jequié, variou em função da localidade de coleta, da parte da planta e do solvente usado para obtenção do extrato, sendo mais tóxicos aqueles procedentes de Jequié, de galhos e obtidos com acetato de etila (Santana, 2012). O fracionamento dos extratos dos galhos, obtidos no fragmento de mata de Jequié, levou ao isolamento de duas piranocumarinas, uma angular (aloxantoxiletina) e outra linear (5-metoxixantiletina), do extrato hexânico e, destas, duas piranocumarinas, além de uma furanocumarina (bergapteno) e da 5,7-

dimetoxicumarina, do extrato acetato de etila. Todas as frações deste extrato foram testadas (100 g mL^{-1}), e uma delas ocasionou 100% de mortalidade para *A. salina*. A purificação desta fração levou à identificação de uma mistura contendo o bergapteno e a 5,7-dimetoxicumarina, numa proporção aproximada de 1:1, além da 5-metoxixantiletina (Santana, 2012).

Para a mosca-das-frutas *C. capitata*, extratos da casca de *M. maracasana*, em aplicação tópica, determinaram mortalidade superior a 50%. Frações e substâncias isoladas do extrato, especialmente, isodentatina, citrusarina A e uma mistura de citrusarina A+dipetalolactona+isodentatina, determinaram mortalidade de 97-100%, em 24 horas, podendo, portanto, serem as responsáveis pela atividade inseticida do extrato da casca de *M. maracasana* (Gomes, 2014). Posteriormente, verificou-se que o extrato da casca de *M. maracasana* apresentou boa eficiência agrônômica (em torno de 80% de mortalidade) para controle de outra espécie de moscas-das-frutas de importância quarentenária, *Anastrepha obliqua* Macquart, ao mesmo tempo em que foi classificado como inócuo ao parasitoide *Diachasmimorpha longicudata* Ashmead. A seletividade a inimigos naturais é uma característica que deve ser avaliada na fase de *screening* de compostos naturais.

2.4.2 O gênero *Conchocarpus*

As espécies *Conchocarpus* são classificadas na família Rutaceae, subfamília Rutoideae, tribo Cusparieae (Da Silva et al., 1988).

O gênero *Conchocarpus* é constituído por 52 espécies, muitas eram anteriormente classificadas em *Angostura* (Pinto et al., 2022), como é o caso da espécie *C. heterophyllus*, e era denominada *Angostura heterophylla*. Nas espécies do gênero, foram isolados alcaloides acridônicos, 2- e 4-quinolônicos e indoloquinazolínicos, além de amidas, flavonas e diversas cumarinas (Pinto et al., 2022; Cortez, 2002; Mafezoli, 2001; Veloso, 1995; Vieira et al., 1992). Extratos etanólicos e hexânicos de folhas de *Conchocarpus mastigophorus*, coletadas de plantas localizadas em Itamari, BA, mostraram-se tóxicos a *Anastrepha obliqua* (Costa, 2016), apresentando potencial para estudos sobre bioatividade em outros insetos.

2.4.3 O gênero *Erythroxylum*

A família Erythroxylaceae Kunth pertence ao grupo das Angiospermas, abrangendo quatro gêneros: *Erythroxylum* P. Browne (descrito em 1756), *Aneulophus* Benthian (descrito em 1862), *Nectaropetalum* Engl. (descrito em 1902) e *Pinacopodium* Exell & Mendonça (descrito em 1951), sendo que apenas o gênero *Erythroxylum* P. Browne é amplamente distribuído em toda região tropical, enquanto os demais se encontram restritos ao continente africano (Costa-Lima et al., 2014). As plantas pertencentes a essa família podem ser encontradas como árvores, arbustos ou subarbustos (Souza e Lorenzi, 2008).

O gênero *Erythroxylum* possui distribuição subtropical, pantropical e neotropical, sendo Venezuela, Brasil e Madagascar os maiores centros de diversidade e endemismo do gênero (Daly, 2004; Barbosa et al., 2014). O Brasil possui aproximadamente 127 espécies nativas catalogadas, sendo 83 endêmicas, com distribuição em todo território brasileiro (Loiola e Costa-Lima, 2015a).

Dentre os diversos autores que descreveram o gênero, Plowman é um dos que mais se destacam. Descreveu novas espécies de *Erythroxylum* para o Brasil e Venezuela, em 1983; em 1984 identificou novas espécies na Amazônia Brasileira; descreveu novas espécies para o Nordeste, em 1986; e, no ano seguinte, propôs dez novas espécies para o estado da Bahia (Loiola e Cordeiro, 2018). Os autores destacam também Amaral Jr., Loiola e Costa-Lima como contribuintes importantes no conhecimento taxonômico das espécies de *Erythroxylum*. Muitas espécies têm sido utilizadas na medicina popular para diversos fins terapêuticos: diurético; tônico; estimulante; antidiarreico, tratamento de asma; contra parasitas intestinais; febre, amenorreia; sangramento; distúrbio renal; influenza; sinusite; problemas estomacais; combater a fadiga e fome, dentre outros (Ribeiro et al., 2013a).

Recentemente, um novo alcaloide tropano 7 β -acetoxi-6 β -benzoiloxi-3 α -hidroxitropano foi isolado dos galhos de *E. macrocalyx* Mart. juntamente com as substâncias conhecidas: 6 β ,7 β -dibenzoiloxi-3 α -hidroxitropano, 6 β ,7 β -dihidroxiloxi-3 α -(fenilacetoxi)tropano, 3 α -benzoiloxi-6 β ,7 β -dihidroxitropano, 6 β -benzoiloxi-3 α -(4-hidroxi-3,5-dimetoxibenzoiloxi)tropano, ombuin-3-rutinoside-5-glucoside, lupeol, taraxerol e lupenona. Os compostos 7 β -acetoxi-6 β -benzoiloxi-3 α -hidroxitropano e 6 β ,7 β -dibenzoiloxi-3 α -hidroxitropano também foram isolados das folhas. O composto 6 β -benzoiloxi-3 α -(4-hidroxi-3,5-dimetoxibenzoiloxi) tropano mostrou alta atividade

antiproliferativa em células de carcinoma hepatocelular do fígado, mas sem efeito citotóxico nas células de linfoblastos humanos. Esse estudo revela o potencial uso desse composto como protótipo para a síntese de novos agentes antiproliferativos (Silva Júnior, 2021).

A espécie *Erythroxylum plowmanii* Amaral é uma árvore terrícola, podendo atingir até 12 m de altura, é endêmica do Brasil, ocorrendo apenas nos estados da Bahia e Espírito Santo; tendo a Mata Atlântica como seu principal domínio fitogeográfico (Loiola e Costa-Lima, 2015b). Atividades leishmanicidas foram detectadas no extrato etanólico das folhas de *E. plowmanii*, que apresentou 84% de atividade inibitória, demonstrando ser uma promissora fonte de compostos bioativos que podem ser usados no combate às leishmanioses (Santana, 2020). Em adultos de moscas-das-frutas (*C. capitata*), extratos das folhas da espécie *E. affine* determinaram mortalidade acima de 50% (Gomes, 2014).

2.5 Metodologias utilizadas em estudos sobre bioatividade de extratos vegetais em formigas cortadeiras

Os estudos de bioatividade de extratos vegetais e eficiência de produtos para formigas cortadeiras vêm sendo realizados por vários pesquisadores na área e em função das particularidades desses insetos, por serem sociais e pela simbiose com o fungo mutualístico, as metodologias utilizadas apresentam algumas especificidades, a exemplo dos testes de eficiência de iscas em laboratório, nos quais Forti et al. (1993) recomendam a apresentação das iscas (já pesadas) às colônias de formigas cortadeiras em placas de Petri, durante 24 horas, e a retirada da mesma após esse período, sendo a sobra de isca pesada e, caso necessário, colocado o substrato usual para cultivo do fungo na colônia. As avaliações de carregamento das iscas eram realizadas pelo sistema de notas, sendo a nota 1 para pouco carregamento (25%), 2 medianamente carregado (50%), 3 grande quantidade de isca carregada (75%) e 4 para carregamento total (100%). O período de observação recomendado seria do terceiro ao décimo quinto dia de experimento, com observações diárias e semanais a partir do décimo sexto dia. Os parâmetros avaliados eram: carregamento, devolução ou rejeição da isca; preparação das iscas para incorporá-las no fungo; corte e incorporação de folhas; incorporação das iscas na cultura do fungo; presença de fungos contaminados ou desorganizados na cultura do fungo; presença de

pedaços da cultura do fungo na câmara de lixo; presença de pedaços da cultura do fungo ao lado da própria cultura; formigas mortas; e rainha viva ou morta.

A metodologia desenvolvida por Bueno et al. (1997), para testes de substâncias com prováveis atividades inseticidas em laboratório, consiste na utilização da dieta artificial preparada com 5% de glicose, 1% de peptona bacteriológica, 0,1% de extrato de levedura e 1% de Agar bacteriológico, dissolvidos em 100 mL de água destilada, autoclavada por 15 minutos, a 120 °C e 1 atm de pressão e, posteriormente, conservada em geladeira. Na realização dos bioensaios, os autores recomendam a utilização de operárias médias com peso entre 10 e 20 mg e largura da cápsula cefálica entre 2,0 e 2,8 mm, com seis operárias por placa de Petri, com algodão hidrófilo umedecido e trocado a cada 24 horas junto com a dieta sólida. A avaliação da mortalidade era feita a cada 24 h, durante 21 dias.

Conforme a Instrução Normativa n° 36, seguindo o protocolo desenvolvido por Nagamoto et al. (2004) e estabelecida pelo Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento/Controle de Pragas (Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento/Secretaria de Defesa Agropecuária - MAPA/SDA) (Mapa, 2009), as iscas eram confeccionadas com os tratamentos que, inicialmente, foram dissolvidos em solvente p.a., em seguida, misturados à polpa cítrica e homogeneizados; após a evaporação do solvente, acrescenta-se a solução de sacarose (10%) até a formação de uma pasta, sendo ofertado 2 g da pasta formulada, por repetição, durante vinte e quatro horas, e depois era retirada e ofertada esponja fúngica contendo 20 jardineiras para cultivá-las. As avaliações são realizadas durante vinte e um dias (1, 2, 3, 5, 7, 9, 11, 14, 17 e 21 dias), sendo avaliada a quantidade de formigas mortas. A classificação dos ingredientes ativos para o uso em iscas tóxicas está dividida em quatro classes: Classe 1- provoca a mortalidade < 90% com vinte e um dias, mesmo a 1%; Classe 2 – ação rápida em uma concentração (mortalidade >15% em vinte e quatro horas e > 90% com vinte e um dias); Classe 3 – ação retardada em uma concentração (mortalidade < 15% em vinte e quatro horas e > 90% com vinte e um dias); Classe 4 – ação retardada em duas concentrações; e a classe 5 – ação retardada em duas concentrações.

3 MATERIAL E MÉTODOS

3.1 Local experimental

Este estudo foi realizado no Laboratório de Mirmecologia da Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia, UESB, *campus* de Vitória da Conquista, Bahia.

3.2 Coleta e manutenção das colônias de *A. sexdens* em laboratório

As colônias de *A. sexdens* foram coletadas no campo e mantidas em laboratório para utilização das operárias nos bioensaios. Após a coleta, as colônias foram acondicionadas em recipientes de plástico transparente com uma camada de gesso no fundo para manter a umidade do jardim de fungo. Posteriormente, outros dois recipientes foram interligados por tubos plásticos transparentes, um para fornecimento do substrato vegetal e outro para deposição do lixo (material exaurido da esponja de fungo).

Para manutenção das colônias no laboratório, são utilizados vários substratos vegetais frescos (folhas de *Acalipha* sp., *Eucalyptus*, *Citrus* e outros) e também material seco (quirera de milho e aveia em flocos). Periodicamente foi realizada a retirada do lixo e limpeza dos potes para evitar contaminação das colônias.

3.3 Extratos vegetais utilizados nos bioensaios com operárias de *A. sexdens*

Os extratos vegetais utilizados nos bioensaios foram obtidos de *Metrodorea maracasana* (Rutaceae – casca e caule), *Conchocarpus mastigophorus* (Rutaceae – casca e caule), *Erythroxylum macrocalyxmacrocalyx* (Erythroxilaceae - folha e galho) e *Erythroxylum plowmanii* (Erythroxilaceae - folha e galho) (Figura 1).

O material vegetal de *M. maracasana* foi coletado a 9 km de Jequié-BA (13°56'41"S e 40°06'33.9"W), o de *C. mastigophorus* foi coletado na Fazenda Alto da Caixa D'Água, Itamari - BA (S13°71'804" e W039°62'815") e o de *E. macrocalyx* e *E. plowmanii* foram coletados a 9 km de Jequié-BA (13°56'41"S e 40°06'33.9"W). As exsiccatas (HUESB 1335, 9559, 1463 e 12829, respectivamente) encontram-se depositadas no Herbário da UESB, *Campus* de Jequié, BA.

Para o preparo dos extratos, o material vegetal (folhas, galhos, caule e casca do caule) foi seco e triturado, submetido à extração por maceração exaustiva, à temperatura de 25 ± 2 °C, com etanol. Após a extração, o líquido foi filtrado e concentrado em evaporador rotativo, sob pressão reduzida, para obtenção dos respectivos extratos. O solvente residual foi completamente removido, deixando o frasco aberto em capela de exaustão, à temperatura ambiente, até que a massa de cada extrato permanecesse constante.

3.4 Bioensaio I: bioatividade de extratos vegetais em operárias de *A. sexdens* utilizando a metodologia I (Nagamoto et al., 2004)

A metodologia I, desenvolvida por Nagamoto et al. (2004) e estabelecida pelo Mapa (2009), consistiu na utilização da dieta, confeccionada com polpa cítrica desidratada e moída em solução de sacarose (10%) até a formação de uma pasta. Após a confecção, foram acrescentados $0,2 \text{ mg mL}^{-1}$ do extrato referente a cada tratamento à pasta de polpa cítrica (Tabela 1).

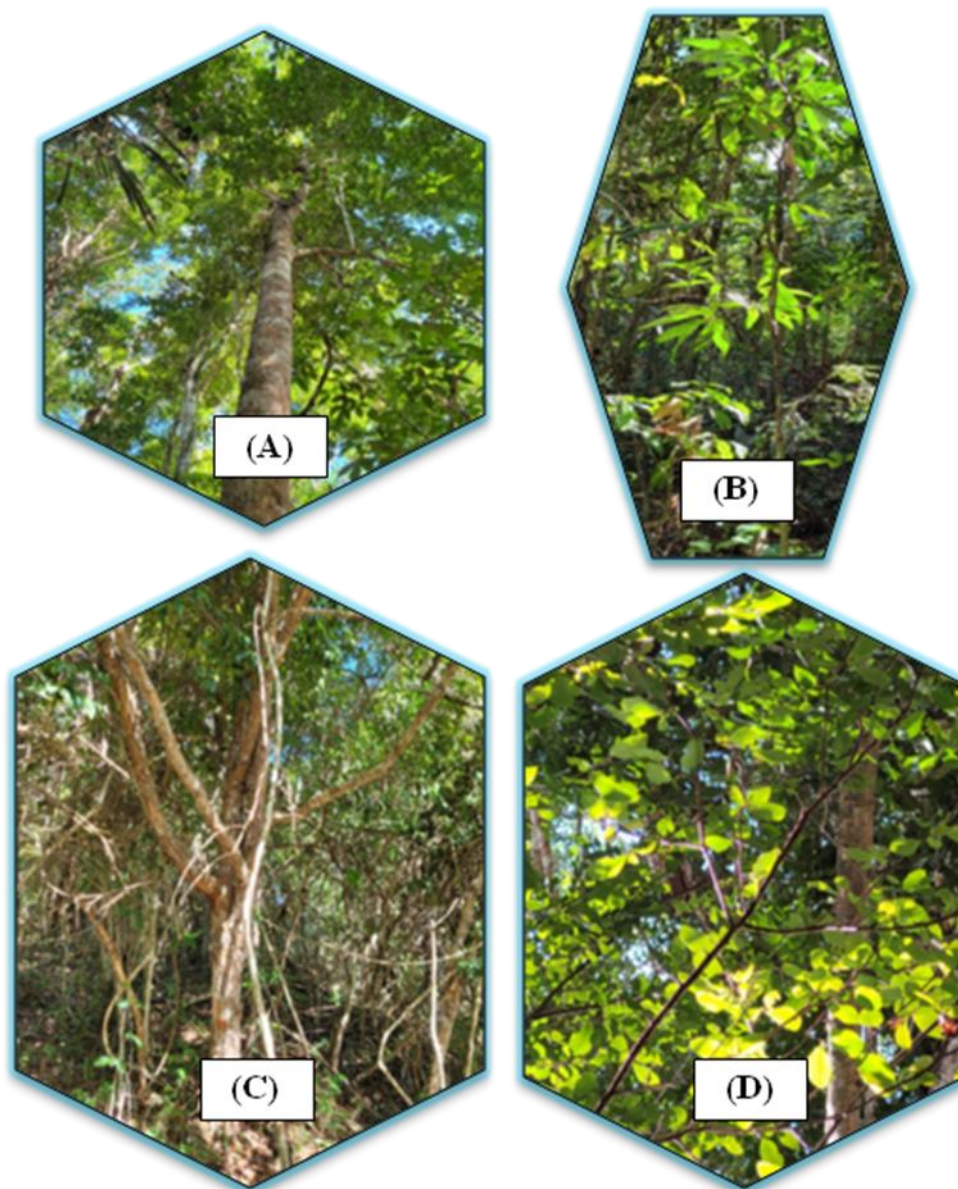


Figura 1. Vegetais utilizados para obtenção dos extratos utilizados nos bioensaios: (A) *Metrodorea maracasana* (Rutaceae); (B) *Conchocarpus mastigophorus* (Rutaceae); (C) *Erythroxylum macrocalyx* (Erythroxilaceae) e (D) *Erythroxylum plowmanii* (Erythroxilaceae).

Os tratamentos utilizados no bioensaio I foram: 1. *M. maracasana*-cascas (MMC); 2. *C. mastigophorus*-caule (CMCL); 3. *E. macrocalyx*-folhas (EMF); 4. *E. macrocalyx*-galhos (EMG); 5. *E. plowmanii*-folhas (EPF); 6. *E. plowmanii*-galhos (EPG); 7. Controle 1 (dieta + etanol), Controle 2 (apenas dieta). O bioensaio foi realizado em delineamento inteiramente casualizado (DIC), com oito tratamentos e quatro repetições, totalizando 32 parcelas. Cada repetição constou de 10 operárias, dispostas em placas de Petri, contendo a dieta com o extrato referente a cada tratamento, totalizando 40 operárias por tratamento. Os extratos foram diluídos em etanol e adicionados à dieta.

Nas placas, forradas com papel de filtro, colocou-se aproximadamente 1 g da dieta (contendo o extrato) (Nagamoto et al., 2004) sobre um pedaço de papel alumínio. Operárias de *A. sexdens* com 10 a 15 mg foram coletadas das colônias, com abstinência de folhas por 24 horas, e acondicionadas em bandeja plástica branca, com as paredes laterais revestidas com talco neutro e contendo um pedaço de algodão embebido em água destilada para manter a umidade. Em seguida, procedeu-se a transferência das formigas das bandejas para as placas já contendo a dieta acrescida do extrato (10 formigas por placa), permanecendo nesta condição por 24 horas. Após esse período, a dieta foi retirada de todas as parcelas e, logo depois, foram oferecidos fragmentos da esponja fúngica (volume aproximado de 2,0 cm³), contendo 20 jardineiras (operárias pequenas) para auxiliar no cultivo do fungo mutualístico (Tabela 1, Figura 2).

As placas, devidamente identificadas, foram distribuídas aleatoriamente e permaneceram em ambiente com temperatura de 25 ± 1 °C e umidade relativa de 70% ± 10. A avaliação da mortalidade das formigas foi realizada através da mortalidade acumulada de operárias, no período de 1, 2, 3, 5, 7, 9, 11, 14, 17 e 21 dias após a aplicação da dieta com os tratamentos (Tabela 1).

3.5 Bioensaio II: bioatividade de extratos vegetais em operárias de *A. sexdens* utilizando a metodologia II (Bueno et al., 1997)

Para o bioensaio II, foi utilizada a metodologia desenvolvida por Bueno et al. (1997), que consiste na utilização da dieta artificial preparada com 5% de glicose, 1% de peptona bacteriológica, 0,1% de extrato de levedura e 1% de ágar bacteriológico, dissolvidos em 100 mL de água destilada, autoclavada a 120 °C e 1 atm, por 15 minutos (Tabela 1).

Os tratamentos utilizados foram: 1. *M. maracasana*-cascas (MMC); 2. *C. mastigophorus*-caule (CMCL); 3. *M. maracasana* – caule (MMCL); 4. *C. mastigophorus* – casca (CMC); 5. *E. macrocalyx*-folhas (EMF); 6. *E. macrocalyx*-galhos (EMG); 7. *E. plowmanii*-folhas (EPF); 8. *E. plowmanii*-galhos (EPG); 9. Controle 1 – dieta 2+ etanol (DET) e 10. Controle 2 - apenas dieta 2 (CD).

O bioensaio foi realizado em delineamento inteiramente casualizado (DIC), com dez tratamentos e três repetições, totalizando 30 parcelas. Cada repetição constou de 10 operárias (10 a 15 mg) dispostas em placas de Petri, contendo a dieta com o extrato referente a cada tratamento, totalizando 30 operárias por tratamento.

A dieta, ainda líquida, foi derramada em placas de Petri de 10 cm de diâmetro, acrescida de $0,2 \text{ mg mL}^{-1}$ de extrato (Gomes et al., 2016), diluído em etanol, referente a cada tratamento e, após resfriamento e solidificação, foi mantida em geladeira e oferecida às operárias durante o período experimental, que foi de 25 dias (Tabela 1).

As placas de Petri eram forradas com papel de filtro, colocando-se aproximadamente 0,4 g da dieta por placa, sobre um pedaço de papel alumínio (Bueno et al., 1997), contendo o extrato referente a cada tratamento (Figura 2) e 10 operárias do mesmo tamanho das utilizadas no bioensaio I.

As placas, devidamente identificadas e distribuídas aleatoriamente, permaneceram em ambiente com temperatura de $25 \pm 1 \text{ }^\circ\text{C}$ e umidade relativa de $70\% \pm 10$. Diariamente, anotações do número acumulado de formigas mortas/placa foram realizadas e efetuadas trocas da dieta (conforme o tratamento) e do papel de filtro. As avaliações eram realizadas diariamente, por 25 dias, em decorrência do período normal de sobrevivência das formigas na dieta (Bueno et al., 1997) (Tabela 1).

Tabela 1. Diferenças entre as metodologias I (Nagamoto et al., 2004) e II (Bueno et al., 1997) para avaliação da atividade inseticida, ao longo do tempo, em operárias de *A. sexdens*.

Parâmetros	Metodologia I	Metodologia II
Dieta	Pó de polpa cítrica + solução de sacarose 10% até formação de uma pasta	5% de glicose + 1% de peptona bacteriológica + 0,1 % de extrato de levedura + 1 % de agar bacteriológico, dissolvidos em 100 mL de água destilada, autoclavada a 120 °C e 1 atm por 15 minutos.
Quantidade de dieta	1 g/ placa/ 24 horas	0,4 g/placa/dia
Oferecimento da dieta com os tratamentos	Durante 24 horas e nos dias subsequentes utilizada esponja fúngica para alimentação	Oferta diária durante o período de avaliação
Período de avaliação	1, 2, 3, 5, 7, 9, 11, 14, 17 e 21 dias após a aplicação da dieta	Diariamente por 25 dias

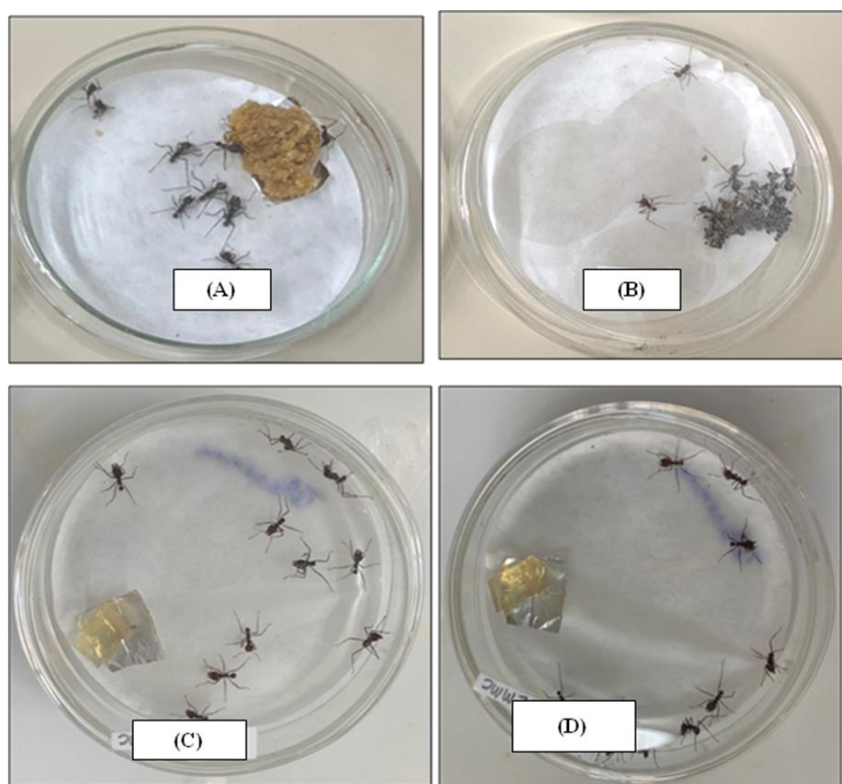


Figura 2. Bioensaio com extratos, oferecidos por ingestão a operárias de *Atta sexdens*: Metodologia I, com dieta 1, com os tratamentos, oferecida por 24 horas (A) e troca por fungo simbiote nos demais dias de observação; e (B) metodologia II, com dieta (C), com os tratamentos, oferecida em todos os dias de observação (D).

3.6 Análise dos dados

Os dados obtidos foram tabulados de duas formas: primeiro em valores acumulados de mortalidade diária das 10 formigas em cada placa e depois acumulados no tempo. A transformação complementar de 100 resultou em valores de sobrevivência ao longo do tempo, cuja representação gráfica é a curva de sobrevivência.

O estimador de Kaplan-Meier (também conhecido por limite-produto) foi utilizado para calcular a função de sobrevivência (Kaplan e Meier, 1958). Esse estimador é uma adaptação da função de sobrevivência empírica:

$$S(t) = \frac{\text{n}^\circ \text{ de indivíduos que sobreviveram até o tempo } t}{\text{n}^\circ \text{ total de indivíduos no estudo}}$$

Esta função implica na ausência de censuras, presença de informações incompletas ou parciais (Giolo e Colosimo, 2006). $\hat{S}(t)$ é uma função em forma de escada com degraus nos tempos em que ocorreu a morte do indivíduo. Os degraus têm tamanho $\frac{1}{n}$ (n = tamanho da amostra) que é multiplicado pelo número de empates, no caso deles ocorrerem.

O teste de Log-rank ou Mantel Haenszel foi empregado para testar a hipótese da inexistência de diferença das funções de sobrevivência entre os tratamentos. Os valores de P foram ajustados pelo método de Benjamini e Hochberg (1995), que controla a taxa de falsa descoberta (a proporção esperada de descobertas falsas entre as hipóteses rejeitadas), por ser um método dos mais poderosos, dentre os métodos de ajuste dos valores de P.

Os pacotes ggplot2, survival e survminer do ambiente R, versão 4.1.2, conjuntamente com o ambiente de desenvolvimento integrado RStudio 2022.02.3, foram utilizados para a computação estatística e elaboração dos gráficos (R Core Team, 2020).

4 RESULTADOS

4.1 Bioensaio I: bioatividade de extratos vegetais nas operárias de *A. sexdens* utilizando a metodologia I (Nagamoto et al., 2004)

As curvas de sobrevivência de operárias de *A. sexdens*, expostas aos diferentes extratos vegetais, evidenciaram diferença significativa entre si; e destes tratamentos com as curvas dos controles negativos, Controle 1 e Controle 2 (Tabela 2, Figura 3), exceto para T1 (*Metrodorea maracasana* – cascas) em relação T6 (*Erythoxylum plowmanii* – galhos) e T8 (Dieta, Controle 2), os quais não diferiram significativamente entre si (Tabela 2). Os tratamentos 2, 3, 4 e 5 determinaram mortalidade total (100%) das formigas até 24 horas, enquanto nos tratamentos 1 (*Metrodorea maracasana* – cascas) e 6 (*Erythoxylum plowmanii* – galhos) a sobrevivência foi igual (T6) ou superior a 90% (T1) para o mesmo período de avaliação. A sobrevivência foi diminuindo ao longo do tempo, chegando a 2,5% aos 21 dias, para o T1 (Figura 3).

Tabela 2. Valor P da análise de sobrevivência para operárias de *Atta sexdens* (Hymenoptera: Formicidae) em diferentes extratos, de acordo com a metodologia de Nagamoto et al. (2004).

	T1	T2-T5	T6	T7
T2-T5	8,27E-16			
T6	0,994067	3,00E-15		
T7	2,85E-08	1,63E-07	1,29E-09	
T8	0,684773	2,81E-16	0,022832	1,66E-10

Legenda: T1 - *Metrodorea maracasana*-cascas (MMC), T2 - *Conchocarpus mastigophorus* - caule (CMCL), T3 - *Erythoxylum macrocalyx* -folhas (EMF), T4 - *Erythoxylum macrocalyx* - galhos (EMG), T5 - *Erythoxylum plowmanii* -folhas (EPF), T6 - *Erythoxylum plowmanii* - galhos (EPG), T7 - Dieta + Etanol (Controle 1), T8- Dieta (Controle 2).

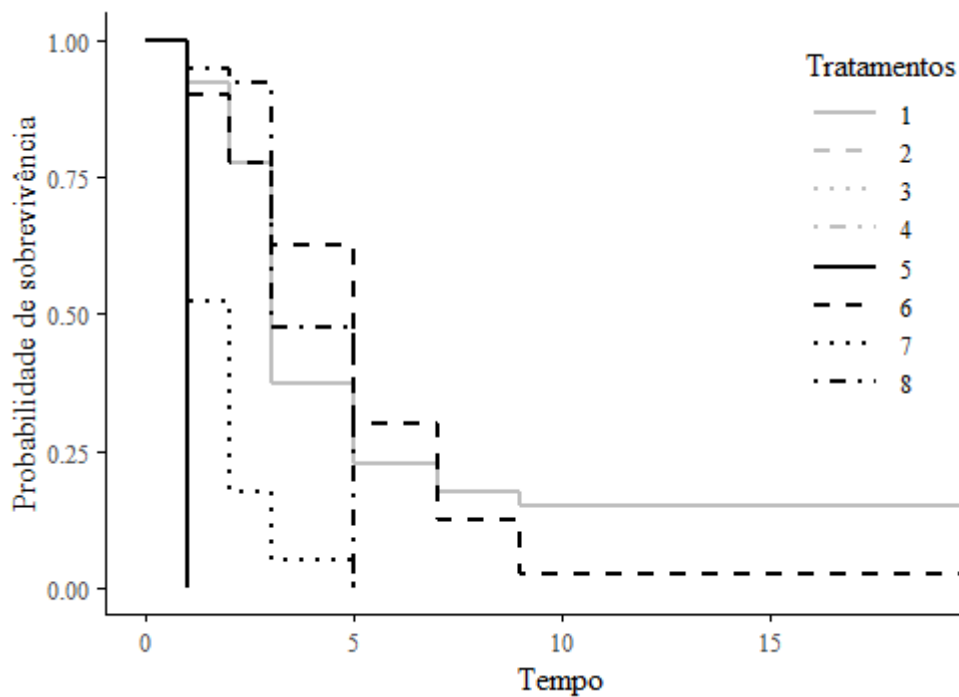


Figura 3. Curvas de probabilidade de sobrevivência para operárias de *Atta sexdens* (Hymenoptera: Formicidae) em diferentes extratos, de acordo com a metodologia de Nagamoto et al. (2004).

Legenda: 1 - *Metrodorea maracasana* -cascas (MMC), 2 - *Conchocarpus mastigophorus* -caule (CMCL), 3 - *Erythoxylum macrocalyx* -folhas (EMF), 4 - *Erythoxylum macrocalyx* -galhos (EMG), 5 - *Erythoxylum plowmanii* -folhas (EPF), 6 - *Erythoxylum plowmanii* -galhos (EPG), 7 - Dieta + Etanol (Controle 1), 8- Dieta (Controle 2).

4.2 Bioensaio II: bioatividade de extratos vegetais nas operárias de *A. sexdens* utilizando a metodologia II (Bueno et al., 1997)

As curvas de sobrevivência de operárias de *A. sexdens*, expostas a diferentes extratos vegetais, evidenciaram diferença significativa entre si; e dos tratamentos controle negativo, Controle 1 e Controle 2 (Tabela 3, Figura 4), exceto: T1 (*Metrodorea maracasana* – cascas) em relação a T6 (*Erythoxylum macrocalyx*-galhos); e T8 (*Erythoxylum plowmanii*-galhos); T2 (*Conchocarpus mastigophorus*-caule) comparado com T3 (*Metrodorea maracasana*-caule); e T4 (*Conchocarpus mastigophorus*-casca) e T10; T3 (*Metrodorea maracasana*-caule) comparado com T4 (*Conchocarpus mastigophorus*-casca) e comparado com T10 (Dieta, Controle 2); T4 (*Conchocarpus mastigophorus*-casca) comparado com T10 (Dieta, Controle 2); T5 (*Erythoxylum macrocalyx*-folhas) comparado com T7 (*Erythoxylum plowmanii*-folhas); e com T9 (Dieta + Etanol, Controle 1); T6 (*Erythoxylum macrocalyx*-galhos) comparado com T7 (*Erythoxylum plowmanii*-folhas) e com T8 (*Erythoxylum plowmanii*-galhos); os quais não diferiram significativamente entre si (Tabela 3).

De modo geral, constata-se que a sobrevivência na primeira avaliação (24 horas) foi relativamente alta em todos os tratamentos com extratos, de 70% (MMC – T1) a 100% (T2- CMCL, T5 - EMF e T9 CDE) (Figura 4). O tempo de sobrevivência variou entre os tratamentos, sendo que, para a maioria, a mortalidade atingiu valores máximos entre os 10 e 20 dias. Aos 21 dias, apenas nos tratamentos T3 (*Metrodorea maracasana*-caule-MMCL) e T4 (*Conchocarpus mastigophorus*-casca - CMCL) ainda eram observadas formigas vivas, com sobrevivência de 10 e 3,3%, respectivamente, não diferindo significativamente entre si.

Tabela 3. Valor P da análise de sobrevivência para operárias de *Atta sexdens* (Hymenoptera: Formicidae) em diferentes extratos, de acordo com a metodologia de Bueno et al. (1997).

	T1	T2	T3	T4	T5	T6	T7	T8	T9
T2	1,20E-09								
T3	5,96E-10	0,134315							
T4	1,20E-08	0,14516	0,508674						
T5	2,65E-07	0,002183	0,000138	0,000312					
T6	0,087536	0,000417	7,53E-06	3,28E-05	0,037246				
T7	0,001509	4,31E-06	6,45E-07	2,36E-06	0,053932	0,439648			
T8	0,928899	1,80E-08	2,39E-09	2,65E-07	1,54E-05	0,107188	0,006369		
T9	7,91E-10	0,002661	0,000106	0,00166	0,653578	0,010864	0,006369	3,20E-07	
T10	1,57E-07	0,606423	0,081646	0,138661	0,030997	0,001871	0,00033	7,90E-07	0,027662

Legenda: 1 - *Metrodorea maracasana*-cascas (MMC), 2 - *Conchocarpus mastigophorus*-caule (CMCL), 3 - *Metrodorea maracasana*-caule (MMCL), 4 - *Conchocarpus mastigophorus*-casca (CMC), 5 - *Erythoxylum macrocalyx*-folhas (EMF), 6 - *Erythoxylum macrocalyx*-galhos (EMG), 7 - *Erythoxylum plowmanii*-folhas (EPF), 8 - *Erythoxylum plowmanii*-galhos (EPG), 9 - Dieta + Etanol (Controle 1), 10 - Dieta (Controle 2).

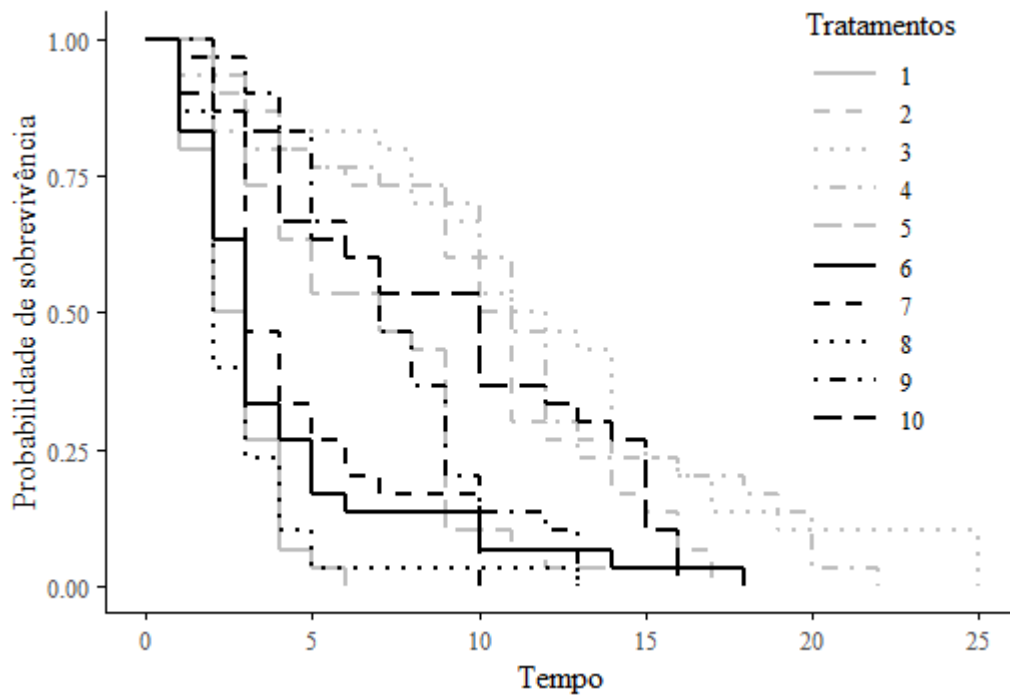


Figura 4. Curvas de probabilidade de sobrevivência para operárias de *Atta sexdens* (Hymenoptera: Formicidae) em diferentes extratos, de acordo com a metodologia de Bueno et al. (1997).

Legenda: 1 - *Metrodorea maracasana*-casca (MMC), 2 - *Conchocarpus mastigophorus*-caule (CMCL), 3 - *Metrodorea maracasana*-caule (MMCL), 4 - *Conchocarpus mastigophorus*-casca (CMC), 5 - *Erythoxylum macrocalyx*-folhas (EMF), 6 - *Erythoxylum macrocalyx*-galhos (EMG), 7 - *Erythoxylum plowmanii*-folhas (EPF), 8 - *Erythoxylum plowmanii*-galhos (EPG), 9 - Dieta + Etanol (Controle 1), 10 - Dieta (Controle 2).

4.3 Comparação entre as metodologias I (Nagamoto et al., 2004) e II (Bueno et al., 1997) para avaliação da atividade inseticida ao longo do tempo em operárias de *A. sexdens*

As análises da comparação pareada das curvas de sobrevivência, obtidas para os mesmos extratos nos bioensaios (I e II), evidenciaram diferenças significativas entre as metodologias para seis dos extratos estudados e, também, para o tratamento Controle com Dieta+Etanol ($P < 0,05$) (Tabela 4, Figura 5). De modo geral, os tempos de sobrevivência foram maiores, quando se usou a metodologia de Bueno et al. (1997), exceto para *Metrodorea maracasana* -cascas (MMC) (BUE1 e SAT1) (Figura 5A) e *Erythoxylum plowmanii*-galhos (EPG) (BUE8 e SAT6) (Figura 5G).

Tabela 4. Comparação pareada dos métodos Nagamoto et al. (2004) e Bueno et al. (1997) em cada tratamento.

	BUE1	BUE10	BUE2	BUE5	BUE6	BUE7	BUE8	BUE9	BUE10
SAT1	0,001757								
SAT8		2,10E-05							
SAT2-5			2,58E-15						
SAT2-5				2,58E-15					
SAT2-5					6,11E-12				
SAT2-5						1,08E-14			
SAT6							0,000228		
SAT7								1,78E-13	
SAT8									2,10E-05

Legenda: BUE1 e SAT1= *Metrodorea maracasana* - cascas (MMC); BUE10 e SAT8= Dieta (Controle 2); BUE2 e SAT2-5= *Conchocarpus mastigophorus*-caule (CMCL); BUE5 e SAT2-5= *Erythoxylum macrocalyx*-folhas (EMF); BUE6 e SAT2-5= *Erythoxylum macrocalyx*-galhos (EMG); BUE7 e SAT2-5= *Erythoxylum plowmanii*-folhas (EPF) ; BUE8 e SAT6= *Erythoxylum plowmanii*-galhos (EPG) ; BUE9 e SAT7= Dieta + Etanol (Controle 1) ; BUE10 e SAT8= Dieta (Controle 2).

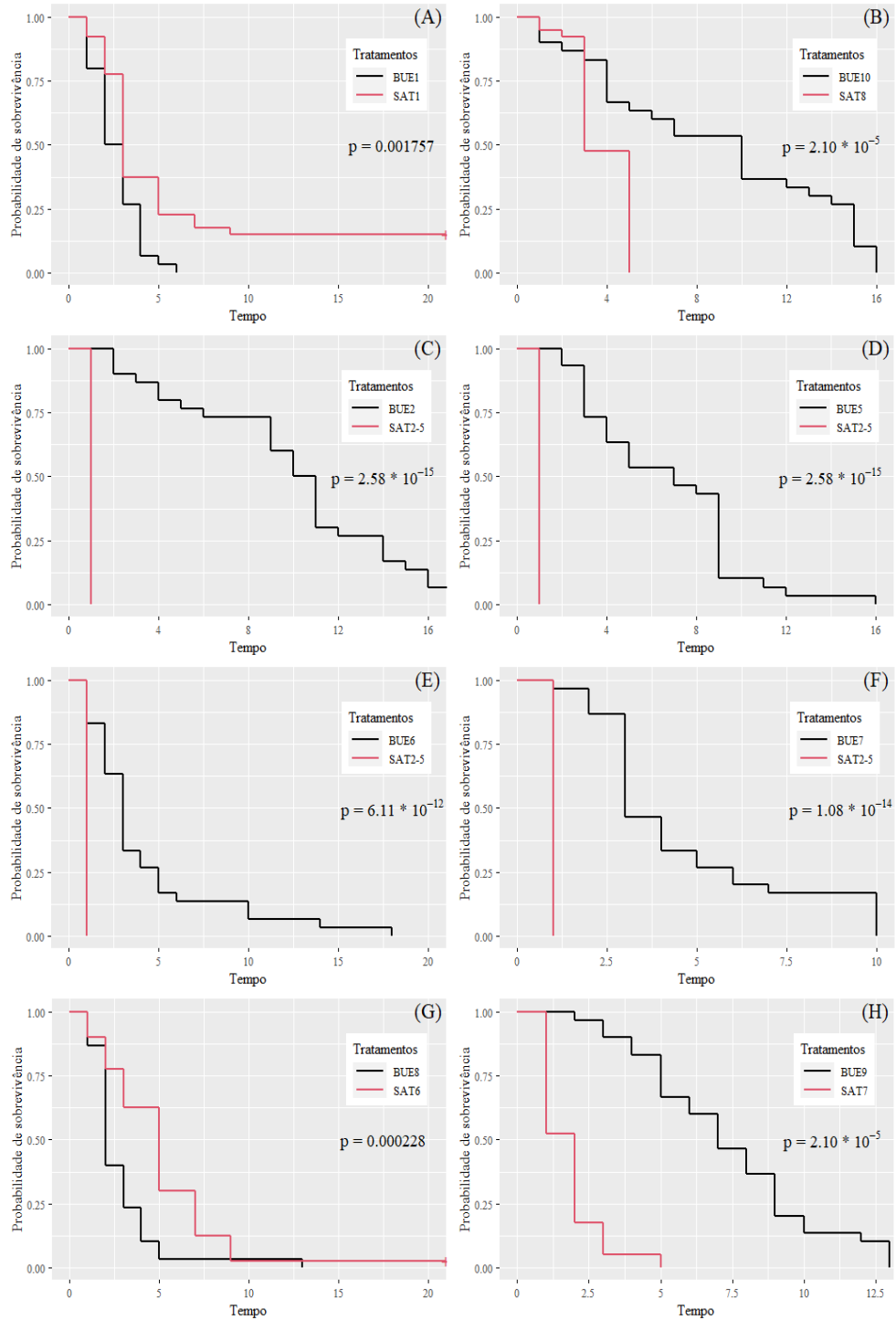


Figura 5. Curvas de probabilidade de sobrevivência para operárias de *Atta sexdens* (Hymenoptera: Formicidae) dos tratamentos (A) *Metrodorea maracasana*-cascas (MMC) (BUE1 e SAT1); (B) Dieta (Cont. 2) (BUE10 e SAT8); (C) *Conchocarpus mastigophorus*-caule (CMCL) (BUE2 e SAT2-5); (D) *Erythoxylum macrocalyx*-folhas (EMF) (BUE5 e SAT2-5); (E) *Erythoxylum macrocalyx*-galhos (EMG) (BUE6 e SAT2-5); (F) *Erythoxylum plowmanii*-folhas (EPF) (BUE7 e SAT2-5); (G) *Erythoxylum plowmanii*-galhos (EPG) (BUE8 e SAT6); (H) Dieta + Etanol (Cont. 1) (BUE9 e SAT7= Dieta + Etanol (Controle 1)).

5 DISCUSSÃO

5.1 Bioensaio I: bioatividade de extratos vegetais nas operárias de *A. sexdens* utilizando a metodologia de Nagamoto et al. (2004)

Os extratos etanólicos das espécies vegetais estudadas apresentaram uma forte atividade inseticida para as operárias de *A. sexdens*, em particular, cascas e caules de *M. maracasana*, cascas e caule de *C. mastigophorus*, folhas e galhos de *E. macrocalyx*, folhas e galhos de *E. plowmanii*. Essas espécies são inéditas como plantas com atividade inseticida ou fungicida em pesquisas com formigas cortadeiras.

Na literatura, encontram-se muitas plantas utilizadas com atividades inseticida e/ou fungicida, sendo elas: *Ricinus communis* (Hebling et al., 1996; Bigi et al., 1998; Kitamura et al., 1999; Bigi et al., 2004; Caffarini et al., 2008), *Sesamum* (Barbiellini, 1926; Gonçalves, 1944; Pagnocca et al., 1990; Betella, 1990; Hebling et al., 1991; Bueno et al., 1995; Ribeiro et al., 1998; Peres Filho e Dorval, 2003; Morini et al., 2005; Bueno et al., 2004; Peres Filho et al., 2002), *Ipomea batatas* (Hebling et al., 2000), *Canavalia ensiformis* (Mullenax, 1979; Hebling et al., 2000a,b; Rodríguez et al., 2008; Valderrama-Eslava et al., 2009; Aubad-Lopez, 2011; Varon, 2006), *Raulinoa echinata* (Biavatti et al., 2005), *Simarouba versicolor* (Peñaflor et al., 2009), *Manihot esculenta* (Santos et al., 2013), *Melia* (Caffarini et al., 2008), *Trichilia* (Caffarini et al., 2008), *Hymenaea courbaril* (Howard et al., 1988), *Melampodium divaricatum* (Howard et al., 1988), *Vismia baccifera* (Howard et al., 1988), *Tithonia diversifolia* (Giraldo-Echeverri, 2005; Castano, 2009), *Cedrela fissilis* (Bueno et al., 2005), *Cipadessa fruticosa* (Leite et al., 2005), *Virola sebifera* (Pagnocca et al., 1996a,b), *Otoba parvifolia* (Pagnocca et al., 1996a,b), *Hellietta puberula* (Almeida et al., 2007), *Cucurbita máxima* (Palacios e Gladstone, 2003), *Azadirachta indica* (Bigi et al., 2004; Gruber e Valdivia, 2003; Herrera, 2009), *Phyllanthus acuminatus* (Escobar et al., 2002a,b), *Clibadium asperum* (Escobar et al., 2002a,b), *Mammea americana* (Boulogne et al., 2012), *Nerium oleander* (Boulogne et al., 2012), *Nicotina tabacum* (Boulogne et al., 2012), *Gliricidia sepium* (Gruber e Valdivia, 2003), *Havenia dulcis* (Specht et al., 1994), *Aleuritis fordii* (Specht et al., 1994) e *Hura crepitans* (Varon, 2006).

Em relação às plantas estudadas, os extratos de casca e caule de *M. maracasana* apresentaram uma forte ação inseticida para as operárias de *A. sexdens*. Essa atividade pode estar relacionada à presença de metabólitos secundários, pois, em estudos sobre a

constituição química desse gênero nas espécies *M. flavida* (Pernin et al., 1999; Baetas et al., 1996, 1999) e *M. nigra* (Müller et al., 1995), foi observada uma diversidade de metabólitos secundários, tais como alcaloides, cumarinas, lignanas e terpenoides, sendo que os alcaloides furoquinolínicos e cumarinas foram os mais abundantes dessas espécies.

Em um estudo químico realizado com os galhos de *M. maracasana*, foram isoladas e identificadas quatro substâncias pertencentes à classe das cumarinas, sendo duas piranocumarinas, uma dimetoxicumarina e uma furanocumarina (Santana, 2012). Além disso, o autor observou que as piranocumarinas aloxantoxiletina e 5-metoxixantiletina eram os constituintes majoritários dos extratos. No entanto, nos extratos de um espécime coletado na região de Maracás, BA, a aloxantoxiletina era o constituinte majoritário, enquanto que, nos extratos de um espécime coletado na região de Jequié, BA, a 5-metoxixantiletina era o constituinte majoritário. Outras cumarinas presentes em menor concentração foram a 5,7- dimetoxicumarina e o bergapteno, uma furanocumarina. É conhecido que algumas furanocumarinas possuem certa ação tóxica frente a determinados insetos (Simões et al., 2004). A xantotoxina, por exemplo, é bastante conhecida por sua capacidade de, quando ativada pela luz, reagir com as bases pirimidínicas dos ácidos nucleicos, impedindo, assim, infestação por lagartas. Outras, como o isopsoraleno (furanocumarina angular), agem reduzindo a capacidade reprodutiva de algumas borboletas. Já outras furanocumarinas lineares, como psoraleno, bergapteno, mostram-se ativas contra lagartas (*Heliothis virescens*, Noctuidae).

Os extratos das cascas e caule de *C. mastigophorus* apresentaram uma forte atividade inseticida que pode estar relacionada com a presença de alcaloides acridônicos, 2- e 4-quinolônicos e indoloquinazolínicos, além de amidas, flavonas e diversas cumarinas isoladas de espécies do gênero (Cortez, 2002; Mafezoli, 2001; Veloso, 1995; Vieira et al., 1992). Do caule de *C. mastigophorus*, foram isolados diversos alcaloides acridônicos, furanoquinolólico e quinolônicos, cumarinas, e uma piperidinona (Pinto et al., 2022). Os extratos de *C. heterophyllus*, em testes biológicos, mostraram que as plantas selecionadas são promissoras na procura de compostos antiparasitários (Ambrozin, 2004).

Essa mesma atividade inseticida foi observada em extratos de folhas e galhos de *E. macrocalyx*, folhas e galhos de *E. plowmanii*, em operárias de formigas cortadeiras. Essas espécies vegetais pertencem ao gênero *Erythroxylum* P. Browne da família Erythroxylaceae. Algumas espécies deste gênero, como *E. monogynum* e *E. coca*, têm

sido usadas como remédios populares na Índia ou na América do Sul por uma longa história. É bem conhecido que as plantas do gênero *Erythroxylum* são ricas em alcaloides tropânicos, e o membro representativo cocaína apresenta notável atividade no sistema nervoso central humano (Lv e Tian et al., 2022). Além disso, extratos alcalinos de *E. vacciniifolium*, popularmente conhecida como catuaba, demonstraram atividade antibacteriana frente à *Escherichia coli* e *Staphylococcus aureus*, além de significativa inibição do HIV e de infecções oportunas em portadores do vírus (Manabe et al., 1992).

Alguns flavonoides isolados em espécies de *Erythroxylum* demonstraram possuir diversas atividades biológicas, dentre elas, antioxidante, anti-inflamatória, anticarcinogênico, antibacteriana, citotóxica; inibidora da acetilcolinesterase (Hansen et al., 1996; Lucas-Filho et al., 2010; Albuquerque et al., 2014; Leite et al., 2014; Barros et al., 2017; Restrepo et al., 2019). Provavelmente, um efeito neurotóxico possa ter ocorrido nas operárias das formigas cortadeiras, visto que muitos inseticidas neurotóxicos apresentam um modo de ação em inibir a enzima acetilcolinesterase.

A mortalidade foi de 100% nos tratamentos T2 a T5 (T2 - *Conchocarpus mastigophorus*-caule (CMCL), T3 - *Erythroxylum macrocalyx*-folhas (EMF), T4 - *Erythroxylum macrocalyx* -galhos (EMG) e T5 - *Erythroxylum plowmanii* -folhas (EPF), 24 horas após o oferecimento da dieta contendo os extratos vegetais, não apresentando diferença significativa entre eles. Os tratamentos T1 e T6 (T1 - *Metrodorea maracasana*-cascas -MMC e T6 - *Erythroxylum plowmanii*-galhos - EPG) apresentaram apenas 7,5 e 10% de mortalidade em 24 horas, havendo diferença apenas entre os tratamentos T1 com T8 e T6.

No sétimo dia, após a oferta dos extratos, apenas os tratamentos T1 e T6 apresentaram 2,5 e 12,5 % de operárias vivas. A maioria dos tratamentos não diferiu entre si, apesar de apresentarem uma mortalidade acentuada das operárias de *A. sexdens* (Tabela 2). Isso se deve ao método de *screening* aplicado e variável mensurada, bem como às características intrínsecas das operárias e dos extratos. Além disso, Brito et al. (2016) discutiram as dificuldades com possíveis ingredientes ativos das plantas, tais como:

- a) Instabilidade das substâncias, que são complexas e degradadas pela luz UV e calor;
- b) Desconhecimento da concentração a ser utilizada, pois cada método de extração mostra diferentes maneiras de isolar os grupos químicos, além da variabilidade das plantas;
- c) Desconhecimento do modo de atuação dos compostos;

d) Síntese difícil das moléculas ativas.

Em geral, sabe-se que muitas plantas podem apresentar substâncias que causam alterações no comportamento do inseto, e também a sua morte. Enquanto isso, milhares de anos de coevolução se passaram atuando na interação formiga *versus* planta. Devido a esse fato, concluí-se que os extratos de *M. maracasana*, *C. mastigophorus*, *E. macrocalyx* e *E. plowmanii* são tóxicos às operárias de *A. sexdens*. Contudo, um estudo mais aprofundado, com colônias em laboratório, deve ser realizado.

5.2 Bioensaio II: bioatividade de extratos vegetais nas operárias de *A. sexdens* utilizando a metodologia de Bueno et al. (1997)

Os extratos etanólicos das cascas e caules de *M. maracasana*, cascas e caule de *C. mastigophorus*, folhas e galhos de *E. macrocalyx*, folhas e galhos de *E. plowmanii* apresentaram uma alta atividade inseticida para as operárias de *A. sexdens*. Essas espécies pertencem às Famílias Rutaceae e Erythroxylaceae, sendo esta última inédita na atividade inseticida às operárias de *A. sexdens* por ingestão, representada por duas espécies vegetais. Na literatura, encontramos algumas espécies de plantas da família Asteraceae (Howard et al., 1988; Giraldo-Echeverri, 2005; Castaño-Quintana et al., 2013), Apocynaceae (Boulogne et al., 2012), Euphorbiaceae (Bigi et al., 2004; Alonso e Santos, 2013), Myrtaceae (Marinho et al., 2005), Fabaceae (Aubad-Lopez, 2011; Valderrama-Eslava et al., 2009; Rodrigues et al., 2008; Castano, 2009), Calophyllaceae (Boulogne et al., 2002), Caesalpiniaceae (Howard et al., 1988), Convolvulaceae (Hebling et al., 2000a,b), Clusiaceae (Howard et al., 1988), Curcubitaceae (Palacios e Gladstone, 2003), Meliaceae (Leite et al., 2005; Bueno et al., 2005), Myristicaceae (Pagnocca et al., 1996a,b), Rutaceae (Biavatti et al., 2002; Miyashira et al., 2012), Pedaliaceae (Bueno et al., 1995, 2004; Ribeiro et al., 1998), Piperaceae (Pagnocca et al., 2006), Phyllanthaceae (Escobar et al., 2002a, b), Simaroubaceae (Peñaflor et al., 2009) e Solanaceae (Boulogne et al., 2012) as quais podem conter compostos químicos tóxicos para formigas cortadeiras.

No presente estudo, foram utilizados extratos etanólicos de plantas das famílias Rutaceae e Erythroxylaceae, porém, nenhum estudo sobre seus constituintes químicos foi realizado, a fim de determinar o agente causal da morte das operárias, bem como discutir sobre seu modo de ação. O modo de ação da maioria desses compostos ainda é desconhecido, provavelmente, pela dificuldade em conduzir estudos fisiológicos,

comuns a uma adequada precisão. No entanto, poucos pesquisadores têm estudado o modo de ação dos compostos de plantas tóxicas. Por exemplo, bullatacin é uma acetogenina isolada de plantas da família Annonaceae, com grande potencial como inseticida. Tal composto causa inibição da respiração celular com um efeito antagônico sobre os elétrons transportados na mitocôndria, com ação específica no complexo I (Ahammadsahib et al., 1993).

Outros compostos estão sendo estudados com um foco neurofisiológico, como os silfinenos, uma classe rara de sesquiterpenos tricíclicos extraídos das folhas do *Senecio palmensis* que atuam como antagonistas do sistema γ -aminobutírico (GABA), mais especificamente canais receptores de cloreto de cloro (Bloomquis et al., 2008). Outro ingrediente ativo com atividade neurotóxica é o monoterprenoide pulegona-1,2-epóxido, isolado da planta *Lippia steochadifolia* (Grundy e Still, 1985). Os autores verificaram que este composto atua como carbamato, com um efeito irreversível na inibição da enzima acetilcolinesterase. Contudo, uma ação bioquimicamente específica, como a inibição da acetilcolinesterase, está relacionada à coevolução inseto-planta, ou seja, as plantas produzem compostos químicos como uma defesa contra insetos herbívoros, geralmente produzindo substâncias da classe dos terpenoides (Ryan e Byrne, 1988), mas nenhum desses princípios ativos é comercializado. Eles identificaram seis terpenoides (pulegona, gossipol, citral, linalol, acetato de bornila e cineol) que inibem a enzima acetilcolinesterase, com efeitos de paralisia e morte de insetos.

Os resultados obtidos nos bioensaios mostraram que, na concentração estudada, os extratos de *M. maracasana*, *C. mastigophorus*, *E. macrocalyx* e *E. plowmanii* são tóxicos às operárias de *A. sexdens*. Entretanto, esses estudos laboratoriais de *screening* utilizam um número reduzido de operárias da colônia e sabe-se claramente que isso faz parte dos estudos iniciais, no entanto, essas triagens também devem ser realizadas em colônias de laboratório. Dessa forma, os resultados esperados podem ser diferentes, devido à interação associada formiga-fungo-simbiótico-microbiota. Assim, considera-se a necessidade de continuidade dos estudos com a realização de experimentos com os extratos mais promissores em colônias, em laboratório, para posterior fracionamento dos mesmos, seleção das substâncias ativas e, por fim, experimentos-piloto em campo com protótipos de iscas.

5.3 Comparação entre as metodologias I (Nagamoto et al., 2004) e II (Bueno et al., 1997) para avaliação da atividade inseticida ao longo do tempo em operárias de *A. sexdens*

Os dois métodos de *Screening* utilizados na experimentação demonstraram que os extratos das plantas *M. maracasana*, *C. mastigophorus*, *E. macrocalyx* e *E. plowmanii* são tóxicos às operárias de *A. sexdens*. A divergência encontrada na forma de administração do extrato (ou ingrediente ativo) às operárias de formigas, de acordo com Brito et al. (2016), pode ser em decorrência de que o problema mais crítico e recorrente da metodologia é a oferta diária de potenciais compostos tóxicos e substâncias extraídas das plantas, adicionadas a produtos artificiais, dietas líquidas e mais frequentemente sólidas, durante o período de experimentação, que pode durar até 25 dias. Esse tipo de procedimento metodológico contradiz estudos desenvolvidos por Stringer et al. (1964) e Nagamoto et al. (2004), que consideram a oferta de compostos ou substâncias de uma só vez, como a forma mais adequada para análise do efeito tóxico para formigas cortadeiras.

Resultados mostrados em publicações científicas sobre essa metodologia de oferta contínua e diária, quando são claros, geralmente permitem concluir se as substâncias ou compostos de origem botânica são tóxicos para operárias de formigas cortadeiras ou causam inibição no crescimento do fungo simbiótico (Brito et al., 2016). Esses compostos são resultantes de pesquisas iniciais e não podem ainda serem recomendados para uso em campo. Qualquer substância (composto ou molécula), com possibilidade de uso para o controle de formigas cortadeiras, deve ser exaustivamente testada, antes de serem recomendadas para controle (Schoereder et al., 2012).

Em estudos de toxicologia de inseticidas para formigas cortadeiras, o ingrediente ativo formulado em isca tóxica deve agir por ingestão e basicamente ter as mesmas características dos inseticidas que atuam principalmente sobre operárias de *Solenopsis* spp., de acordo com estudos iniciais de Lofgren et al. (1962), seguida a proposta de Stringer et al. (1964), complementada por Lofgren et al. (1967) e Vander Meer et al. (1985), que são: 1) Ação tóxica com mortalidade inferior a 15%, após o primeiro dia; e superior a 89%, ao final do experimento (décimo quarto ou vigésimo primeiro dia); 2) Letal em baixas concentrações; 3) Ser prontamente espalhado na colônia e matar os indivíduos receptores; e 4) Não cause impacto ao meio ambiente.

Considerando as características do inseticida adequado para uso em iscas tóxicas para formigas cortadeiras, sua respectiva classificação e potencial para uso, elencadas

por Nagamoto et al. (2004), poderia estabelecer a classificação para os extratos estudados com vistas à seleção daqueles com maior potencial para futuros estudos.

De acordo com a metodologia de Nagamoto et al. (2004) e utilizando o Anexo VI da Instrução Normativa nº 36 do Mapa (2009), constata-se que todos os extratos estudados apresentam potencial para novos estudos, pois nenhum causou mortalidade menor que 90% aos 21 dias, sendo considerados promissores os extratos T2, T3, T4 e T5 e muito promissores T1 e T6. Pela metodologia de Bueno et al. (1997), a maioria dos extratos foi enquadrada como muito promissora (T2, T3, T4, T5, T6, T7 e T8) e apenas T1 como promissor. De modo geral, apesar das curvas de sobrevivência terem sido significativamente diferentes para maioria dos extratos estudados, nas duas metodologias, constata-se que todos os extratos merecem uma melhor investigação.

6 CONCLUSÕES

Os extratos de *Metrodorea maracasana*, *Conchocarpus mastigophorus*, *Erythoxylum macrocalyx* e de *Erythoxylum plowmanii* apresentaram atividade inseticida às operárias de *A. sexdens* nos bioensaios, utilizando as duas metodologias.

A atividade inseticida das espécies *Erythoxylum macrocalyx*, *E. plowmanii*, *Metrodorea maracasana* e *Conchocarpus mastigophorus* é inédita para operárias de *A. sexdens*.

Os extratos estudados apresentam potencial para fracionamento e seleção das substâncias responsáveis pela atividade inseticida, visando à propepecção de iscas tóxicas.

7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Acácio-Bigi, M.F.M.; Hebling, M.J.; Bueno, O.C.; Pagnocca, F.C.; Silva, J.A.; Fernandes, J.B.; Vieira, P.C. Toxicidade de substância de origem vegetal para operárias de *Atta sexdens*. **Anais Mirmecologia Tropical**. Ilhéus, Universidade Estadual de Santa Cruz, p.124, 1997.

Ahammadsahib, K.I.; Hollingworth, R.M.; McGovren, J.P.; Hu, Y.H.; McLaughlin, J.L. Mode of action of bullatacin: A potent antitumor and pesticidal annonaceous acetogenin. **Life Science**, v. 53, n. 14, p. 1113-1120. 1993.
[https://doi.org/10.1016/0024-3205\(93\)90547-G](https://doi.org/10.1016/0024-3205(93)90547-G)

Albuquerque, B.W.P. “Revisão Taxonômica das Rutaceae do estado do Amazonas”. **Acta Amazônica**, v. 6, n. 3, p. 5-67, 1976. <https://doi.org/10.1590/1809-43921976063s005>

Albuquerque, C.H.de; Tavares, J.F.; Oliveira, S.L. De; Silva, T.S.; Gonçalves, G.F.; Costa, V.C. de O.; Agra, M. de F.; Pessôa, H. de L.F.; Silva, M.S. da. Flavonoid Glycosides from *Erythroxylum pulchrum* A. St.-Hil. (Erythroxylaceae). **Química Nova**, v. 37, n. 4, p. 663-666, 2014. <https://doi.org/10.5935/0100-4042.20140104>

Almeida, R.N.A.; Penaflor, M.F.G.V.; Simote, S., Bueno, O.C.; Hebling, M.J.A.; Pagnocca, F.C.; Fernandes, J.B.; Vieira, P.C.; Da Silva, M.F.G.F. Toxicity of substances isolated from *Helietta puberula* RE Fr. (Rutaceae) to the leafcutting ant *Atta sexdens* L. (Hymenoptera: Formicidae) and the symbiotic fungus *Leucoagaricus gongylophorus* (Singer) Moller. **BioAssay**, v. 2, p. 1-8. 2007.
<https://doi.org/10.14295/BA.v2.0.53>

Alonso, E.C.; Santos, D.Y. *Ricinus communis* and *Jatropha curcas* (Euphorbiaceae) seed oil toxicity against *Atta sexdens rubropilosa* (Hymenoptera: Formicidae). **Journal of Economic Entomology**, v. 106, p. 742-746, 2013. <https://doi.org/10.1603/EC12035>

Amante, E. Preliminary observations on the swarming behaviour of the leaf-cutting ant, *Atta capiguara* (Hymenoptera: Formicidae). **Journal of the Georgia Entomological Society**, v.7, p.82-3, 1972.

Ambrozin, A.R.P. **Estudo fitoquímico de plantas das famílias Rutaceae e Meliaceae visando o isolamento de substâncias protótipos para o desenvolvimento de novos fármacos antichagásicos e antileishmanioses**. 2004. 261p. Tese (Doutorado em Ciências Exatas e da Terra)-Universidade Federal de São Carlos, São Carlos, SP.

Andrade, A.P.P.; Forti, L.C.; Moreira, A.A.; Boaretto, M.A.C.; Ramos, V.M.; Mattos, C.A.O. Behavior of *Atta sexdens rubropilosa* (Hymenoptera: Formicidae) workers during the preparation of the leaf substrate for symbiont fungus culture. **Sociobiology**, v. 40, p. 293-306, 2002.

Aubad-Lopez, P. **Plantas usadas por las comunidades indígenas Ticunadel PNN Amacayacu para el control de la hormiga cortadora: evaluacion biologica y busqueda de metabolitos secundarios**. 2010. 241p. Tese (Doutorado em química)..

Escola de Química. Universidade Nacional de Colombia. Medellín, Colombia.
<http://www.bdigital.unal.edu.co/1881/1/43250383.2010.pdf>

Baetas, A.C.S.; Arruda, M.S.P.; Müller, A.H.; Arruda, A.C. Coumarins and Alkaloids from the Stems of *Metrodorea flavida*. **Journal of The Brazilian Chemical Society**, v. 10, n. 3, p. 181-183, 1999. <https://doi.org/10.1590/S0103-50531999000300004>

Baetas, A.C.S.; Arruda, M.S.P.; Müller, A.H.; Arruda, A.C. Coumarins from *Metrodorea Flavida*. **Phytochemistry**, v. 43, n.2, p. 491-493, 1996.
[https://doi.org/10.1016/0031-9422\(96\)00232-4](https://doi.org/10.1016/0031-9422(96)00232-4)

Barbielini, A. A saúva e o gergelim. **Chácaras e Quintais**, v. 33, n. 6, p. 532-1926, 1926.

Barbosa, C.C.; Silva, F.D.; Santos, A.M.; Vaz, M.R.F.; Nóbrega, F.F.F. Aspectos gerais e propriedades farmacológicas do gênero *Erythroxylum*. **Revista Saúde e Ciência**, v.3, n. 3, p. 207-216, 2014. <https://doi.org/10.35572/rsc.v3i3.325>

Barreto, U.P. Ainda o gergelim como saúvicida. **Chacaras e Quintais**, v. 47, n. 3, p. 252, 1930.

Barreto, U.P. O gergelim e a saúva. **Chacaras e Quintais**, v. 54, n. 3, p. 338-339, 1936.

Barros, I.M. de C.; Leite, B.H.M.; Leite, C.F.M.; Fagg, C.W.; Gomes, S.M.; Resck, I.S.; Fonseca-Bazzo, Y.M.; Magalhães, P.O.; Silveira, D. Chemical composition and antioxidant activity of extracts from *Erythroxylum suberosum* A.St. Hil. Leaves. **Journal of Applied Pharmaceutical Science**, v. 7, n. 3, p. 88-94, 2017.
<https://doi.org/10.7324/JAPS.2017.70314>

Bass, M.; Cherrett, J.M. Fungal hyphae as a source of nutrients for the leafcutting ant *Atta sexdens*. **Physiological Entomological**, v. 20, p. 1-6. 1995.
<https://doi.org/10.1111/j.1365-3032.1995.tb00793.x>

Benjamini, Y.; Hochberg, Y. "Controlling the false discovery rate: a practical and powerful approach to multiple testing". **Journal of the Royal Statistical Society, Series B**, v. 57, n. 1, p. 289-300, 1995. <https://doi.org/10.1111/j.2517-6161.1995.tb02031.x>

Betella, G. **Efeitos de extratos vegetais e óleo de gergelim (*Sesamum indicum*) sobre operárias de *Atta sexdens rubropilosa* Forel, (Hymenoptera; Formicidae)**. 1990. 30f. Monografia (Trabalho de Conclusão de Curso) Universidade Estadual Paulista. Rio Claro, SP.

Biavatti, M.W.; Westerlon, R.; Viera, P. C.; Silva, M.F.G.F.; Fernandes, J.B.; Penafior, F. G.V.; Bueno, O.C.; Ellena, J. Leaf-cutting antstoxity of limonexic acid and degraded limonoids from *Raulinoa echinata* X-ray structure of epoxy-fraxinellone. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, v. 16, n. 6, p. 1-8, 2005.
<https://doi.org/10.1590/s0103-50532005000800025>

- Bigi, M.F.M.; Torkomian, V.L.; De Groote, S.T.; Hebling, M.J.A.; Bueno, O.C.; Pagnocca, F.C.; Da Silva, M.F.G. Activity of *Ricinus communis* (Euphorbiaceae) and ricinine against the leaf cutting ant *Atta sexdens rubropilosa* (Hymenoptera: Formicidae) and the symbiotic fungus *Leucoagaricus gongylophorus*. **Pest Management Science**, v. 60, n. 9, p. 933-938, 2004. <https://doi.org/10.1002/ps.892>
- Bigi, M.F.; Hebling, M.J.; Bueno, O.C.; Pagnocca, F.C.; Fernandes, J.B.; Silva, O.A.; Viera, P.C. Toxicidade de extratos foliares de *Ricinus communis* L. para operarias de *Atta sexdens rubropilosa* Forel, 1908 (Hymenoptera, Formicidae). **Revista Brasileira de Entomologia**. v.41, n.1-2, p.239-243, 1998.
- Bion, R. Na contra-mão: o Brasil ainda utiliza o agrotóxico Sulfloramida. **Revista UFSC Ciência**, v. 1, n. 3, p. 33-36, 2019.
- Bloomquis, J.F.; Boina, D.R.; Chow, E.; Carlier, P.R.; Reina, M.; Gonzalez-Coloma A. Mode of action of the plant derived silphinenes on insect and mammalian GABA receptor/chloride channel complex. **Pesticide Biochemistry and Physiology**, v. 91, p. 17-23, 2008. <https://doi.org/10.1016/j.pestbp.2007.12.002>
- Borges, A. Ainda o gergelim e as saúvas. **Chácaras e Quintais**, v. 33, n. 6, p. 538-539, 1926.
- Boulogne, I.; Germosen-Robineau, L.; Ozier-Lafontaine, H.; Jacoby-Koaly, C.; Aurelad, L.; Loranger-Merciris, G. *Acromyrmex octospinosus* (Hymenoptera: Formicidae) management. Part 1: Effects of Tramil's insecticidal plant extracts. **Pest Management Science**, v. 68, n. 2, p. 313-320, 2012. <https://doi.org/10.1002/ps.2267>
- Britto, J.S.; Forti, L.C.; Oliveira M.A.; Zanetti, R.; Wilcken, C.F; Zanuncio, J.C.; Loeck, A.E.; Caldato, N.; Nagamoto, N.S.; Lemes, P.G.; Camargo, R.S. Use of alternatives to PFOS, its salts and PFOSF for the control of leaf-cutting ants *Atta* and *Acromyrmex*. **International Journal of Research in Environmental Studies**, v. 3, n. 2, p. 11-92. 2016. <https://doi.org/10.1080/09670874.2019.1657201>
- Bueno F.C.; Forti L.C.; Bueno O.C.; Reis I.C. Piriproxifen no controle de *Atta sexdens rubropilosa* (Hymenoptera: formicaidae). **XVII Simpósio de Mirmecologia-Biodiversidade e Biocondição**, Campo Grande-MS, 2005.
- Bueno, I. **Dinâmica do crescimento do fungo simbiote e estruturação de castas em formigas-cortadeiras (Hymenoptera: Formicidae: Atta)**. 2020. 51p. Dissertação (Mestrado em Ciências), Universidade de São Paulo, SP.
- Bueno, O.C.; Hebling, M.J.A.; Silva, O.A.; Matenhauer, A.M.C. “Efect of sesame (*Sesamum indicum*) on nest development of *Atta sexdens rubropilosa* (Hymenoptera: Formicidae)”. **Journal of Applied Entomology**, v.119, p.341-43, 1995.
- Bueno, O.C. Toxic effect of plants on leaf-cutting ants and their symbiotic fungus. In: Vander Meer, R.K.; Jaffé, K.; Cedeno, A. (eds). **Applied Myrmecology: a world perspective**. Bolder, San Francisco & Oxford: Westview Press, 1990, p. 420-426.

Bueno, O.C.; Bueno, F.C.; Brochini, J.; Sinhori, K.; Morini, M.S.C.; Hebling, M.A.; Fernandes, J.B. Activity of sesame extracts to the leaf-cutting ant *Atta sexdens rubropilosa* (Hymenoptera: Formicidae). **Sociobiology**, v. 44, p. 511-518. 2004. <https://doi.org/10.1590/S0301-80591998000300010>

Bueno, O.C.; Morini, M.S.C.; Pagnocca, F.C.; Hebling, M.J.A.; Silva, O.A. Sobrevivência de operárias de *Atta sexdens rubropilosa* Forel (Hymenoptera: Formicidae) isoladas do formigueiro e alimentadas com dietas artificiais. **Anais da Sociedade Entomológica do Brasil**, v.26, n.1, p. 107-13. 1997. <https://doi.org/10.1590/S0301-80591997000100015>

Buteler, M.; Alma, A.M.; Herrera, M.L.; Gorosito, N.B.; Fernández, P.C. Novel organic repellent for leaf-cutting ants: tea tree oil and its potential use as a management tool. **International Journal of Pest Management**, v. 67, n. 1, p. 1-9, 2021. <https://doi.org/10.1080/09670874.2019.1657201>

Caffarini, P.; Carrizo, P.; Pelicano, A.; Roggero, P.; Pacheco, J. Efectos de extractos acetónicos y acuosos de *Ricinus communis* (ricino), *Melia azedarach* (paraíso) y *Trichillia glauca* (Trichillia), sobre la hormiga negra común (*Acromyrmex lundii*). **Idesia**, v. 26, n. 1, p. 59-64. 2008. <http://dx.doi.org/10.4067/S0718-34292008000100008>

Camargo, R.D.S.; Puccini, C.; Forti, L.C., De Matos, C.A.O. Allogrooming, self-grooming, and touching behavior: contamination routes of leaf-cutting ant workers using a fat-soluble tracer dye. **Insects**, v. 8, n. 2, p. 59, 2017. <https://doi.org/10.3390/insects8020059>

Castano K.J. **Evaluacion de extractos de boton de oro *Tithonia diversifolia* (Asteracea) sobre obreras de lahormiga cortadora de hojas *Atta cephalotes* (Hymenoptera: Myrmicinae)**. 2009. 99p. (Undergraduate final report). Universidad del Valle, Colombia.

Castaño-Quintana, K.; Montoya-Lerma, J.; Giraldo-Echiverri, C. Toxicity of foliage extracts of *Tithonia diversifolia* (Asteraceae) on *Atta cephalotes* (Hymenoptera: Myrmicinae) workers. **Industrial Crops Products**, v. 44, p. 391-395, 2013. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2012.11.039>

Catalani, G.C.; Camargo, R.S.; Mota Filho, T.M.M.; Andrade Sousa, K.K.; Matos, C.A.O.; Caldato, N.; Zanuncio, J.C.; Forti, L.C. To exchange or not to exchange liquid food: is that the question for foraging leaf cutting ant workers?. **Entomologia Experimentalis et Applicata**, v. 170, n. 3, p. 260-267, 2022. <https://doi.org/10.1111/eea.13133>

Catalani, G.C.; Camargo, R.S.; Sousa, K.K.A.; Caldato, N.; Silva, A.A.C.; Forti, L.C. Fat-Soluble Substance Flow During Symbiotic Fungus Cultivation by Leaf-Cutter Ants. **Neotropical Entomology**, v. 49, n. 1, p. 116-123, 2020. <https://doi.org/10.1007/s13744-019-00718-0>

Catalani, G.C.; Sousa, K.K.; Camargo, R.S.; Caldato, N.; Matos, C.A.O.; Forti, L.C. Chemical control of leaf-cutting ants: how do workers disperse toxic bait fragments

onto fungus garden? **Revista Brasileira de Entomologia**, v. 63, n. 4, p. 290-295, 2019. <https://doi.org/10.1016/j.rbe.2019.09.004>

Cherrett, J.M. Chemical control and bait formulations for leaf-cutting ants. In: Lofgren, C.S.; Vander Meer, R.K.(Eds) **Fire ants and leaf-cutting ants**. Colorado, Westview Press, 1986, p. 357-68.

Cherrett, J.M. The foraging behaviour of *Atta cephalotes* (L.) (Hymenoptera, Formicidae). I. Foraging pattern and plant species attacked in tropical rain forest. **Journal of Animal Ecology**, v. 37, p. 387-403, 1968. <https://doi.org/10.2307/2955>

Cortez, L.E.R. **Estudo Fitoquímico de *Conchocarpus gaudichaudianus* subsp. *bahiensis* e *Almeidea coerulea*. A busca de Compostos Biologicamente Ativos**. 2002. 139p. Tese (Doutorado em Química), Universidade Federal de São Carlos. São Carlos, SP.

Costa, D.R. **Efeitos tóxicos e subletais de inseticidas e extratos botânicos em *Anastrepha obliqua* (Macquart) e *Diachasmimorpha longicaudata* (Ashmead)**. 2016. 125p. Dissertação (Mestrado em Agronomia). Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia. Vitória da Conquista, BA.

Costa, G.C.; Bueno, O.C.; Hebling, M.J.A.; Pagnocca, F.C.; Fernandes, J.B.; Vieira, P.C. Toxicidade de substâncias presentes no gergelim (*Sesamum indicum*) sobre *Atta sexdens* Forel (Hym., Formicidae). **Anais Mirmecologia Tropical**. Ilhéus, Universidade Estadual de Santa Cruz, p. 134. 1997.

Costa-Lima, J.L. da; Loiola, M.I.B.; Jardim, J.G. Erythroxylaceae no Rio Grande do Norte, Brasil. **Rodriguésia**, v. 65, n. 3, p. 659-671, 2014. <https://doi.org/10.1590/2175-78600201465306>

Da Silva, J.P.; de Souza, L.L.; de Melo, C.; Neto, S.; Barreira, S. Inseticidas botânicos no controle de formigas. **Desafios - Revista Interdisciplinar da Universidade Federal do Tocantins**, v. 7, n. 4, p. 163-171, 2020. <https://doi.org/10.20873/uftv7-6173>

Da Silva, M.F. das G.F.; Gottlieb, O.R.; Ehrendorfer, F. "Chemosystematics of the Rutaceae: suggestions for a more natural taxonomy and evolutionary interpretation of the family". **Plant Systematics and Evolution**, v. 16, n. 1-2, p. 97-134, 1988. <https://doi.org/10.1007/BF00937293>

Dahlgreen, R.M.T. "A revised system of classification of the Angiosperms". **Botanical Journal of the Linnean Society**, v. 80, n. 2, p. 91-124, 1980. <https://doi.org/10.1111/j.1095-8339.1980.tb01661.x>

Daly, D. Erythroxylaceae. In: Smith, N.; Mori, S.A.; Henderson, A.; Stevenson, D.W.; Heald, S. V.(Eds) **Flowering plants of the Neotropics**, Princeton University Press, New York, The New York Botanical Garden, 2004, p.143-145.

De Oliveira, B.M.S.; Melo, C.R.; Alves, P.B.; Santos, A.A.; Santos, A.C.C.; Santana, A.D.S.; Araújo, A.P.A.A.; Nascimento, P.E.S.; Em Branco, A.F.; Bacci, L. Essential oil of *Aristolochia trilobata*: synthesis, routes of exposure, acute toxicity, binary mixtures

and behavioral effects on leaf-cutting ants. **Molecules**, v. 22, n. 3, p. 335-352, 2017.
<https://doi.org/10.3390/molecules22030335>

Della Lucia, T.; Gandra L.C.; Guedes R.N. Managing leaf-cutting ants: peculiarities, trends and challenges. **Pest Management Science**, v. 70, n. 1, p. 14-23. 2014.
<https://doi.org/10.1002/ps.3660>

Della Lucia, T.M.C. (ed.). **As formigas cortadeiras**. Viçosa, MG. Editora UFV. 1993, 262p.

Della Lucia, T.M.C. (ed.). **Formigas cortadeiras: da bioecologia ao manejo**. Viçosa, MG. Editora UFV, 2011. 419p.

Della Lucia, T.M.C.; Vilela, E.F. Métodos atuais de controle e perspectivas. In: Della Lúcia, T.M.C. (ed). **As formigas cortadeiras**. Viçosa, MG. Editora Folha de Viçosa, 1993, p. 163-190.

Della Lucia, T.M.C.; Fowler, H.G. **As Formigas Cortadeiras**. In.: Della Lucia, T.M.C. (Ed.). **As formigas cortadeiras**. Viçosa, Editora Folha de Viçosa, 1993.p. 1-3.

Diniz, E.A.; Bueno, O.C. Substrate preparation behaviors for the cultivation of the symbiotic fungus in leaf-cutting ants of the genus *Atta* (Hymenoptera: Formicidae). **Sociobiology**, v. 53, n. 3, p. 651-666, 2009.

Escobar R.; Cossio F.G.; Renteria N.Y.; Neita J.C. **Manejo y control de hormiga arriera (*Atta* spp. and *Acromyrmex* spp.) en sistemas de producción de importância economicab em el departamento de Choco 2000–2002**. 2002a. 28p. Universidad Tecnologica del Choco. Quibdó, Colombia. Available from: http://www.agronet.gov.co/www/docs_si2/200611

Escobar, R.; García, F.; Rentería, N.Y.; Neita, J.C. Manejo y control de hormiga arriera (*Atta* spp. y *Acromyrmex* spp.) en sistemas de producción de importancia económica en el departamento del Chocó, Quibdó. **Cartilla**, v. 2, p. 22, 2002b.

Etheridge, P.; Phillips, F.T. Laboratory evaluation of new insecticides and bait matrices for the control of leaf-cutting ants (Hymenoptera, Formicidae). **Bulletin of Entomological Research**, v. 66, p. 569-78, 1976.
<https://doi.org/10.1017/S0007485300010671>

Fernandes, J.B.; Vieira, P.C.; Silva, M.F.G.F.; Groote, S.C.T.S.; Acácio-Bigi, M.F.M.; Hebling, M.J.A.; Bueno, O.C.; Pagnocca, F.C.; Silva, O.A. A utilização de produtos naturais oriundos da mamona no controle de formigas cortadeiras. **Anais Mirmecologia Tropical**. Ilhéus: Universidade Estadual de Santa Cruz, p.127, 1997.

Forti L.C.; Boaretto M.A.C. Formigas cortadeiras: Biologia, ecologia, danos e controle. Botucatu: Departamento de Defesa Fitossanitária, Universidade Estadual Paulista. **Editora UNESP**, Botucatu, Brazil 1997. 61p.

Forti, L.C.; Della Lucia, T.M.C.; Yassu, W.K.; Bento, J.M.S.; Pinhão, M.A.S. Metodologias para experimentos com iscas granuladas para formigas cortadeiras. In: Della Lucia, T.M.C. (Eds.). **As Formigas Cortadeiras**. Viçosa: UFV. p.191-211, 1993.

Forti, L.C.; Pretto, D.R.; Nagamoto, N.S.; Padovani, C.R.; Camargo, R.S.; Andrade, A.P.P. Dispersal of the delayed action insecticide sulfluramid in colonies of the leaf-cutting ant *Atta sexdens rubropilosa* (Hymenoptera: Formicidae). **Sociobiology**, v. 50, n. 3, p. 1149-1164. 2007.

Forti, L.C.; Camargo, R.S.; Andrade, A.P.P.; Catalani, G.C.; Sousa, K.K.A.; Silva, A.A.C.; Ramos, V.M. Contamination route of leaf-cutting worker ants analyzed through a fat-soluble tracer dye in toxic bait. **Neotropical entomology**. v. 48, n. 2, p. 349-355, 2019. <https://doi.org/10.1007/s13744-018-0652-1>

Gandra, L.C.; Amaral, K.D.; Couceiro, J.C.; Della Lucia, T.M.; Guedes, R.N. Mechanism of leaf cutting ant colony suppression by fipronil used in attractive toxic baits. **Pest Management Science**, v. 72, n. 8, p.1475-1481. 2016. <https://doi.org/10.1002/ps.4239>

Giolo, S.R.; Colosimo, E. Análise de sobrevivência aplicada. **Editora Blucher**. São Paulo, 2006. 114p.

Giraldo-Echeverri C. Efecto **Del boton de oro *Tithonia diversifolia* sobre La herbivoría de hormiga arriera *Atta cephalotes* em una plantacion de arboloco *Montana quadrangularis***. BSc Reseach Report. Universidad del Valle, Departamento de Biología, Cali, Colombia. 66p. 2005.

Gomes, M.C.A.R. **Toxicidade de extratos de espécies vegetais coletados na Bahia, Brasil, frente às formigas-cortadeiras e moscas-do-mediterrâneo**. 2014. 93f. Dissertação (Mestrado em Genética, Biodiversidade e Conservação). Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia. Jequié-BA.

Gomes, M.D.C.A.R.; De Paula, V.F.; Moreira, A.A.; Castellani, M.A.; Macedo, G.E.L.; Toxicity of plant extracts from Bahia, Brazil, to *Atta sexdens sexdens* workers (Hymenoptera: Formicidae). **Sociobiology**, v. 63, n. 2, p. 770-776, 2016. <https://doi.org/10.13102/sociobiology.v63i2.936>

Gonçalves, C.R. O gergelim no combate a saúva. **Boletim Fitossanitário**, v. 1, p. 19-27, 1944.

Gruber, A.K.; Valdix, J.K. Control de *Atta* spp. con prácticas agrícolas e insecticidas botánicos. **Manejo integrado de plagas y agroecología**, v. 67, p. 87-90. 2003.

Grundy, D.L.; Still C. Inhibition of acethylcholinesterases by pilegone-1,2-epoxid. **Pesticide Biochemistry and Physiology**, v. 23, p. 383-388. 1985. [https://doi.org/10.1016/0048-3575\(85\)90100-2](https://doi.org/10.1016/0048-3575(85)90100-2)

Hansen, K.; Adsersen, A.; Smiti, U.W.; Nyman, U.; Christensen, S.B.; Schwartner, C.; Wagner, H. Angiotensin Converting Enzyme (Ace) Inhibitory Flavonoids From

Erythroxylum laurifolium. **Phytomedicine**, v. 2, n. 4, p. 313-317, 1996.
[https://doi.org/10.1016/s0944-7113\(96\)80075-4](https://doi.org/10.1016/s0944-7113(96)80075-4)

Hebling, M.J.A.; Maroti, P.S.; Bueno, O. C. (1996). Toxic effects of leaves of *Ricinus communis* (Euphorbiaceae) to laboratory nests of *Atta sexdens rubropilosa* (Hymenoptera: Formicidae). **Bulletin of Entomological Research**, v. 86, n. 3, p. 253-256, 1996. <https://doi.org/10.1017/S0007485300052536>

Hebling, M.J.A.; Bueno, O.C.; Almeida R.E.; Silva O.A.; Pagnocca F.C. Influência do tratamento com folhas de *Sesamum indicum* sobre o metabolismo de *Atta sexdens rubropilosa* Forel, 1908 (Hymenoptera, Formicidae). **Anais da sociedade entomológica do Brasil**. v. 20, n. 1, p. 27-33, 1991.

Hebling, M.J.A.; Bueno, O.C.; Pagnocca, F.C.; Silva O.A.; Maroti P.S. Toxic effects of *Canavalia ensiformis* L. (Leguminosae) on laboratory colonies of *Atta sexdens* L. (Hym., Formicidae). **Journal of Applied Entomology**, v. 124, n.1, p. 33-35. 2000a. <https://doi.org/10.1046/j.1439-0418.2000.00424.x>

Hebling, M.J.A.; Bueno, O.C.; Pagnocca, F.C.; Silva, O.A.; Maroti, P.S. Effects of *Ipomoea batata*s (Convolvulaceae) on nest development and on respiratory metabolism of leaf-cutting ants *Atta sexdens* L. (Hym, Formicidae). **Journal of Applied Entomology**, v. 124, n. 5-6, p. 249-252, 2000b. <https://doi.org/10.1046/j.1439-0418.2000.00471.x>

Hebling-Beraldo, M.J.A.; Bueno, O.C.; Silva, O.A.; Pagnocca, F.C.; Fernandes, J.B.; Vieira, P.C. Efeitos do gergelim no crescimento de saúveiros iniciais de *Atta sexdens rubropilosa* Forel (1908). **Congresso Brasileiro de Entomologia**, v 6, p. 167, 1984.

Hebling-Beraldo, M.J.A., Bueno, O.C., Silva, O.A., Pagnocca, F.C. Efeitos do gergelim no crescimento de saúveiros iniciais de *Atta sexdens rubropilosa* Forel, 1908. **Boletim GTFC - Grupo de Trabalho Formigas Cortadeiras**, v.3, p.7-8, 1986.

Hebling-Beraldo, M.J.A.; Bueno, O.C.; Silva, O.A.; Pagnocca, F.C.; Ernandes, J.B.; Vieira, P.C. Effects of sesame (*Sesamum indicum* L.) on the development of leaf cutting. ant nests *Atta sexdens rubropilosa*, Forel, 1908, Hymenoptera, In: **International Symposium on Insect Physiology, Biochemistry and Control**. Rio de Janeiro, Resumos, p.14, 1987.

Herz Schultz, T.R.; Brady, S.G. Major evolutionary transitions in ant agriculture.. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 105, n. 14, p. 5435-5440. 2008. <https://doi.org/10.1073/pnas.0711024105>

Herrera, E.E. **Desarrollo de una formulacion granular base para el control biologico de las hormigas forrajeras (*Atta* spp.)**. 2009. 73p. Dissertação (Mestrado em Agricultura Ecológica). Centro Agronomico Tropical de Investigacion y Ensenanza – CATIE, Turrialba, Costa Rica.

Howard, J.J.; Cazin, J.; Wiemer, D.F. Toxicidade de inibidores terpenóides para a formiga cortadeira *Atta cephalotes* e seu fungo mutualista. **Journal of Chemical Ecology**, v. 14, n. 1, p. 59-69, 1988. <https://doi.org/10.1007/BF01022531>

Jacobson, M. **Botanical pesticides past, present and future**. In: Arnason, J.T., Philogène, J.R., Morand, P. (eds). Insecticides of plant origin. Washington, American Chemical Society, 1989, p. 1-10.

Kaastra, R.C. Pilocarpinae (Rutaceae). **Flora Neotropica**, v.33, n. 13, p. 1-197, 1982.

Kaplan, E.L.; Meier, P. Nonparametric estimation from incomplete observations. **Journal of the American Statistical Association**, v. 53, n. 282, p. 457-481, 1958. <https://doi.org/10.2307/2281868>

Kitamura, A.E.; Hebling, M.J.A.; Takashi-Del-Bianco, M.; Bueno, O.C.; Pagnocca, F.C.; Bacci Junior, M.; Fernandes, J.B.; Vieira, P.C. Determinação da toxicidade da ricinina para operárias de *Atta sexdens* L. (Hymenoptera: Formicidae), em Laboratório. **Naturalia**, v. 24, p. 307-309. 1999.

Leite, A.C.; Oliveira, C.G.; Godoy, M.P.; Bueno, M.C.; Santos Oliveira, M.F.S.; Forim, M. R.; Fernandes, J.B.; Vieira, P.C.; Da Silva, M.F.G.F.; Bueno, O.C. Toxicity of *Cipadessa fruticosa* to the leafcutting ant *Atta sexdens rubropilosa* (Hymenoptera: Formicidae) and their symbiotic fungus. **Sociobiology**, v. 46, p. 17-26, 2005.

Leite, A.C. **Estudo químico de *Sesamum indicum* e *Ricinus communis* relacionado ao controle de formigas cortadeiras**. 2000. 92p. Dissertação (Mestrado em química) Universidade Federal de São Carlos, São Carlos, SP.

Leite, C.F.M.; Leite, B.H.M.; Barros, I.M.C.; Gomes, S.M.; Fagg, C.W.; Simeoni, L.A.; Silveira, D.; Fonseca, Y. M. Determination of Rutin in *Erythroxylum suberosum* Extract by Liquid Chromatography: Applicability In Standardization of Herbs and Stability Studies. **Boletín Latinoamericano y Del Caribe de Plantas Medicinales y Aromáticas**, v. 13, n. 2, p. 135-143, 2014.

Loeck, A.E.; Nakano, O. Efeito de novas substâncias visando o controle de saúveiros novos de *Atta laevigata* (Smith, 1858) (Hymenoptera-Formicidae). **Solo**, v. 1, p. 25-30, 1984.

Lofgren, C.S.; Stringer, C.E.; Banks, W.A.; Bishop, P.M. Laboratory tests with candidate bait toxicants against the imported fire ant. **ARS** 81, p. 14, 1967. <https://doi.org/10.2307/3493241>

Lofgren, C.S.; Stringer, C.E.; Bartlett, F.J. Imported fire ant toxic bait studies: GC-1283, a promising toxicant. **Journal of Economic Entomology**, v. 55, n. 3, p. 405-407, 1962. <https://doi.org/10.1093/jee/55.3.405>

Loiola, M.I.B.; Cordeiro, L.S. Check-list das Erythroxylaceae no estado de Mato Grosso do Sul, Brasil. **Iheringia, Série Botânica**, v. 73, p. 201-206, 2018. <https://doi.org/10.21826/2446-8231201873s201>

Loiola, M.I.B.; Costa-Lima, J.L. 2015b. Erythroxylaceae in Lista de Espécies da Flora do Brasil. **Jardim Botânico do Rio de Janeiro**. Disponível em: <http://floradobrasil.jbrj.gov.br/jabot/floradobrasil/FB7727>. Acesso em: 18 Fev. 2022.

Lucas-Filho, M.D.; Silva, G.C.; Cortes, S.F.; Mares-Guia, T.R.; Ferraz, V.; Perpétua Serra, C.P.; Braga, F.C. Ace Inhibition By Astilbin Isolated From *Erythroxylum gonocladum* (Mart.) O.E. Schulz. **Phytomedicine**, v. 17, n. 5, p. 383- 387, 2010. <https://doi.org/10.1016/j.phymed.2009.09.008>

Lv, Y.; Tian, T.; Wang, Y.J.; Huang, J.P.; Huang, S.X. Advances in chemistry and bioactivity of the genus *Erythroxylum*. **Natural Products and Bioprospecting**, v. 12, n. 15, p. 1-20, 2022. <https://doi.org/10.1007/s13659-022-00338-z>

Mafezoli, J. **Atividade Tripanocida e Antimicrobiana de Plantas da Família Rutaceae**. 2001. 240p. Tese (Doutorado em química. Programa de Pós-Graduação em Química. Universidade Federal de São Carlos. São Carlos, SP.

Manabe, H.; Sakagami, H.; Ishizone, H.; Kusano, H.; Fujimaki, M.; Wada, C.; Komatsu, N.; Nakashima, H.; Murakami, T.; Yamamoto, N. Effects of Catuaba Extracts on Microbial and Hiv Infection. **In Vivo**, v. 6, n. 2, p. 161-165, 1992.

Mariconi, F.A.M. As Saúvas. São Paulo: **Agronômica Ceres**. p. 1-167, 1970.

Marinho, C.G.S.; Della Lucia, T.M.C.; Guedes, R.N.C.; Ribeiro, M.M.R.; Lima, E.R. β -eudesmol-induced aggression in the leaf-cutting ant *Atta sexdens rubropilosa*. **Entomologia Experimentalis et Applicata**, v. 117, p. 89-93, 2005. <https://doi.org/10.1111/j.1570-7458.2005.00338.x>

Martin, M.M. The biochemical basis of the fungus-attine ant symbiosis. **Science**, v.169, p.16-20, 1970. <https://doi.org/10.1126/science.169.3940.16>

Mapa-Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Instrução normativa nº. 42**. Diário Oficial da República Federativa do Brasil, Brasília, 5 dez. Seção 1, p. 4-5, 2011.

Mester, I. (Eds.). “Structural diversity and distribution of alkaloids in the Rutales”. In: Chemistry and Chemical Taxonomy of the Rutales. Nova Iorque, **Academic Press**, p. 31-96. 1983.

Miyashira, C.H.; Tanigushi, D.G.; Gugliotta, A.M.; Santos, D.Y.A.C. Influence of caffeine on the survival of leaf-cutting ants *Atta sexdens rubropilosa* and in vitro growth of their mutualistic fungus. **Pest Management Science**, v. 68, p. 935-940, 2012. <https://doi.org/10.1002/ps.3254>

Morini, M.S.O.; Bueno, F.C; Bueno, A.C.; Leite, M.J.A.; Hebling, F.C.; Pagnocca, Fernandes, J.B.; Vieira, P.C.; Silva, M.F.G.F. Toxicity of Sedame seed to Leaf-cutting Ant *Atta sexdens rubropilosa* (Hymenoptera: Formicidae). **Sociobiology**, v. 45, n. 1, p. 195-204, 2005.

Mullenax, C.H. Toe use of Jackbean (*Canavalia ensiformis*) as a biological control for leafcutting ants (*Atta* spp.). **Biotrófica**, v. 11, n. 4, p. 313-314, 1979.

- Müller, A.H.; Vieira, P.C.; Da Silva, M.F.G.; Fernandes, J.B. Dihydrochalcones, coumarins and alkaloids from *Metrodorea nigra*. **Phytochemistry**, v. 40, n. 6, p. 1797-1800, 1995. [https://doi.org/10.1016/0031-9422\(95\)00504-Z](https://doi.org/10.1016/0031-9422(95)00504-Z)
- Muller, A.K.; Westergaard, K.; Christensen, S.; Sorensen, S.J. The effect of long-term mercury pollution on the soil microbial community. **FEMS Microbiology Ecology**, v. 36, p. 11-19, 2001. <https://doi.org/10.1111/j.1574-6941.2001.tb00821.x>
- Nagamoto, N.S.; Forti, L.C.; Andrade, A.P.P.; Boaretto, M.A.C.; Wilcken, C.F. Method for the evaluation of insecticidal activity over time in *Atta sexdens rubropilosa* workers (Hymenoptera: Formicidae). **Sociobiology**, v. 44, n. 2, p. 413-432, 2004.
- Nasiruddin, M.; Mordue, A.J. El efecto azadiractina de la histología del intestino medio de las langostas, *Schistocerca gregaria* y *Locusta migratoria*. **Cell and Tissue Research**, v. 25, p. 875-884. 1993.
- Pagnocca, F.C.; Carreiro, S.C.; Bueno, O.C.; Hebling, M.J.; Da Silva, O.A. Microbiological changes in the nests of leaf-cutting ants fed on sesame leaves. **Journal of Applied Entomology**, v. 120, n. 5, p. 317-320, 1996a. <https://doi.org/10.1111/j.1439-0418.1996.tb01612.x>
- Pagnocca, F.C.; Ribeiro, S.B.; Torkomian, V.L.V.; Hebling, M.J.A., Bueno, O.C.; Da Silva, O.A.; Fernandes, J.B.; Vieira, P.C.; da Silva, M.F.G.F.; Ferreira, A.G. Toxicity of lignans to symbiotic fungus of leaf-cutting ants. **Journal of Chemical Ecology**, v. 22, p. 1325- 1330. 1996b. <https://doi.org/10.1007/BF02266969>
- Pagnocca, F.C.; Victor, S.R.; Bueno, F.C.; Crisostomo, F.R.; Castral, T.C.; Fernandes, J. B.; Correa, A.G.; Bueno, O.C.; Bacci, M.; Hebling, M.J.; Vieira, P.C.; Da Silva, M.F. G.F. Synthetic amides toxic to the leaf-cutting ant *Atta sexdens rubropilosa* L. and its symbiotic fungus. **Agricultural and Forest Entomology**, v. 8, p. 17-23, 2006. <https://doi.org/10.1111/j.1461-9555.2006.00278.x>
- Pagnocca, F.C.; Silva, O.A.; Hebling-Beraldo, M.J.; Bueno, O.C.; Fernandes, J.B.; Vieira, P.C. Toxicity of sesame extracts to the symbiotic fungus of leaf-cutting ants. **Bulletin of Entomological Research**, v. 80, p. 349-52, 1990. <https://doi.org/10.17/S0007485300050550>
- Palacios, F.; Gladstone, S. Eficacia Del farnesol y de um extracto de semilla de ayote como repelentes de *Atta mexicana*. **Manejo Integrado de Plagas y Agroecologia**, v. 68, p. 89-91, 2003.
- Peñaflor, M.F.G.V.; Almeida, R.N.A.; Simonete, S.Y.; Yamane, E.; Bueno, O.C.; Hebling, M.J.A.; Fernandes, J.B.; Vieira, P.P.C.; Da Silva, M.F.G.F.; Pagnocca, F.C. Toxicity of substances isolated from *Simarouba versicolor* St. Hil. (Simaroubaceae) to the Leaf-cutting ant *Atta sexdens* L. (Hymenoptera: Formicidae) and the symbiotic fungus *Leucoagaricus gongylophorus* (Singer) Möller. **BioAssay**, v. 4, n.1, p. 1-7, 2009. <https://doi.org/10.14295/BA.v4.0.24>

Pereira, J.R. "Métodos de controle de formigas cortadeiras em sistemas orgânicos de produção: uma revisão". **Revista Ambientale**, v. 13, n. 4, p. 10-24, 2021. <https://doi.org/10.48180/ambientale.v13i4.318>

Peres Filho, O.; Dorval, A. Efeito de formulações granuladas de diferentes produtos químicos e à base de folhas e de sementes de gergelim, *Sesamum indicum*, no controle de formigueiros de *Atta sexdens rubropilosa* Forel, 1908 (Hymenoptera: Formicidae). **Ciência Florestal**, v. 13, p. 67-70, 2003. <https://doi.org/10.5902/198050981743>

Peres Filho, O.; Dorval, A.; Berti Filho, E. Preferência de saúva limão, *Atta sexdens rubropilosa* Forel, 1908 (Hymenoptera, Formicidae) a diferentes espécies florestais, em condições de laboratório. **Ciência Florestal**, v.12, n.2, p.1-7. 2002. <https://doi.org/10.5902/198050981675>

Pernin, R.; Muyard, F.; Bévalot, F.; Tillequin, F.; Moretti, C. Coumarins From The Roots And Stem Bark of *Metrodorea flavida*. **Biochemical Systematics and Ecology**. v. 27, p. 531-533, 1999. [https://doi.org/10.1016/S0305-1978\(98\)00107-0](https://doi.org/10.1016/S0305-1978(98)00107-0)

Pinto, B.N.; Alvarenga, E.S.; Santos, A.R.; Oliveira, W.F.; de Paula, V.F.; Oliveira, M.N.; Andrea, N.D.L. Structural Elucidation by NMR Analysis Assisted by DFT Calculations of a Novel Natural Product from *Conchocarpus mastigophorus* (Rutaceae). **Asian Journal of Organic Chemistry**, v. 11, n. 6, p. 237-243, 2022. <https://doi.org/10.1002/ajoc.202200182>

Pirani, J.R.; Groppo, M.E.; Forzza, R.C.; Leitman, P.M.; Costa, A.; De Carvalho Jr, A.A.; Souza, V.C.(Ed). Em Catálogo de Espécies de Plantas e Fungos do Brasil. Forzza, RC, et al. **Jardim Botânico do Rio de Janeiro**, 2010, p. 592-1600.

Pombal, E.C.; Patrícia, L.; Morellato, C. Differentiation of floral color and odor in two fly pollinated species of *Metrodorea* (Rutaceae) from Brazil. **Plant Systematics and Evolution**, v. 221, n. 3, p. 141-156. 2000. <http://dx.doi.org/10.1007/BF01089290>

R Core Team (2020). R: **A language and environment for statistical computing**. R **Foundation for Statistical Computing**, Vienna, Austria. 2020. URL <https://www.R-project.org/>.

Rembold, H. The azadirachtins- potent insect growth inhibitors. **Memorias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 82, n. 111, p. 61-66, 1987. <https://doi.org/10.1590/S0074-02761987000700013>

Restrepo, D.A.; Saenz, E.; Jara-Muñoz, O.A.; Calixto-Botía, I.F.; Rodríguez-Suárez, S.; Zuleta, P.; D'Auria, J.C. *Erythroxylum* in focus: an interdisciplinary review of an overlooked genus. **Molecules**, v. 24, n. 20, p. 3788, 2019. <https://doi.org/10.3390/moléculas24203788>

Ribeiro, C.M.; Souza, K.G.D.S.; Ribeiro, T.A.C.; Vieira, A.B.R.; Mendonça, L.C.V.; Barbosa, W.L.R.; Vieira, J.M.D.S. Avaliação da atividade antimicrobiana de plantas utilizadas na medicina popular da Amazônia. **Infarma-Ciências Farmacêuticas**, v. 21, n. 1-2, p. 45-49. 2013.

Ribeiro, S.B.; Pagnocca, F.C.; Victor, S.R.; Bueno, O.C.; Hebling, M.J.; Bacci Jr.; M., Silva, M.F. Atividade de extratos de folhas de gergelim contra o fungo simbiótico de *Atta sexdens* L. **Anais da Sociedade Entomológica do Brasil**, v. 27, p. 421-426, 1998.

Ridley, P.; Howse, P.E.; Jackson, C.W. Control of the behaviour of leaf-cutting ants by their 'symbiotic' fungus. **Experientia (Basel)**, v.52, p.631-5, 1996.
<https://doi.org/10.1007/BF01969745>

Robinson, S.W. Leaf-cutting ant control schemes in Paraguay, 1961-1977. Some failures and some lessons. **International Journal of Pest Management**, v.25, n. 4, p.386-90, 1979. <https://doi.org/10.1080/09670877909414359>

Rodriguez J.; Calle Z.; Montoya-Lerma J. Herbivoria de *Atta cephalotes* (Hymenoptera: Myrmicinae) sobre tres sustratos vegetales. **Revista Colombiana Entomologia**, v. 34, p. 156-162, 2008. <https://doi.org/10.25100/socolen>

Ryan M.F.; Byrne O. Plant-insect coevolution and inhibition of acetylcholinesterase. **Journal of Chemical Ecology**, v. 14, p 1965-1975, 1988.
<https://doi.org/10.1007/BF01013489>

Santana, D.S. **Estudo químico e atividade leishmanicida de *Erythroxylum Plowmanii* Amaral (Erythroxylaceae)**. 2020. 84p. Dissertação (Mestrado em Química). Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia. Jequié, BA.

Santana, A.M.L. **Variabilidade na constituição química e toxicidade de extratos de *Metrodorea maracasana* Kaastra (Rutaceae), de espécimes coletados em fragmentos de mata de cipó no sudoeste da Bahia**. 2012. 94p. Dissertação (Mestrado em Genética, Biodiversidade e Conservação). Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia. Jequié, BA.

Santos, L.F. A saúva e o gergelim. **Chácaras e Quintais**, v. 32, n. 5, p. 440, 1925.

Saxena, R.C. Inseticidas form neem. In: Arnason, J.T., Philogene, B.J.R., Morano, P. (eds.), **Inseticidas of plant origin**. Washington, American Chemical Society, 1989, p. 110-135.

Schoereder J.H.; Silva H.M.M.; Carvalho A.F.; Muscardi D.C. Proposed lime stone treatment as pest control fails for the leaf-cutting ant *Atta sexdens rubropilosa*. **Crop Protection**, v. 42, p. 79-82, 2012. <https://doi.org/10.1016/j.cropro.2012.07.022>

Silva, R.R.; Silvestre, R.; Brandão, C.R.; Morini, M.S.; Delabie, J.H. (Eds). Grupos tróficos e guildas em formigas poneromorfas. **As formigas poneromorfas do Brasil. Ilhéus, BA, Brasil**. 2015, p. 163-179.

Silva Júnior, L.J.C.; Alves L.A., Silva, V.R.; Santos, L.S.; Bezerra, D.P.; Soares, M.B.P.; Doriguetto, A.C.; Barbosa, L.C.A.; Nascimento, J.C., Macedo, G.E.L.; Queiroz, R.F.; De Paula, V.F. A new tropane alkaloid and other metabolites from *Erythroxylum macrocalyx* (Erythroxylaceae) and their antiproliferative activities. **Phytochemistry Letters**, v. 41, p. 168–174, 2021.
<https://doi.org/10.1016/j.phytol.2020.11.019>

Simões, C. M. O.; Spitzer, V. Óleos voláteis. In: Simões, C. M. O.; Schenkel, E. P.; Gosmann, G.; Mello, J. C. P.; Mentz, L. A.; Petrovick, P. R. (5 eds) **Farmacognosia: da planta ao medicamento**. Porto Alegre, UFRGS, 2004, p. 467-495.

Sinhori, K.; Bueno, O.C.; Hebling, M.J.A.; Pagnocca, F.C.; Da Silva, O.A.; Bacci Jr., M.; Fernandes, J.B.; Vieira, P.C. Toxicidade de extratos foliares de *Sesamum indicum* para operárias de *Atta sexdens* (Hymenoptera: Formicidae). **Anais Mirmecologia Tropical**. Ilhéus, BA. Universidade Estadual de Santa Cruz, p. 131, 1997.

Sousa, K.K.A.; Camargo, R.S.; Caldato, N.; Forti, L.C. Effects of cycloheximide on the mortality of *Atta sexdens* leaf-cutting worker ants. **Revista Brasileira de Entomologia**, v. 62, n.3, p. 169-171, 2018. <https://doi.org/10.1016/j.rbe.2018.04.002>

Souza, M.S.; Peres Filho, O.; Dorival, A. Efeito de extratos naturais de folhas vegetais em *Leucoagaricus gongylophorus* (Moller) Singer, (Agaricales: Agaricaceae). **Ambiência**, v. 7, n. 3, p. 461-471, 2011. <https://doi.org/10.5777/ambiencia.2011.03.04>

Specht, A.; Diehl-Fleig, E.; Silva, M.E. Atratividade de iscas de *B. bassiana* (Bals) Vuill. a formiga do gênero *Acromyrmex* (Hymenoptera: Formicidae). **Anais da Sociedade Entomológica do Brasil**, v. 23, n. 1, p. 99-104, 1994.

Stringer, C.E.; Lofgren, C.S.; Bartley, F.J. Imported fire ant toxic studies: evaluation of toxicants. **Journal of Economic Entomology**, v. 57, n. 6, p. 941-945, 1964. <https://doi.org/10.1093/jee/57.6.941>

Sujimoto, F.R. **Polimorfismo e polietismo na comunicação química, comportamento de limpeza e trofalaxia em *Atta sexdens rubropilosa* (Hymenoptera: Formicidae)**. 2018. 92p. Tese (Doutorado em Entomologia), Universidade de São Paulo. Piracicaba, SP.

Swanson, A.C.; Schwendenmann, L.; Allen, M.F.; Aronson, E.L.; Artavia-Leon, A.; Dierick, D.; Fernandez-Bou, A.S.; Harmon, T.C.; Murillo-Cruz, C.; Oberbauer, S.F.; Pinto-Tomas, A.A.; Rundel, P.W.; Zelikova, T.J. Welcome to the *Atta* world: A framework for understanding the effects of leaf-cutter ants on ecosystem functions. **Functional Ecology**, v. 33, p. 1386-1399, 2019. <https://doi.org/10.1111/1365-2435.13319>

Takashi-Del-Bianco, M.; Hebling, M. J. A.; Bueno, O. C.; Pagnocca, F. C.; Silva, O. A.; Bacci Jr, M.; Fernandes, J. B.; Vieira, P. C. Toxicidade de subfrações de extrato orgânicos foliares de *Canavalia ensiformis* L. para operárias de *Atta sexdens* (Hymenoptera: Formicidae), em laboratório. **Anais de Mirmecologia Tropical**. p. 139, 1997.

Takahashi-del-bianco, M.; Hebling, M.J.A.; Bueno, O.C.; Pagnocca, F.C.; Bacci Jr.; M., Fernandes, J.B.; Vieira, P.C.; Ambrozini, A.R.P. Toxicidade de frações de subfrações de extratos orgânicos foliares de *Canavalia ensiformis* L. para operárias de *Atta sexdens* (Hymenoptera, Formicidae), em laboratório. **Anais do Congresso Brasileiro de Entomologia**. p.804, 1998.

Team, R.C.R. A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. 2021. URL <https://www.R-project.org/>.
Valderrama Eslava E. I.; Montoya Lerma J. Giraldo C. Enforced herbivory on *Canavalia ensiformis* and *Tithonia diversifolia* and its effects on leaf-cutting ants, *Atta cephalotes*. **Journal of Applied Entomology**, v. 133, p. 689-694, 2009.
<https://doi.org/10.1111/j.1439-0418.2009.01421.x>

Vander Meer, R.K.; Lofgren, C.S.; Williams, D.F. Fluoroaliphatic sulfones: a new class for delayed-action insecticides for control of *Solenopsis Invicta* (Hymenoptera: Formicidae). **Journal of Economic Entomology**, v. 78, n. 6, p. 1190-1197, 1985.
<https://doi.org/10.1093/jee/78.6.1190>

Varon, E.H. **Distribution and foraging by the leafcutting ant, *Atta cephalotes* L., in coffee plantations with different types of management and landscape contexts, and alternatives to insecticides for its control**. 2006. 130p. Thesis (Phd). Centro Agronomico Tropical de Investigacion y Ensenanza, Turrialba, Costa Rica.

Vasconcelos, H.L.; Fowler, H.G. Foraging and fungal substrate selection by leaf-cutting ants. In: Meer, R.K.V.; Jaffé, K.; Cedenó, A. (Ed.). **Applied Myrmecology: a world perspective**. San Francisco, Westview Press, 1990, p. 410-419.

Veloso, E.S. **Fitoquímica Comparada dos Gêneros *Angostura*, *Almeidea* e *Rauia* (Rutaceae)**. 1995. Universidade Federal de São Carlos. Tese (Doutorado em química). São Carlos, SP.

Vieira, P.C.; Kubo, I.; Kujime, H.; Yamagiwa, Y.; Kamikawa, T. "Molluscicidal acridone alkaloids from *Angostura paniculata*: isolation, structures, and synthesis". **Journal of Natural Products**, v. 55, n. 8, p. 1112-1117, 1992.
<https://doi.org/10.1021/np50086a012>

Villa, L.G.; Hebling, M.J.A.; Bueno, O.C.; Pagnocca, F.C.; Bacci Jr., M.; Fernandes, J.B.; Vieira, P.C. Estudo dos efeitos tóxicos das subfrações de extratos orgânicos foliares de *Ipomoea batatas*, em operárias de *Atta sexdens* (Hymenoptera, Formicidae). **Anais do Congresso Brasileiro de Entomologia**. v 1, p.80, 1998.

Waterman, P.G. "Alkaloids of the Rutaceae: their distribution and systematic significance". **Biochemical Systematics and Ecology**, v. 3, n. 3, p. 149-180, 1975.
[https://doi.org/10.1016/0305-1978\(75\)90019-8](https://doi.org/10.1016/0305-1978(75)90019-8)