

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

FUNGICIDAS COMERCIAIS E TIMOL PODEM APRESENTAR
TOXICIDADE ÀS OPERÁRIAS DE *Atta laevigata*
(HYMENOPTERA: FORMICIDAE)?

ANA CAROLINA PLÁCIDO CARDOSO

VITÓRIA DA CONQUISTA
BAHIA- BRASIL

2025

ANA CAROLINA PLÁCIDO CARDOSO

**FUNGICIDAS COMERCIAIS E TIMOL PODEM APRESENTAR
TOXICIDADE ÀS OPERÁRIAS DE *Atta laevigata* (HYMENOPTERA:
FORMICIDAE)?**

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. Maria Aparecida Castellani

VITÓRIA DA CONQUISTA
BAHIA – BRASIL
2025

C26f

Cardoso, Ana Carolina Plácido.

Fungicidas comerciais e timol podem apresentar toxicidade às operárias de *Atta laevigata* (hymenoptera: formicidae)? / Ana Carolina Plácido Cardoso,

2025.

49f. : il. color.

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

Dissertação (mestrado) – Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia,
Programa

de Pós-Graduação em Agronomia, Área de concentração em Fitotecnia.
Vitória da Conquista, 2025.

Inclui referência F. 47 – 48

1. *Attini*. 2. Formigas-cortadeiras. 3. Controle químico. 4.
Agrossistema. 5. Ação



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: “FUNGICIDAS COMERCIAIS E TIMOL PODEM APRESENTAR TOXICIDADE ÀS OPERÁRIAS DE *Atta laevigata* (HYMENOPTERA: FORMICIDAE)?”

AUTOR (A): Ana Carolina Plácido Cardoso

Aprovada 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. (UESB)

Maria Aparecida Castellani, D.Sc. (UESB)

Carlos Albereto de Oliveira de Matos, D.Sc. (UNESP/Itapeva)

Aline Silva, D.Sc. (UESC)

Data de realização: 31 de janeiro de 2025.

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

DEDICO à minha amada mãe, Ana Cláudia Plácido Santos; e ao meu querido pai, Marcelo Cardoso de Oliveira, que sempre acreditaram em mim, que me ensinaram a lutar pelos meus sonhos e a ser resiliente diante das dificuldades da vida. Este trabalho é, em grande parte, fruto da dedicação e apoio incondicional que sempre me deram. Obrigada por me orientarem com sabedoria, por me darem força, quando o caminho parecia árduo e, principalmente, por me amarem de maneira única e verdadeira. À minha tia preciosa, Cremildes Campos (*in memoriam*), por ter me coberto com orações, cuidados e palavras de incentivo durante toda a minha trajetória. Obrigada por ser um exemplo de fé inabalável!

Vocês são a minha base, minha inspiração, e tudo o que sou e conquistei tem um pedaço de cada um de vocês. Esta vitória é nossa. Amo vocês!

AGRADECIMENTOS

A Deus, por ser a razão de tudo e estar comigo nas lutas que mais ninguém via ou sabia. Esta dissertação é fruto de uma promessa. Obrigada por sempre estar comigo, Pai.

Ao meus pais, mais uma vez, por serem a minha base e me proporcionarem desde sempre o privilégio de estudar e ter uma boa vida.

À minha irmã, Amanda Plácido, por acreditar no meu potencial e sempre me apresentar com palavras de incentivo. Te amo!

À toda a minha família, por todas as orações e por apoiarem meus estudos, em especial, à minha tia Maria de Fátima Campo. Obrigada!

À minha orientadora, Aldenise Alves Moreira, por me instruir desde a graduação, não só no meio científico, mas por contribuir grandemente para minha formação de caráter. Sou grata por todo o carinho, puxões de orelha e ensinamentos.

À professora D. Sc. Maria Aparecida Castellani, por toda instrução, por ter me ensinado a ser firme e por ter feito eu me apaixonar por Entomologia. Gratidão!

A Mateus Santos, pela colaboração na análise e discussão dos dados, e por toda ajuda durante esse período, entre trancos e barrancos, construímos uma parceria sólida. Muito obrigada, Teu!

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

À minha melhor amiga Jaíne Barros, por me apoiar em todos os momentos e me acolher nos momentos de choro. Te amo, Mi!

Aos colegas da UESB, pela colaboração, amizade, companheirismo e momentos de descontração, em especial: Micaela Matos, Thamires Francisca, Talytha Ravenna, Ellen Rainha, Jislane Silva, Jáslem Silva, Óscar Nipato, Mateus Santos, Denilson Cabral, Ariel Ribeiro.

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

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

Aos colegas do Laboratório, pelo apoio, companheirismo e auxílio durante a condução do experimento e realização das análises laboratoriais, pelos momentos alegres e descontraídos durante o tempo em que trabalhamos juntos. A todos que, de alguma forma, contribuíram nesta importante etapa de minha vida. Muito Obrigada!

"O propósito da vida é encontrar algo pelo qual vale a pena viver e, no processo,
aprender a dar de si mesmo."
(Oswald Chambers)

RESUMO

CARDOSO, A. C. P. **Fungicidas comerciais e Timol podem apresentar toxicidade às operárias de *Atta laevigata* (Hymenoptera: Formicidae)?** Vitória da Conquista, BA, UESB, 2025, 49p. (Dissertação em Agronomia – Área de Concentração em Fitotecnia)^{1*}

As formigas cortadeiras são insetos eussociais que possuem uma simbiose mutualista obrigatória com o fungo simbionte. Esses aspectos conferem a esses insetos um grande sucesso na exploração de recursos, conferindo a elas o status de pragas agrícolas e florestais. Atualmente o único método de controle eficiente é o químico. Identificar novas substâncias com ação formicida e fungicida, com menor impacto à saúde humana e ao meio ambiente são cruciais. Assim, este trabalho teve como objetivo avaliar a toxicidade de fungicidas comerciais e do timol às operárias da formiga-cortadeira *Atta laevigata*. O estudo foi conduzido no Laboratório de Mirmecologia da UESB, *campus* de Vitória da Conquista, Bahia. Foram realizados três bioensaios (I, II e III), dois com fungicidas comerciais, avaliando ação de ingestão e contato, respectivamente; e o terceiro avaliou a ação de contato do timol às operárias de *A. laevigata*. Os bioensaios foram realizados em delineamento inteiramente casualizado (DIC), com 11 tratamentos e três repetições (bioensaios I e II); já para o bioensaio III, foram utilizados seis tratamentos com quatro repetições. Para os bioensaios I e II, os tratamentos foram: 1, 2 e 3 – Iprodiona (20, 30 e 40 $\mu\text{L g}^{-1}$); 4, 5 e 6 – Fluazinam (20, 30 e 40 $\mu\text{L g}^{-1}$); 7, 8 e 9 – Flutriafol (20, 30 e 40 $\mu\text{L g}^{-1}$); 10 – Controle positivo (Sulfluramida 0,1%); 11 – Controle negativo (água). No bioensaio III, os tratamentos foram: 1. Timol 0,1%; 2. Timol 0,3%; 3. Timol 0,6%; 4. Timol 1,8%; 5. Sulfluramida 0,1% (controle positivo) e 6. Água (Controle negativo). Nos bioensaios I e II, cada repetição consistiu em 10 operárias, totalizando 30 operárias por tratamento. No bioensaio III, foram utilizadas 20 operárias por repetição, totalizando 80 operárias por tratamento. No bioensaio I, a mortalidade acumulada foi registrada durante 21 dias e, nos bioensaios II e III, foi avaliada até 48 horas após a exposição. Os resultados com os fungicidas indicaram que apenas o ingrediente ativo Iprodiona, na concentração de 30 μL , apresentou curva de sobrevivência das operárias diferente da curva estimada para o controle. As estimativas do Tempo Letal Mediano (TL_{50}) variaram entre 40,35 e 110,49 horas, demonstrando que todos os tratamentos apresentaram algum nível de toxicidade às operárias de *A. laevigata*. A mortalidade das operárias de *A. laevigata*, em função dos tempos de avaliação, foram crescentes e de forma suave. As curvas de sobrevivência encontradas no bioensaio de contato mostraram que os fungicidas, em todas as concentrações, exibiram sobrevivência de operárias diferentes dos controles negativo e positivo. Entretanto, não foram observadas diferenças significativas na mortalidade entre os tratamentos com fungicidas. A mortalidade das operárias aumentou de forma suave entre os fungicidas, contudo, a Sulfluramida exibiu maior mortalidade em função dos tempos de avaliação. O timol apresentou efeito tóxico em operárias de *A. laevigata* por contato nos tempos de 24 e 48 horas, após a exposição de avaliação, com maior mortalidade nas menores concentrações.

Palavras-chave: Attini, Formigas-cortadeiras, controle químico, agrossistema, ação de ingestão e contato.

^{1*} Orientadora: Profa. Dra. Aldenise Alves Moreira, UESB Coorientadora: Profa. Dra. Maria Aparecida Castellani, UESB.

ABSTRACT

CARDOSO, A. C. P. **Can commercial fungicides and Thymol be toxic to *Atta laevigata* (Hymenoptera: Formicidae) workers?** Vitória da Conquista, BA, UESB, 2025, 49p, (Master Thesis - Agronomy – Area of concentration in Crop Science)^{2*}

Leaf-cutter ants are eusocial insects that have an obligatory mutualistic symbiosis with the symbiont fungus. These aspects contribute to the insects' success in exploiting resources, thereby acquiring the status of agricultural and forestry pests. Currently, the only effective control method is chemicals. Therefore, the identification of new substances with formicidal and fungicidal action, with less impact on human health and the environment, is crucial. The objective of this study was to assess the toxicity of commercial fungicides and thymol on the workers of the leaf-cutting ant *Atta laevigata* through ingestion and contact. The study was conducted at the Myrmecology Laboratory of UESB, Vitória da Conquista campus, Bahia. The study encompassed three bioassays: I, II, and III. Bioassay I and Bioassay II were conducted to evaluate the toxicity of commercial fungicides through ingestion and contact, respectively. Bioassay III focused on the contact action of thymol on *A. laevigata* workers. The bioassays were executed in a completely randomized design (CRD), comprising 11 treatments and three replicates, yielding a total of 33 plots for bioassays I and II. For bioassay III, which involved thymol, six treatments were utilized, with four replicates each, resulting in a total of 24 plots. For bioassays I and II, the treatments were as follows: 1, 2, and 3: Iprodione (20, 30, and 40 $\mu\text{L g}^{-1}$); 4, 5, and 6: Fluazinam (20, 30, and 40 $\mu\text{L g}^{-1}$); 7, 8, and 9: Flutriafol (20, 30, and 40 $\mu\text{L g}^{-1}$); 10: Positive control (Sulfluramid 0.1%); 11: Negative control (water). In bioassay III, the following treatments were utilized: 1 - Thymol 0.1%; 2 - Thymol 0.3%; 3 - Thymol 0.6%; 4 - Thymol 1.8%; 5 - Sulfluramid 0.1% (positive control); and 6 - Water (negative control). In bioassays I and II, each repetition comprised 10 workers, yielding a total of 30 workers per treatment. In bioassay III, 20 workers were used per repetition, resulting in a total of 80 workers per treatment. The mortality rate was recorded over a 21-day period in bioassay I, while in bioassays II and III, mortality was assessed up to 48 hours after exposure. The fungicides were found to have varying effects on the survival of the workers. Among these fungicides, only the active ingredient iprodione, at a concentration of 30 $\mu\text{L g}^{-1}$, exhibited a survival curve for the workers that differed from the curve estimated for the control. The estimates of Median Lethal Time (LT50) ranged from 40.35 to 110.49 hours, indicating that all treatments exhibited some degree of toxicity to *A. laevigata* workers. The mortality of *A. laevigata* workers exhibited a smooth increase as a function of the evaluation times. The survival curves derived from the contact bioassay indicated that fungicides at all concentrations exhibited varied worker survival rates in comparison to the negative and positive controls. However, no statistically significant differences in mortality were observed between the fungicide treatments. Worker mortality exhibited a gradual increase across the fungicides, with Sulfluramid demonstrating a higher mortality rate as a function of the evaluation times. Thymol exhibited a toxic effect on *A. laevigata* workers through contact at 24- and 48-hours following exposure, with higher mortality observed at lower concentrations.

Keywords: Attini, Leaf-cutter ants, chemical control, agroecosystem, ingestion and contact action.

^{2*} Advisor: Profa. Dra. Aldenise Alves Moreira, UESB

Co-advisor: Profa. Dra. Maria Aparecida Castellani, UESB.

LISTA DE FIGURAS

3ARTIGO 1: <i>Fungicidas comerciais podem apresentar toxicidade às operárias de Atta laevigata</i> (Hymenoptera: Formicidae)?.....	19
Figura 3.1- Resumo da metodologia de montagem, condução e avaliação dos bioensaios I e II em operárias de <i>A. laevigata</i> em laboratório	34
Figura 3.2- Fórmula estrutural dos ingredientes ativos dos fungicidas comerciais utilizados.....	35
Figura 3.3- Curvas de sobrevivência de operárias de <i>A. laevigata</i> expostas à Iprodiona (20, 30 e 40 µL) (A), fluazinam (20, 30 e 40 µL) (B), flutriafol (20, 30 e 40 µL) (C) em laboratório, conduzidos em bioensaio de ingestão.	35
Figura 3.4- Tempo Letal Mediano (TL50) de fungicidas Iprodiona 20 µL (A), 30 µL (B) e 40 µL (C), fluazinam 20 µL (D), 30 µL (E) e 40 µL (F), flutriafol 20 µL (G) 30 µL (H) e 40 µL (I), sulfluramida (J) e controle (K) em operárias de <i>A. laevigata</i> em bioensaio de ingestão. Área sombreadas representam Intervalo de Confiança (95%), β = intercepto da curva, n = número de operárias, TL50 = tempo letal necessário para matar 50% da população.	35
Figura 3.5- Efeito de fungicidas Iprodiona (20 µL, 30 µL e 40 µL) (A), fluazinam (20 µL, 30 µL e 40 µL) (B), flutriafol (20 µL, 30 µL e 40 µL) (C) em operárias de <i>A. Laevigata</i> em bioensaio de ingestão em função do tempo de avaliação. Ajuste de regressão.	36
Figura 3.6- Mortalidade de operárias de <i>A. laevigata</i> expostas a fungicidas em bioensaio de ingestão em diferentes dias de avaliação: Dia 1 (A), Dia 2 (B), Dia 3 (C), Dia 5 (D), Dia 7 (E), Dia 9 (F) e Dia 11 (G).....	36
Figura 3.7- Curvas de sobrevivência de operárias de <i>A. laevigata</i> expostas à Iprodiona (20, 30 e 40 µL) (A), fluazinam (20, 30 e 40 µL) (B), flutriafol (20, 30 e 40 µL) (C) em laboratório, conduzidos em bioensaio de contato.....	37
Figura 3.8- Efeito de fungicidas Iprodiona (20 µL, 30 µL e 40 µL) (A), fluazinam (20 µL, 30 µL e 40 µL) (B), flutriafol (20 µL, 30 µL e 40 µL) (C) em operárias de <i>A. Laevigata</i> em bioensaio de contato em função do tempo de avaliação. Ajuste de regressão a 5% de probabilidade.....	37
Figura 3.9- Mortalidade de operárias de <i>A. laevigata</i> expostas a fungicidas em bioensaio de contato em diferentes dias de avaliação: Dia 1 (A), Dia 2 (B), Dia 3 (C), Dia 5 (D), Dia 7 (E), Dia 9 (F) e Dia 11 (G).....	38
4 ARTIGO 2: O TIMOL POSSUI AÇÃO DE CONTATO ÀS OPERÁRIAS DE FORMIGAS CORTADEIRAS <i>Atta laevigata</i> (HYMENOPTERA: FORMICIDAE)? .39	
Figura 4.1- Resumo da metodologia de montagem, condução e avaliação do bioensaio sobre a ação do timol às operárias de <i>Atta laevigata</i> in vitro.	43
Figura 4.2- Efeito do timol na mortalidade de operárias de <i>Atta laevigata</i> por ação de contato, 24 horas após a exposição aos tratamentos, sob condições in vitro.	45
Figura 4.3- Efeito do timol na mortalidade de operárias de <i>A. laevigata</i> por contato, 24 horas após a exposição aos tratamentos, sob condições in vitro.	46

LISTA DE TABELAS

4 ARTIGO 2: O timol possui ação de contato às operárias de formigas cortadeiras <i>Atta laevigata</i> (hymenoptera: formicidae)?	39
Tabela 4.1- Toxicidade de timol às operárias de <i>Atta laevigata</i> em laboratório por ação de contato.....	44

LISTA DE SÍMBOLOS

BA	Bahia
R^2	Coefficiente de determinação
DIC	Delineamento Inteiramente Casualizado
g	Gramma
°	Graus
°C	Graus Celsius
H	Horas
=	Igual
+	Mais
±	Mais ou menos
>	Maior
<	Menor
μl	Microlitros
mg	Miligramma
ml	Mililitro
'	Minutos
%	Porcentagem
p	Probabilidade
Kg	Quilo
Ŷ	Regressão
”	Segundos
UESB	Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO GERAL	14
2 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	17
RESUMO.....	20
ABSTRACT	20
3.2.2 Bioensaio I – toxicidade de fungicidas comerciais às operárias de <i>Atta laevigata</i> por ingestão.....	23
3.2.3 Bioensaio II - toxicidade de fungicidas comerciais às operárias de <i>Atta laevigata</i> por contato	24
3.2.4 Análises estatísticas	25
3.3 RESULTADOS.....	25
3.3.1 Curvas de sobrevivência e toxicidade de fungicidas às operárias de <i>A. laevigata</i> por ingestão.....	25
3.3.2 Mortalidade de operárias de <i>A. laevigata</i> em função do tempo de avaliação e dos fungicidas testados	26
3.3.3 Curvas de sobrevivência e mortalidade de operárias de <i>A. laevigata</i> em bioensaio de contato com fungicidas comerciais.....	26
3.4 DISCUSSÃO	28
3.4.1 Toxicidade de fungicidas às operárias de <i>A. laevigata</i> por ingestão	28
3.4.2 Toxicidade de fungicidas às operárias de <i>A. laevigata</i> por contato.....	30
3.5 REFERÊNCIAS.....	31
RESUMO.....	40
ABSTRACT	40
4.1 INTRODUÇÃO	41
4.2 MATERIAL E MÉTODOS	42
4.2.1 Local de estudo e material biológico	42
4.2.2 Toxicidade de Timol a operárias de <i>Atta laevigata</i> por contato	43
4.2.3 Análises estatísticas	44
4.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	44
4.4 CONCLUSÃO	47
4.5 REFERÊNCIAS.....	47
5 CONSIDERAÇÕES FINAIS	49

1 INTRODUÇÃO GERAL

Consideradas pragas importantes do ponto de vista agrícola e florestal, as formigas cortadeiras, especialmente as do gênero *Atta* (Fabricius, 1804), conhecidas como saúvas, tem causado prejuízos significativos às atividades do setor, especialmente nas regiões neotropicais (JIMÉNEZ et al., 2024). Essas formigas são capazes de reduzir até 21% do volume de madeira produzido e causar mortalidade de 31,2% de plantas de *Pinus* (SCHERF et al., 2022). O ataque às plantas pode ocorrer o ano todo, e em várias partes das plantas, como brotações, flores, ramos finos, embora o alvo mais atacado sejam as folhas, reduzindo significativamente a produção fotossintética. Todo esse material vegetal que elas cortam serve para o cultivo do fungo simbiote (*Leucoagaricus gongylophorus*) (Basidiomycota: Agaricales) (SILVA et al., 2024).

No Brasil, as formigas cortadeiras do gênero *Atta* estão amplamente distribuídas em todo o território nacional, essa ampla ocorrência geográfica permite que as saúvas explorem os recursos de maneira generalizada, principalmente em monoculturas de *Pinus* e Eucalipto, e outras espécies florestais de importância econômica, atingindo frequentemente o status de pragas (SOUZA et al., 2021).

Esse sucesso na exploração de recursos pode estar ligado ao fato de serem insetos eussociais, desenvolvendo um sistema com interações complexas entre os indivíduos (NOGUEIRA et al., 2022). A eussocialidade não se limita à divisão em castas, sendo o nível mais alto de organização social entre os animais, o qual é definido pelas seguintes características: cuidado com membros recém-nascidos, sobreposição de gerações, grupos de divisão de trabalho reprodutivos e os não reprodutivos (PRESTES; CUNHA, 2012).

A organização do trabalho dentro de um ninho de saúvas está associada ao tamanho da casta de indivíduos (polimorfismo), assim, indivíduos de tamanhos variados podem desempenhar funções diferentes, gerando padrões de comportamento complexos (MURATORE e TRANIELLO, 2020). Em um ninho de saúvas, as castas de indivíduos encontradas incluem funções específicas, como: rainha (reprodutora), soldados (proteção e forrageamento), operárias forrageiras (forrageamento e carregamento), operárias generalistas (diversas funções) e jardineiras (cuidados com o fungo, prole, manutenção e limpeza do fungo e do ninho) (BUENO et al., 2024).

O sucesso da organização do trabalho dentro da sociedade é altamente dependente do polimorfismo, de modo que, aqueles indivíduos que desempenham funções mais Especializadas são mais eficientes do que aqueles com funções generalistas (MURATORE

e TRANIELLO, 2020; BARRERA et al., 2022). As operárias de saúvas são os indivíduos que realizam muitas atividades na manutenção do ninho, sendo, por isso, muito importantes no equilíbrio da divisão do trabalho (MURATORE et al., 2022).

Devido a essas relações complexas, o controle das saúvas tem sido dificultado e limitado ao uso de inseticidas químicos, como iscas tóxicas à base de sulfluramida ou fipronil (BRITTO et al., 2016). As iscas tóxicas são pellets compostas de um componente atrativo às formigas, geralmente polpa cítrica misturada com óleo vegetal e o componente de ação tóxica, no caso o inseticida (GANDRA et al., 2016). A eficácia das iscas tóxicas no controle das formigas está associada à sua alta atratividade e ação retardada em causar mortalidade, o que permite que o ingrediente ativo se distribua nas câmaras, levando à mortalidade do ninho em alguns dias (FORTI et al., 2007).

Contudo, o uso desses ingredientes ativos está sendo restringido, uma vez que, no caso do fipronil, em 2003, foi detectado efeitos de desregulação no organismo do insetos causados por essa molécula (BOULOGNE et al., 2014); e em relação à sulfluramida, os problemas estão relacionados a seus efeitos persistentes ao ambiente, conforme debatido na Convenção de Estocolmo sobre Poluentes Orgânicos Persistentes (POPs), pois o produto da degradação das moléculas resulta em ácido perfluorooctanoico sulfônico (PFOS), composto persistente e acumulável, passível de causar impactos à saúde humana e ambiental (GUIDA et al., 2023). Dessa forma, é necessária a busca por moléculas e substâncias químicas que sejam eficientes no controle das saúvas, podendo substituir tais compostos tóxicos das iscas, bem como apresentar baixo impacto ambiental, segurança à saúde humana e animal, constituindo um grande desafio para o manejo dessas pragas.

Alguns compostos químicos já existentes podem apresentar potencial efeito tóxico em formigas cortadeiras, como é o caso de fungicidas, que vem sendo estudados atualmente, como quinona (SCUDILLIO et al., 2023). A grande maioria dos estudos tem enfatizado a ação tóxica dos compostos ao fungo simbionte das formigas cortadeiras, contudo, efeitos subletais ou até mesmo tóxicos nos indivíduos não podem ser descartados e merecem investigações.

Efeitos tóxicos de ingredientes ativos potencialmente fungicidas, como a ciclohexamida, em saúvas (*Atta sexdens*) têm sido reportados e, embora ainda não esteja esclarecido o mecanismo de ação desses compostos às formigas, mortalidade moderada foi verificada para esse composto (SOUSA et al., 2018).

Outra vantagem do uso de alguns fungicidas reside no fato de que os indivíduos podem não detectar facilmente sua presença, dessa maneira, a dispersão dentro da colônia pode contaminar outros indivíduos e, além de exercer uma ação tóxica às formigas, também é provável que atinja o fungo cultivado (SCUDILLIO et al., 2023).

Uma alternativa importante seria a utilização de compostos de plantas, como o timol, um monoterpene aromático extraído do óleo de tomilho (*Thymus vulgaris* L.) (JANNATI et al., 2021), cuja ação tóxica de contato em formigas cortadeiras já foi relatada para a espécie *Acromyrmex balzani* (DANTAS et al., 2023). Dessa maneira, é possível que essa molécula possa exibir ação tóxica a outras espécies de formigas cortadeiras, sendo mais uma molécula em potencial para substituir os ingredientes ativos utilizados em iscas.

Diante dessa necessidade de se conhecer novas substâncias de ação tóxica às saúvas, neste trabalho, foram levantadas as hipóteses de que fungicidas comerciais e compostos de plantas, como o timol, podem apresentar efeitos tóxicos às operárias de *Atta laevigata* em laboratório. Para testar as hipóteses, objetivou-se avaliar a toxicidade de fungicidas comerciais e do timol às operárias da formiga-cortadeira *A. laevigata*.

2 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- BARRERA, C. A. et al. Phylogenomic reconstruction reveals new insights into the evolution and biogeography of *Atta* leaf-cutting ants (Hymenoptera: Formicidae). **Systematic Entomology**, v. 47, n. 1, p. 13-35, 2022.
- BOULOGNE, I.; OZIER-LAFONTAINE, H.; LORANGER-MERCIRIS, G. Leaf-cutting ants, biology, and control. IN: LICHTFOUSE, E. **Sustainable Agriculture Reviews: Book series**, Springer Nature, v. 13, p. 1-17, 2014.
- BRANDÃO, C. R. F.; MAYE-NUNES, A.; SANHUDO, C.E. D. Taxonomia e filogeniadas formigas-cortadeiras. IN: DELLA-LUCIA, T.M.C. (Eds). **Formigas-cortadeiras: da biologia ao manejo**, Editora UFV: Viçosa, MG, Brasil, 2011.
- BRITTO, J. S. et al. 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 p.11-92, 2016.
- BUENO, I. et al. Growth dynamics of symbiotic fungus and how it is affected by proportion of minor workers (Hymenoptera: Formicidae: *Atta*). **Journal of Insect Behavior**, p. 1-14, 2024.
- DANTAS, J. O. et al. Formicidal Potential of Thymol Derivatives: Adverse Effects on the Survival and Behavior of *Acromyrmex balzani*. **Agriculture**, v. 13, n. 7, p. 1410, 2023.
- FORTI, L. C. et al. 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. et al. Occurrence of leaf-cutting and grass-cutting ants of the Genus *Atta* (Hymenoptera: Formicidae) in geographic regions of Brazil. **Sociobiology**, v. 67, n. 4, p. 514-525, 2020.
- GANDRA, L. C. et al. 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.
- GUIDA, Y. et al. Confirming sulfluramid (EtFOSA) application as a precursor of perfluorooctanesulfonic acid (PFOS) in Brazilian agricultural soils. **Chemosphere**, v. 325, p. 138370, 2023.
- JANNATI, N.; GHARACHORLOO, M.; HONARVAR, M. Extraction of thymol compound from *Thymus vulgaris* L. oil. **Journal of Medicinal Plants and By-products**, v. 10, n. 1, p. 81-84, 2021.
- JIMÉNEZ, N. L. et al. Biomass consumption, foraging activity and harvesting patterns in two sympatric leaf-cutting ant species in a Salicaceae plantation in Argentina. **Agricultural and Forest Entomology**, p.1-13, 2024.
- MURATORE, I. B.; FANDOZZI, E. M.; TRANIELLO, J. F. A. Behavioral performance and division of labor influence brain mosaicism in the leafcutter ant *Atta cephalotes*. **Journal of Comparative Physiology A**, v. 208, n. 2, p. 325-344, 2022.
- MURATORE, I. B.; TRANIELLO, J. F.A. Fungus-growing ants: Models for the integrative analysis of cognition and brain evolution. **Frontiers in Behavioral Neuroscience**, v. 14, p. 599234, 2020.
- NOGUEIRA, B. R. et al. Collection and long-term maintenance of leaf-cutting ants (*Atta*) in laboratory conditions. **Journal of Visualized Experiments**, v. 186, p. e64154, 2022.

SCHERF, A. N. et al. Impact of a leaf-cutting ant (*Atta sexdens* L.) on a *Pinus taeda* plantation: A 6 year-long study. **Journal of Applied Entomology**, v. 146, n. 9, p. 1178-1184, 2022.

SCUDILLIO, T. et al. Contamination and mortality of leaf-cutting ant workers by the quinone inside inhibitor fungicide after social interactions. **Scientific reports**, v. 13, n. 1, p. 6169, 2023.

SILVA, I.L.H. et al. Divergent reproductive responses of Caatinga dry forest plants to leaf-cutting ant herbivory. **Perspectives in Plant Ecology, Evolution and Systematics**, v. 63, p. 125790, 2024.

SOUSA, K. K. A. et al. 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.

SOUZA, R. M.; RIBEIRO, A.; FERRAZ FILHO, A.C. Leaf-cutting ant (*Atta laevigata*Smith) in an African mahogany plantation in Minas Gerais state, Brazil. **EntomoBrasilis**, v. 14, p. e954-e954, 2021.

3 ARTIGO 1:

Fungicidas comerciais podem apresentar toxicidade às operárias de *Atta laevigata* (Hymenoptera: Formicidae)?¹

Artigo de Pesquisa Original

Ana C. P. Cardoso¹, Maria A. Castellani¹, Aldenise A. Moreira^{1*}

¹Departamento de Fitotecnia e Zootecnia- DFZ, Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia, Vitória da Conquista, BA, 45083-300, Brasil.

Título curto: Efeitos tóxicos de fungicidas às formigas-cortadeira

¹ Situação: não-submetido

* Autora correspondente: Profa Dr.a. Aldenise Alves Moreira, Programa de Pós-Graduação em Agronomia, Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia – UESB, Vitória da Conquista, BA, 45083-300, Brasil, Telefone: +5577992101582, E-mail: a.moreira@uesb.edu.br.

RESUMO

As formigas cortadeiras representam um alto risco de perdas econômicas para as culturas agrícolas, pastagens e áreas florestais. O controle químico continua sendo o método mais utilizado e eficiente no combate a esses insetos-praga. No entanto, há uma necessidade urgente de identificar novas substâncias com ação formicida e fungicida, que apresentem menor impacto à saúde humana e ao meio ambiente. Este trabalho teve como objetivo avaliar a toxicidade de fungicidas comerciais sobre as operárias da formiga cortadeira *Atta laevigata* por meio de ingestão e contato. O estudo foi conduzido no Laboratório de Mirmecologia da Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia (UESB), *campus* de Vitória da Conquista, Bahia. Foram realizados dois bioensaios, um para avaliação por ingestão e outro por contato, ambos em delineamento inteiramente casualizado (DIC), com 11 tratamentos e três repetições, totalizando 33 parcelas. Os tratamentos foram: 1, 2 e 3 - Iprodiona (20, 30 e 40 $\mu\text{L mL}^{-1}$); 4, 5 e 6 - Fluazinam (20, 30 e 40 $\mu\text{L mL}^{-1}$); 7, 8 e 9 - Flutriafol (20, 30 e 40 $\mu\text{L mL}^{-1}$); 10 - Controle positivo (Sulfluramida 0,1%); 11 - Controle negativo (água). Cada repetição consistiu de 10 operárias acondicionadas em potes plásticos transparentes, totalizando 30 operárias por tratamento. No bioensaio I (ingestão), os tratamentos foram incorporados à dieta de polpa cítrica oferecida às operárias. No bioensaio II (contato), utilizou-se papel filtro imerso na solução de cada tratamento, com as operárias expostas ao papel por 48 horas. No bioensaio I, a mortalidade acumulada foi registrada durante 21 dias após o início do experimento. No bioensaio II, a mortalidade foi avaliada até 48 horas após a exposição. Os resultados indicaram que apenas o ingrediente ativo prodiona, na concentração de 30 $\mu\text{L mL}^{-1}$, apresentou efeito significativo na sobrevivência das operárias em relação ao controle. Os ingredientes ativos fluazinam e flutriafol não apresentaram diferenças significativas na sobrevivência das operárias de *A. laevigata* em relação ao controle. As estimativas do Tempo Letal Mediano (TL_{50}) variaram entre 40,35 e 110,49 horas, demonstrando que todos os tratamentos apresentaram algum nível de toxicidade às operárias de *A. laevigata*. Entretanto, no bioensaio de contato, não foram observadas diferenças significativas na mortalidade entre os tratamentos ao longo do período de avaliação.

Palavras-chave: Attini, Formiga-cortadeira, controle, agrossistema.

ABSTRACT

Leaf-cutting ants pose a considerable risk of economic losses to agricultural crops, pastures, and forest areas. Chemical control remains the most widely used and efficient method to combat these insect pests. However, there is an urgent need to identify new substances with anti-ant and fungicidal action that have less impact on human health and the environment. This study aimed to evaluate the toxicity of commercial fungicides on workers of the leaf-cutting ant *Atta laevigata* through ingestion and contact. The study was conducted at the Myrmecology Laboratory of the Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia (UESB), Vitória da Conquista campus, Bahia. Two bioassays were performed, one for evaluation by ingestion and the other by contact, both in a completely randomized design (CRD), with 11 treatments and three replicates, totaling 33 plots. The treatments were: 1, 2, and 3 - Iprodione (20, 30, and 40 $\mu\text{L mL}^{-1}$); 4, 5 and 6 - Fluazinam (20, 30 and 40 $\mu\text{L mL}^{-1}$); 7, 8 and 9 - Flutriafol (20, 30 and 40 $\mu\text{L mL}^{-1}$); 10 - Positive control (0.1% sulfluramid); 11 - Negative control (water). Each replicate consisted of 10 workers housed in transparent plastic pots, totaling 30 workers per treatment. In bioassay I (ingestion),

the treatments were incorporated into the citrus pulp diet offered to the workers. In bioassay II (contact), filter paper immersed in the solution of each treatment was used, with the workers exposed to the paper for 48 hours. In bioassay I, cumulative mortality was recorded for 21 days after the start of the experiment. In bioassay II, mortality was evaluated up to 48 hours after exposure. The results indicated that only the active ingredient iprodione, at a concentration of $30 \mu\text{L mL}^{-1}$, had a significant effect on worker survival compared to the control. The active ingredients fluazinam and flutriafol did not show significant differences in the survival of *A. laevigata* workers compared to the control. The estimates of Median Lethal Time (LT_{50}) ranged from 40.35 to 110.49 hours, demonstrating that all treatments presented some level of toxicity to *A. laevigata* workers. However, in the contact bioassay, no significant differences in mortality were observed between treatments throughout the evaluation period.

Keywords: Attini, Leaf-cutter ant, control, agrosystem.

3.1 INTRODUÇÃO

As formigas dos gêneros *Atta* (Fabricius, 1804) e *Acromyrmex* (Mayer, 1865), pertencentes à família Formicidae (Hymenoptera), são conhecidas como formigas cortadeiras devido ao seu comportamento de desfolhamento. No Brasil, são encontradas nove espécies de *Atta* e 21 espécies de *Acromyrmex*, representando mais de 60% de todas as formigas cortadeiras do mundo, o que tem gerado grandes prejuízos causados pelas infestações, gerando impactos econômicos significativos (Fujihara *et al.*, 2013).

As formigas cortadeiras são insetos sociais e se organizam em castas (rainha, soldados, forrageiras, generalistas e jardineiras), realizando divisão de tarefas, tanto no interior como no exterior dos ninhos (Sujimoto, 2018). Elas cortam e carregam partes frescas de plantas para usar como substrato no cultivo do fungo simbiote *Leucoagaricus gongylophorus* (Britto *et al.*, 2016; Giesel *et al.*, 2021). A relação simbiótica mutualística obrigatória entre as formigas cortadeiras e o fungo, na qual ambas as partes se beneficiam (Orozco *et al.*, 2018), favorece o grande sucesso na exploração de recursos vegetais e dificulta a utilização de alguns métodos de controle.

Devido ao corte de inúmeras espécies vegetais para o cultivo do fungo, as formigas cortadeiras provocam danos econômicos significativos em áreas agrícolas, pastagens e reflorestamento, principalmente eucalipto e pinus (Da Silva *et al.*, 2020). A herbivoria desses insetos pode causar danos significativos aos agrossistemas, em cultivos convencionais, e as perdas na produtividade podem representar de 12 a 17%. No caso do cultivo de eucalipto, essas perdas são ainda mais significativas, podendo chegar a 60%. Se não houver controle adequado, isso pode resultar na perda total do cultivo, tornando toda a cadeia insustentável economicamente (Lemes & Zanúncio, 2019).

O desfolhamento provocado pelas formigas cortadeiras pode ocorrer em qualquer fase de desenvolvimento das plantas, o que torna necessário um controle eficaz para garantir a produtividade das culturas (Pereira, 2021). O controle químico, por meio do uso de iscas tóxicas, é o método mais comum, com destaque para os ingredientes ativos Sulfluramida e Fipronil. A Sulfluramida, principal ingrediente ativo das iscas formicidas, possui restrição de uso em vários países, pois foi enquadrada como Poluentes Orgânicos Persistentes (POPs) pela Convenção de Estocolmo, devido ao impacto na contaminação da água e do solo, além de prejudicar a fauna e a flora, o uso desse pesticida envolve risco s relacionados aos compostos químicos resultantes de sua degradação (Bion, 2019).

Recentemente um novo ativo, o isocicloseram, apresentou eficiência em laboratório e campo para utilização em iscas formicidas, com mortalidade da colônia de *A. sexdens* nas concentrações entre 0,075 e 0,3%, em laboratório e em iscas, nas concentrações de 0,2 e 0,3% em campo nas espécies *A. sexdens*, *A. laevigata* e *Acromyrmex lundii*, nas dosagens de 6, 10 e 12 g m⁻² do ninho (Zanetti *et al.*, 2024). Já existe o registro de uma isca à base do ingrediente ativo isocicloseram, com registro no MAPA sob nº 11223 (Isocicloseram, 2024). No entanto, apesar da existência de um novo ingrediente ativo em iscas tóxicas no mercado, ainda existe a necessidade de buscar compostos efetivos no controle das operárias de formigas cortadeiras e/ou de seu fungo simbionte que apresentam uma maior segurança ambiental, pois a isca acima está inserida na classe II em relação à classificação do potencial de periculosidade ambiental, o que significa um produto muito perigoso ao meio ambiente.

Dessa forma, com base nos aspectos levantados acima, o presente trabalho teve por objetivo avaliar a toxicidade de fungicidas comerciais (iprodiona, fluazinam e flutriafol) nas operárias da formiga-cortadeira *A. laevigata*, por ingestão e contato em laboratório.

3.2 MATERIAL E MÉTODOS

3.2.1 Local de estudo e material biológico

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

O material biológico para realização dos bioensaios é coletado anualmente, durante o período da revoada. As coletas de rainhas recém-copuladas foram realizadas

durante o período da revoada, que ocorre em Vitória da Conquista nos meses de outubro a dezembro, no período das chuvas com temperaturas elevadas. Após o voo nupcial e a cópula, a rainha desce ao solo para iniciar a escavação do novo ninho no solo para estabelecimento da colônia, nesse momento, são realizadas as coletas das rainhas recém-copuladas e levadas ao laboratório de Mirmecologia da UESB. Como a mortalidade de rainhas nessa fase inicial é muito alta, chegando a 99,95%, segundo pesquisas de Autuori (1950), são coletadas entre 500 e 1000 rainhas para que possamos conseguir uma sobrevivência de 5 a 10% em laboratório.

As colônias de *A. laevigata*, após o estabelecimento em Laboratório, 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 material seco (quirera de milho e aveia em flocos). Diariamente, era realizada a retirada do lixo e limpeza dos potes para evitar contaminação das colônias. Para a condução dos bioensaios, além da utilização das operárias de *A. laevigata*, foi também confeccionada uma dieta artificial para adição dos tratamentos e manutenção das operárias. A dieta artificial foi produzida conforme metodologia desenvolvida por Nagamoto et al. (2004) e estabelecida pelo MAPA (2009). Laranjas orgânicas (cultivadas sem agrotóxicos) foram lavadas com detergente neutro, descascadas e, após a extração do suco, foram colocadas em estufas para secagem e posteriormente moídas, e adicionada a uma solução de sacarose a 10%, até a formação de uma pasta (Figura 1).

3.2.2 Bioensaio I – toxicidade de fungicidas comerciais às operárias de *Atta laevigata* por ingestão

Esse bioensaio consistiu na utilização de três fungicidas comerciais, Fluazinam, Iprodiona e Flutriafol (Figura 2), pertencentes aos grupos químicos Fenilpiridinilamina, Dicarboximida e Triazol, respectivamente. Os fungicidas testados possuem modos de ação diferentes: fluazinam atua na fosforilação oxidativa, o iprodiona na transdução do sinal osmótico e o flutriafol atua como inibidor da biossíntese de ergosterol (Forcelini, 1994).

O bioensaio foi realizado em delineamento inteiramente casualizado (DIC), com 11 tratamentos e três repetições, totalizando 33 parcelas. Os tratamentos utilizados foram: 1. Iprodiona 20 µL; 2. Iprodiona 30 µL; 3. Iprodiona 40 µL; 4. Fluazinam 20 µL; 5. Fluazinam 30 µL; 6. Fluazinam 40 µL; 7. Flutriafol 20 µL; 8. Flutriafol 30 µL; 9. Flutriafol 40 µL; 10. Sulfluramida 0,1 %; 11. Água. Cada repetição contou com 10 operárias dispostas em potes plásticos transparentes, contendo a dieta + respectivo tratamento, totalizando 30 operárias por tratamento. As caldas, contendo os fungicidas, foram preparadas com água destilada e adicionadas à dieta.

Nos potes, forrados com papel filtro, colocou-se aproximadamente 1 g da dieta (contendo o tratamento) (Nagamoto *et al.*, 2004) sobre um pedaço de papel alumínio. Operárias de *A. laevigata* com 10 a 15 mg foram coletadas das colônias 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 os potes já contendo a dieta, acrescida do tratamento (10 formigas por placa), permanecendo nesta condição por 24 horas. Após esse período, a dieta contendo os tratamentos foi retirada de todas as parcelas e, em seguida, foi oferecido apenas a isca de polpa cítrica pura para manutenção das operárias durante o período de avaliação.

Os potes devidamente identificados foram distribuídos aleatoriamente e permaneceram em ambiente com temperatura de $25 \pm 1^\circ\text{C}$ e umidade relativa de $70\% \pm 10$. As avaliações foram realizadas anotando-se a 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.

3.2.3 Bioensaio II - toxicidade de fungicidas comerciais às operárias de *Atta laevigata* por contato

O bioensaio de contato foi realizado usando-se papel filtro (90 mm de diâmetro) imerso por 30 segundos em um becker de vidro de 100 ml, contendo a calda referente a cada tratamento (mesmos tratamentos e delineamento experimental do bioensaio I). Posteriormente à imersão, os papéis-filtro foram colocados para secar em temperatura ambiente e, após 30 minutos, foram utilizados para forrar o fundo dos recipientes e, em seguida, foram colocadas dez operárias em cada recipiente, contendo dieta à base de polpa cítrica para manutenção das operárias. A mortalidade acumulada foi avaliada nos tempos de 2, 6, 8, 24 e 48 horas (adaptada de Marcomini *et al.*, 2009).

3.2.4 Análises estatísticas

Os dados de sobrevivência referentes aos bioensaios de ingestão e contato foram analisados por meio de curvas de sobrevivência, utilizando-se o estimador de Kaplan-Meier e a comparação múltipla das curvas foram realizadas pelo teste Long-Rank (Holm-Sidak test; $p < 0,05$). Utilizou-se o *software* SigmaPlot 12.5 (SYSTAT, San Jose, CA, USA, 2013) para a execução da análise. As estimativas do Tempo Letal Mediano (TL50) para cada tratamento foram determinadas por meio de Análise de Probit, utilizando a função PROC PROBIT do *software* SAS (SAS Institute, SAS, Cary, NC, 2020).

Para verificar os efeitos dos tratamentos na mortalidade das operárias ao longo do tempo, foi realizado o ajuste de modelos de regressão utilizando-se os critérios da parcimônia, ou seja, escolha do modelo mais simples que melhor explica os dados, maiores valores de R^2 , maiores valores de F e significância a 5% de probabilidade. Os ajustes de regressão foram executados no *software* TableCurves2D (SYSTAT, San Jose, CA, 2002). Modelos Lineares Generalizados (GLM) foram construídos para verificar efeitos dos tratamentos nas operárias de *A. laevigata*. A distribuição adotada foi a de Poisson com função de ligação log. Utilizou-se os pacotes “lme4” (Bates, 2014) e “emmeans” (Lenth, 2022) do ambiente livre R 4.4.2 (R Core Development, 2024).

3.3 RESULTADOS

3.3.1 Curvas de sobrevivência e toxicidade de fungicidas às operárias de *A. laevigata* por ingestão

As curvas de sobrevivência de operárias de *A. laevigata*, expostas a fungicidas em bioensaio de ingestão, diferiram significativamente entre si (Figura 3). As curvas de sobrevivência das operárias submetidas ao ingrediente ativo Iprodiona não diferiram da sulfluramida e do controle, com exceção da concentração de $30 \mu\text{L mL}^{-1}$, cujas diferenças na sobrevivência foram encontradas, quando comparadas com o controle ($\chi^2 = 13,980$; $p < 0,01$) (Figura 3A).

Considerando o ingrediente ativo fluazinam, a sobrevivência de operárias de *A. laevigata* não diferiram entre as concentrações e a sulfluramida e o controle. As estimativas do Tempo Letal Mediano (TL50) para os tratamentos foram diferentes entre si pela análise de Probit e variaram entre 40,35 e 110,49 horas, indicando que todos os tratamentos exibiram toxicidade às operárias (Figura 4).

Para o ingrediente ativo Iprodiona, nas concentrações de 20, 30 e 40 $\mu\text{L mL}^{-1}$, as estimativas de TL50 foram de 80,86; 40,35 e 87,17 horas (Figura 3 A, B e C). Para fluazinam, as estimativas de TL50 foram de 62,42; 68,25 e 102,57 horas para as respectivas concentrações de 20, 30 e 40 $\mu\text{L mL}^{-1}$ (Figura 3 D, E e F). As estimativas de TL50, para as concentrações de 20, 30 e 40 $\mu\text{L mL}^{-1}$, considerando o ingrediente ativo flutriafol, foram de 74,11; 106,01 e 97,35 horas, respectivamente (Figura 3 G, H e I). Para os tratamentos sulfluramida e controle, os valores de TL50 estimados foram de 60,43 e 110,49 horas, respectivamente (Figura 4 J e K).

3.3.2 Mortalidade de operárias de *A. laevigata* em função do tempo de avaliação e dos fungicidas testados

De acordo com os modelos de regressão, foram encontradas diferenças significativas para a mortalidade de operárias de *A. laevigata*, expostas aos tratamentos no bioensaio de ingestão, ao longo do tempo de avaliação (Figura 5). Para todos os tratamentos, foram ajustados modelos de regressão simples, com alto valor de R^2 . Verificou-se que a mortalidade aumentou rapidamente e suavemente de forma linear em função do tempo de avaliação para todos os tratamentos nos modelos selecionados (Figura 4). A mortalidade de operárias de *A. laevigata*, expostas aos tratamentos no bioensaio de ingestão, foi significativamente diferente, considerando o intervalo de tempo de avaliação de 1 a 11 dias (Figura 6).

Foi verificado que, no primeiro dia de avaliação, a mortalidade de operárias variou entre os tratamentos, com maiores valores médios de mortalidade para o ingrediente ativo iprodiona, na concentração de 30 $\mu\text{L mL}^{-1}$ (40%), e os menores valores de mortalidade para fluazinam 40 $\mu\text{L mL}^{-1}$ (3,33%), flutriafol 30 $\mu\text{L mL}^{-1}$ (3,33%) e controle (3,33%) (Figura 6 A). Para os demais tempos de avaliação, não foram encontradas diferenças significativas na mortalidade de operárias em função dos tratamentos.

3.3.3 Curvas de sobrevivência e mortalidade de operárias de *A. laevigata* em bioensaio de contato com fungicidas comerciais

As estimativas das curvas de sobrevivência de operárias de *A. laevigata* variaram entre os tratamentos no bioensaio de contato (Figura 7). Para todos os fungicidas, todas as curvas de sobrevivência foram diferentes entre as concentrações estudadas em comparação com sulfluramida e controle (Figura 7A). Os valores de sobrevivência das curvas estimadas para as três concentrações de iprodiona, quando comparados com o

controle, foram menores entre si (iprodivona 20 $\mu\text{L mL}^{-1}$: $\chi^2 = 17,706$; $p < 0,001$; iprodiona 30 $\mu\text{L mL}^{-1}$: $\chi^2 = 10,370$; $p < 0,01$ e iprodiona 40 $\mu\text{L mL}^{-1}$: $\chi^2 = 19,845$; $p < 0,0001$) e maiores em comparação com os valores de sobrevivência de operárias expostas à sulfluramida (iprodivona 20 $\mu\text{L mL}^{-1}$: $\chi^2 = 72,904$; $p < 0,0001$; iprodiona 30 $\mu\text{L mL}^{-1}$: $\chi^2 = 95,792$; $p < 0,0001$ e iprodiona 40 $\mu\text{L mL}^{-1}$: $\chi^2 = 69,498$; $p < 0,0001$) (Figura 7A).

Considerando as curvas de sobrevivência estimadas para fluazinam, o mesmo efeito foi observado, maiores valores de sobrevivência para as três concentrações comparadas com a sulfluramida (fluazinam 20 $\mu\text{L mL}^{-1}$: $\chi^2 = 61,895$; $p < 0,0001$; fluazinam 30 $\mu\text{L mL}^{-1}$: $\chi^2 = 100,422$; $p < 0,0001$ e fluazinam 40 $\mu\text{L mL}^{-1}$: $\chi^2 = 101,402$; $p < 0,0001$) e menores em comparação com o controle (fluazinam 20 $\mu\text{L mL}^{-1}$: $\chi^2 = 27,288$; $p < 0,01$; fluazinam 30 $\mu\text{L mL}^{-1}$: $\chi^2 = 7,271$; $p < 0,05$ e fluazinam 40 $\mu\text{L mL}^{-1}$: $\chi^2 = 8,448$; $p < 0,0001$) (Figura 7B).

A sobrevivência de operárias de *A. laevigata* para o ingrediente ativo flutriafol também variou de forma significativa entre as concentrações, sulfluramida e controle (Figura 6C), cujos menores valores de sobrevivência foram verificados entre as três concentrações e o controle (flutriafol 20 $\mu\text{L mL}^{-1}$: $\chi^2 = 15,273$; $p < 0,001$; flutriafol 30 $\mu\text{L mL}^{-1}$: $\chi^2 = 88,888$; $p < 0,0001$ e flutriafol 40 $\mu\text{L mL}^{-1}$: $\chi^2 = 57,558$; $p < 0,0001$) e os maiores valores das respectivas concentrações em comparação com a sobrevivência média encontrada na sulfluramida (flutriafol 20 $\mu\text{L mL}^{-1}$: $\chi^2 = 83,427$; $p < 0,0001$; flutriafol 30 $\mu\text{L mL}^{-1}$: $\chi^2 = 4,062$; $p < 0,05$ e flutriafol 40 $\mu\text{L mL}^{-1}$: $\chi^2 = 22,022$; $p < 0,0001$) (Figura 6C). Foram verificadas diferenças significativas na mortalidade de operárias de *A. laevigata*, expostas aos tratamentos no bioensaio de contato, em função do tempo de avaliação (Figura 8).

Assim como no bioensaio de ingestão, foram selecionados modelos simples, sendo 1 linear e 2 não lineares ($\hat{Y} = a+bx$; $\hat{Y} = a+bx^{0,5}$ e $\hat{Y} = a+bx^2$), com alto valor de R^2 . Considerando o fungicida iprodiona, nas concentrações de 20 e 30 $\mu\text{L mL}^{-1}$, foram ajustados modelos quadráticos com pontos de mínima mortalidade estimados pela derivação, nos intervalos de 13,94 (0,19% de mortalidade) e 16,12 (0,49% de mortalidade) horas; após esses pontos, a mortalidade aumentou de forma linear suave. Já para a concentração de 40 $\mu\text{L mL}^{-1}$, o modelo ajustado foi linear crescente, ou seja, a mortalidade aumentou à medida que houve aumentos no tempo de avaliação (Figura 8 A).

Houve ajuste de modelo quadrático para explicar o efeito dos tempos de avaliação, quando utilizada a concentração de 20 $\mu\text{L mL}^{-1}$ do fungicida fluazinam, o ponto de

mínima mortalidade, no tempo de 26,52 horas (6,00% de mortalidade). A partir desse ponto, a mortalidade aumentou em função dos tempos de avaliação. Para 30 $\mu\text{L mL}^{-1}$ e 40 $\mu\text{L mL}^{-1}$ de fluazinam, os modelos de regressão ajustados também foram quadráticos, com pontos de mínimo de 11,13 (3,1%) e 15,64 (5,0%) horas, com aumentos a partir desses intervalos estimados (Figura 8B).

Considerando o fungicida flutriafol, foram ajustados modelos quadráticos para as concentrações de 20 e 40 $\mu\text{L mL}^{-1}$, com estimativas dos pontos de mínima mortalidade significativa ocorrendo nos intervalos de 22,44 (1,67%) e 15,40 (1,00%) horas, havendo aumento na mortalidade a partir desses intervalos de tempo (Figura 8C). Para a concentração de 30 $\mu\text{L mL}^{-1}$, foi ajustado um modelo linear crescente, com a mortalidade aumentando conforme aumentava o tempo de avaliação (Figura 8C). Para a mortalidade com a sulfluramida, o modelo ajustado foi quadrático, com ponto de mínima mortalidade em 22,44 horas (3,33%), a partir do qual houve aumento em função do tempo de avaliação. Para o tratamento controle, não foi possível ajuste de modelo de regressão significativo para explicar o seu efeito na mortalidade de operárias de *A. laevigata*. Não foram encontradas diferenças significativas na mortalidade de operárias de *A. laevigata* entre os tratamentos no bioensaio de contato ao longo dos dias de avaliação (Figura 9).

3.4 DISCUSSÃO

3.4.1 Toxicidade de fungicidas às operárias de *A. laevigata* por ingestão

Os resultados obtidos indicaram que os compostos com ação fungicida podem apresentar ação inseticida aditiva, a exemplo do Iprodiona que, na concentração de 30 $\mu\text{L g}^{-1}$, apresentou diferença na curva de sobrevivência das operárias de *A. laevigata* em relação ao controle, esse ingrediente ativo pertence ao grupo das dicarboxamidas, caracterizado pelo mecanismo de ação denominado transdução do sinal osmótico (E3). Outros fungicidas com mecanismos de ação diferentes já apresentaram efeito tóxico por ingestão, a exemplo do trabalho de Medeiros (2018), que observou efeito tóxico por ingestão em formigas operárias de *Atta sexdens* com a mistura dos fungicidas Piraclostrobina + Metconazole (nas concentrações 0,025, 0,05, 0,075, 0,1 e 0,2%), que pertencem aos grupos químicos estrobilurina e triazol, respectivamente, que atuam como inibidores do transporte de elétrons nas mitocôndrias, inibindo a formação de ATP e da biossíntese do ergosterol, o qual é um constituinte da membrana celular dos fungos.

De acordo com Fernandes *et al.* (2022), a busca por compostos com maior

especificidade, dirigidos ao controle de formigas-cortadeiras por ação fungicida, formicida ou ambos, é bastante desejável, com curva de sobrevivência apresentando mortalidade mais rápida, comparada ao tratamento com água controle, mostrando, em laboratório, potencial para controle.

Em relação ao Tempo Letal Mediano (TL50), o ingrediente ativo Iprodiona, na concentração de 30 $\mu\text{L mL}^{-1}$, apresentou uma toxicidade importante, pois apresentou um TL50 de 40,35 horas, que foi inferior ao controle positivo, sulfluramida, com 60,43 horas e bem menor que o controle, que foi de 110,49 horas. Oliveira (2015) observou uma toxicidade significativa, com TL₅₀ de 24 e 48 horas, para as espécies de formigas *Atta sexdens* e *Acromyrmex balzani*, respectivamente, com extrato de *Aristolochia trilobata*. Foi obtida uma mortalidade significativa também com o extrato etanólico de *Eugenia dysenterica* em *A. laevigata*, com um TL₅₀ de aproximadamente 36 horas, após a exposição (Faleiros *et al.*, 2022). Alguns extratos de plantas já testados apresentaram uma ação tóxica, tanto nas formigas quanto no fungo simbionte, a exemplo das espécies *Sesamum indicum* (Pedaliaceae) (Bueno *et al.*, 1994; Morini *et al.*, 2005) e *Cedrela fissilis* (Meliaceae) (Bueno *et al.*, 2005).

Os resultados obtidos neste trabalho, com os fungicidas Iprodiona, Fluazinam e Flutriafol, que mostraram mortalidade a operárias de *A. laevigata* por ingestão, em especial o Iprodiona, que possui mecanismo de ação denominado transdução do sinal osmótico (E3), corroboram as observações realizadas por Sousa *et al.* (2018) que testaram várias concentrações do fungicida cicloheximida por ingestão e obtiveram uma mortalidade moderada de 45,57%, com uma concentração de 1% para *A. sexdens*.

O fungicida iprodiona apresentou uma mortalidade de 40% por ingestão, com 24 horas após a aplicação do tratamento, na concentração de 30 $\mu\text{L g}^{-1}$, enquanto os fungicidas fluazinam e flutriafol apresentaram apenas 3,33% de mortalidade nas concentrações de 40 e 30 $\mu\text{L g}^{-1}$, respectivamente. Assim, os fungicidas testados não podem ser considerados como potencial formicida, devido a sua baixa mortalidade em alta concentração (menor 50%), considerando o agrupamento em classes distintas de triagem de formicidas, que foram definidas como: (a) Classe I: com uma taxa de mortalidade menor que 90% no final do período de teste, (b) Classe II: compostos que matam rapidamente em altas concentrações (mortalidade acima de 15% após 24 h e maior que 90% no final do período de teste) e causam mortalidade total abaixo de 90% em baixas concentrações, (c) Classe III: compostos de ação retardada com

mortalidade menor que 15% após 24 h, mas acima de 90% no final do período de teste em uma ampla faixa de concentrações, de 1 a 9, (d) Classe IV: semelhante à Classe III, diferindo daqueles por sua ação retardada em uma faixa de concentração de 10 a 99, (e) Classe V: compostos raros com ação retardada em faixas de concentração acima de 100 (Stringer *et al.*, 1964; Lofgren *et al.*, 1967; Vander Meer *et al.*, 1985).

3.4.2 Toxicidade de fungicidas às operárias de *A. laevigata* por contato

Em relação à ação de contato dos fungicidas testados, foi observado, pelos resultados obtidos, que os fungicidas iprodiona, fluazinam e flutriafol apresentaram uma ação de contato nas três concentrações testadas, pois a sobrevivência das operárias de *A. laevigata* foram menores, quando comparadas ao controle, no entanto, foram maiores em relação à sulfluramida, indicando que, mesmo tendo uma ação de contato, essa ação não foi importante e essa baixa ação na mortalidade de operárias pode ser justificada pelo trabalho de Scudillio *et al.* (2023), os quais observaram que o fungicida inibidor de quinona causou 100% de mortalidade em decorrência do *alogrooming* e autolimpeza entre as formigas operárias de *Atta sexdens rubropilosa* e confirmaram a hipótese de que as interações sociais entre as operárias aumentam a dispersão do fungicida e a contaminação por meio dos comportamentos de limpeza, autolimpeza e toque.

Em relação à mortalidade de operárias de *A. laevigata* ao longo do tempo de avaliação, por ação de contato, para os fungicidas utilizados, não foram observadas alterações significativas em relação ao tempo de observação. Em bioensaio de nebulização, verificando a ação de contato dos fungicidas Piraclostrobina, Metconazole e Epoxiconazole, nas concentrações de 0,5, 1,0 e 2,0%, Medeiros (2018) observou que não houve sucesso na aplicação das colônias em laboratório, mesmo os fungicidas tendo apresentado ação no fungo e nas formigas, quando isolados. Em trabalho testando compostos sintéticos contendo o grupo piperonyl, foi observada uma inibição *in vitro* no desenvolvimento de *L. gongylophorus* e uma mortalidade maior do que o controle das operárias de *A. sexdens*, alimentadas com a dieta contendo o composto (Victor *et al.*, 2001).

Uma hipótese para o insucesso de controle do fungo simbionte das formigas cortadeiras com fungicidas é que o fungo libera compostos voláteis que informam às formigas que um substrato é inadequado para seu crescimento (North *et al.*, 1999), no entanto, Sousa *et al.* (2020) não encontraram diferença na proporção de compostos voláteis liberados por jardins de fungos saudáveis ou não saudáveis e concluíram que

nenhum semioquímico volátil é emitido pelo jardim de fungos, devido à ação de substâncias deletérias.

Créditos de autoria

Conceitualização: Ana C. P. Cardoso e Aldenise A. Moreira; Curadoria dos dados: Ana C. P. Cardoso e Aldenise A. Moreira; Metodologia: Ana C. P. Cardoso e Aldenise A. Moreira; Análises estatísticas: Ana C. P. Cardoso; Supervisão e orientação: Aldenise A. Moreira e Maria A. Castellani; Administração de recursos e do projeto: Aldenise A. Moreira; Escrita e revisão: Ana C. P. Cardoso, Aldenise A. Moreira e Maria A. Castellani

Agradecimentos

À Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia – UESB, à Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – CAPES e ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico - CNPq, pelo suporte na condução dos experimentos.

Conflito de Interesses

Os autores declaram não possuir conflito de interesses

3.5 REFERÊNCIAS

- Abbott, W. S. (1925) A method of computing the effectiveness of an insecticide. *Journal of Economic Entomology*, Lanham, 18(1), 265-267. Available from: <http://dx.doi.org/10.1093/jee/18.2.265a>
- Bion, R. (2019) Na contra-mão: o Brasil ainda utiliza o agrotóxico Sulfloramida. *Revista UFSC Ciência*, 3, 3(1), p.33-34.
- Bolton, B.A new general catalogue for the ants of the world. Harvard University Press, Cambridge, MA, 1995.
- 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. (2016) 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*, 3(1) p. 11–92.
- Bueno, O.C. Hebling, M.J.A. & Silva, O.A., Matenhauer, A.M.C. (1995) Effect of sesame (*Sesamum indicum*) on nest development of *Atta sexdens rubropilosa* (Hymenoptera: Formicidae). *Journal of Applied Entomology*, 119, p.341-43.
- Bueno, O.C., (1990). 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. cap. 38, p. 420-426.
- Bueno, O.C., Morini, M.S.C., Pagnocca, F.C., Hebling, M.J.A. & Silva, O.A. (1997) Sobrevivência de operárias de *Atta sexdens rubropilosa* Forel (Hymenoptera: Formicidae) isoladas do formigueiro e alimentadas com dietas artificiais. *Anais da Sociedade Entomológica do Brasil*, 26(1) p. 107-13. Available from: <https://doi.org/10.1590/S0301-80591997000100015>.
- Bueno, F. C., Godoy, M. P., Leite, A. C., Bueno, O. C., Pagnocca, F. C., Fernandes, J. B., Hebling, M. J. A., Bacci, M., Vieira, P. C. & Silva, M. F. G. F. (2005) Toxicity of *Cedrela fissilis* to *Atta sexdens rubropilosa* (Hymenoptera: Formicidae) and its symbiotic fungus. *Sociobiology*, 45(2), p. 389-399.
- Da Silva, J.P., de Souza, L.L., de Melo, C., Neto, S. & Barreira, S. (2020) Inseticidas botânicos no controle de formigas. *Desafios-Revista Interdisciplinar da Universidade Federal do Tocantins*, (7)(4), p. 163-171. Available from: <https://doi.org/10.20873/uftv7-6173>
- Faleiros, M. V., Faleiros, J. H., Oliveira, R. C., Rocha, E. C., Queiroz Luz, J. M., & Arruda, A. da S. (2022) Atividade inseticida do extrato etanólico de *Eugenia dysenterica* (Myrtaceae) sobre formigas cortadeiras. *Scientia Plena*, 18(10). Available from: <https://doi.org/10.14808/sci.plena.2022.107201>
- Fernandes, J. (2022) The Symbiotic Fungus *Leucoagaricus gongylophorus* (Möller) Singer (Agaricales, Agaricaceae) as a Target Organism to Control Leaf-Cutting Ants. *Insects*, 13(4), p. 359. Available from: <https://doi.org/10.3390/insects13040359>
- Fujihara, R.T., De Souza Silva, M. & Forti, L.C. (2013) Manejo de formigas cortadeiras. Tópicos especiais em proteção de plantas. 103p.
- Giesel, A., Boff, M.I.C., Fernandes, P. & Boff, P. (2021) Comportamento forrageiro de formigas cortadeiras *Atta sexdens piriventris* (Santschi), 1919, em ambiente de Campos de Altitude no Sul do Brasil. *Research, Society and Development*, (10)(4), p. e7310413689-e7310413689. Available from: <http://dx.doi.org/10.33448/rsd-v10i4.13689>
- Lemes, P.G., Zanuncio, J.C. (2019) Novidades no controle de formigas. *Revista campo e negócio*. Disponível em: Novidades no controle de formigas -Revista Campo & Negócios. Acesso em: 02 dezembro de 2024.
- Lofgren, C.S., Stringer, C.E., Banks, W.A. & Bishop, P.M. (1967) Laboratory Tests with Candidate Bait Toxicants Against the Imported Fire Ant. *United States Department of Agriculture, Agricultural Research Service*, Beltsville, Maryland, 81-14.
- Marcomini, A.M, Alves, L.F.A., Bonini, A.K., Mertz, N.R. & Santos J.C (2009) Atividade inseticida de extratos vegetais e do óleo de nim sobre adultos de *Alphitobius diaperinus* Panzer (Coleoptera, Tenebrionidae). *Arquivos do Instituto Biológico*, (76)(3), 409-16. Available from: <http://dx.doi.org/10.1590/1808-1657v76p4092009>
- Mariconi, F.A.M. As Saúvas. São Paulo: Agronômica Ceres, 1970. 167p. Medeiros, G. L. S. Toxicidade de fungicidas ao fungo simbionte de *Atta sexdens* (Hymenoptera: Formicidae) e alterações na colônia frente à aplicação dos produtos em diferentes formulações, em condições de laboratório. 2018. 66 f. Dissertação (Mestrado em Sanidade, Segurança Alimentar e Ambiental no Agronegócio) – Instituto Biológico,

Agência Paulista de Tecnologia dos Agronegócios, Secretaria de Agricultura e Abastecimento do Estado de São Paulo, São Paulo.

- Morini, M. S. C., Bueno, O. C., Bueno, F. C., Leite, A. C., Hebling, M. J. A., Pagnocca, F. C., Fernandes, J. B., Vieira, P. C. & Silva, M. F. G. F. (2005) Toxicity of sesame seed to leaf-cutting ant *Atta sexdens rubropilosa* (Hymenoptera: Formicidae). *Sociobiology*, (45) (1), 195-204.
- Nagamoto, N. S., Forti, L. C. & Raetano, C. G. (2007) Evaluation of the adequacy of diflubenzuron and dechlorane in toxic baits for leaf-cutting ants (Hymenoptera: Formicidae) based on formicidal activity. *Journal of Pest Science*, 80, p. 9-13. Available from: <https://doi.org/10.1007/s10340-006-0143-8>
- Nagamoto, N.S., Forti, L.C., Andrade, A.P.P., Boaretto & M.A.C. Wilcken, C.F. (2004) Method for the evaluation of insecticidal activity over time in *Atta sexdens rubropilosa* workers (Hymenoptera: Formicidae). *Sociobiology*, (44)(2) p. 413-431.
- Oliveira, B. M. (2005) Atividade formicida de *Aristolochia trilobata* L. (Aristolochiaceae) sobre formigas cortadeiras. 2015. Dissertação (mestrado em Agricultura e Biodiversidade) – Universidade Federal de Sergipe, 57p.
- Orozco, J. G. C., Leite, L.G., Custódio, B.C., Silva, R.S.A.D., Casteliani, A.G.B. & Travaglini, R. V. (2018) Inhibition of symbiote fungus of the leaf cutter ant *Atta sexdens* by secondary metabolites from the bacterium *Xenorhabdus szentirmaii* associated with entomopathogenic nematodes. *Arquivos do Instituto Biológico*, (85), e0172018. Available from: <https://doi.org/10.1590/1808-1657000172018>
- Pereira, J.R.(2021). Métodos de controle de formigas cortadeiras em sistemas orgânicos de produção: uma revisão. *Revista Ambientale*, (13)(4), 10-24. Available from: <https://doi.org/10.48180/ambientale.v13i4.318>.
- Scudillio, T., Camargo, R. S., Mota Filho, T. M. M., Matos, C. A. O., Zanuncio, J. C., Sabattini, J. A. & Forti, L. C. (2023) Contamination and mortality of leaf-cutting ant workers by the quinone inside inhibitor fungicide after social interactions. *Scientific Reports*, (13)(1), 6169. Available from: <https://doi.org/10.1038/s41598-023-32796-x>.
- Sousa, K. K. A., Camargo, R. S., Forti, L. C. & Caldato, N. (2018) Effects of cycloheximide on the mortality of *Atta sexdens* leaf-cutting worker ants. *Revista Brasileira Entomologia*, (62)(3), 169-171. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.rbe.2018.04.002>.
- Sousa, K. K. A., Catalani, G. C., Gianeti, T. M. R., Camargo, R. S., Caldato, N., Ramos, V. M. & Forti, L. C. (2020) A Volatile Semiochemical Released by the Fungus Garden of Leaf-Cutting Ants. *Florida Entomologist*, (103)(1), 1-8. Available from: <https://doi.org/10.1653/024.103.0401>
- Sujimoto, F. R.(2018) Polimorfismo e polietismo na comunicação química, comportamento de limpeza e trofalaxia em *Atta sexdens rubropilosa* (Hymenoptera: Formicidae). 92 p. Tese (Doutorado em Entomologia) – Universidade de São Paulo, Piracicaba, SP.
- Stringer, C.E., Lofgren, C.S. & Bartley, F.J. (1964) Imported fire ant toxic studies: evaluation of toxicants. *Journal of Economic Entomology*, (57)(6), 941–945. Available from: <https://doi.org/10.1093/jee/57.6.941>
- Vander Meer, R.K., Lofgren, C.S. & Williams, D.F. (1985) Fluoroaliphatic sulfones: a

new class for delayed-action insecticides for control of *Solenopsis invicta* (Hymenoptera: Formicidae). *Journal of Economic Entomology*, (78)(6), 1190–1197. Available from: <https://doi.org/10.1093/jee/78.6.1190>

Victor, S. R. Crisóstomo, F. R., Bueno, F. C., Pagnocca, F. C., Fernandes, J. B., Correa, A. G., Bueno, O. C., Hebling, M. J. A., Bacci Jr, M., Vieira, P. C. & Da Silva, M. F. G. F. (2001) Toxicity of synthetic piperonyl compounds to leaf-cutting ants and their symbiotic fungus. *Pest Management Science*, (57)(7), 603-608. Available from: <https://doi.org/10.1002/ps.333>

Zanetti, R.E., Zanuncio, J.C., Santos, J.C., Silva, W.L.P., Ribeiro, G.T. & Lemes, P.G. (2014) An overview of integrated management of leaf-cutting ant (Hymenoptera: Formicidae) in Brazilian forest plantations. *Forests*, (5)(3), 439-454. Available from: <https://doi.org/10.3390/f5030439>.

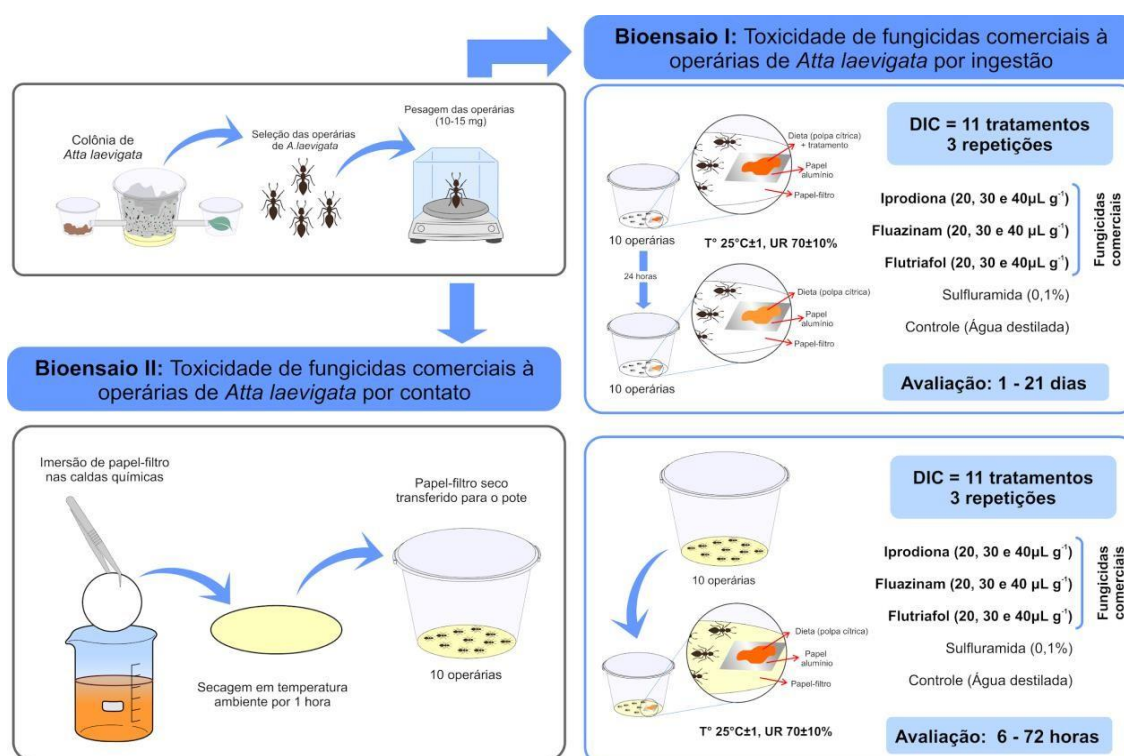


Figura 3.1- Resumo da metodologia de montagem, condução e avaliação dos bioensaios I e II em operárias de *A. laevigata* em laboratório

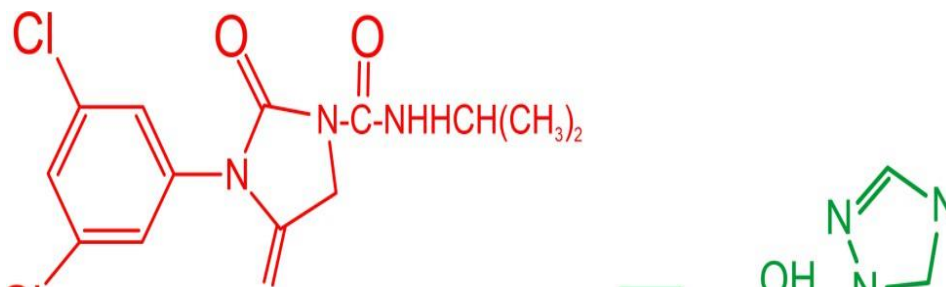


Figura 3.2- Fórmula estrutural dos ingredientes ativos dos fungicidas comerciais utilizados (<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/>)

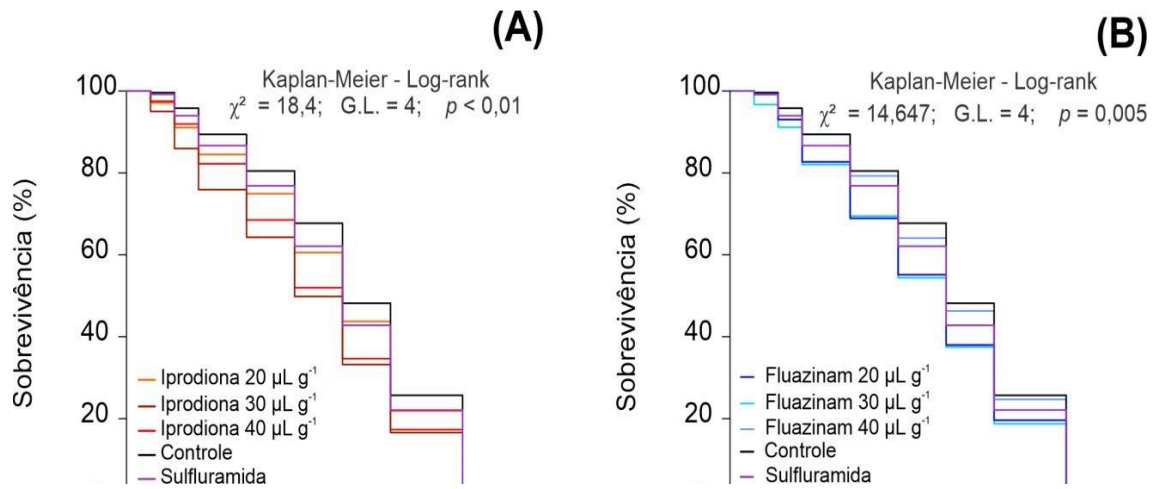


Figura 3.3- Curvas de sobrevivência de operárias de *A. laevigata* expostas à Iprodiona (A) (20, 30 e 40 μL) (C) em

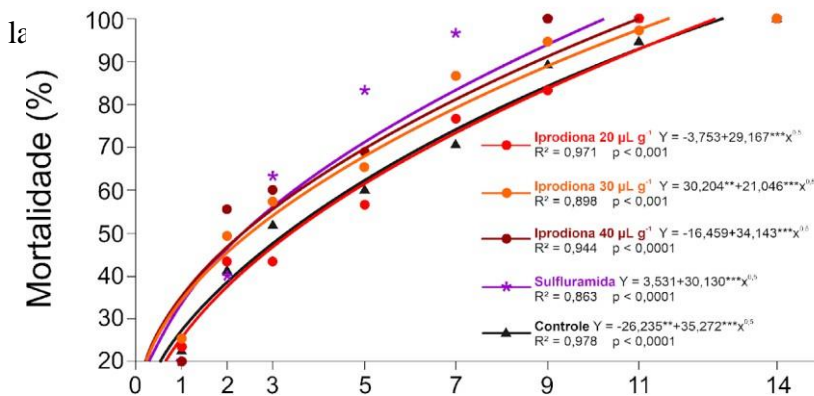


Figura 3.4- Tempo Letal Mediano (TL50) de fungicidas Iprodiona 20 μL (A), 30 μL (B) e 40 μL (C), fluazinam 20 μL (D), 30 μL (E) e 40 μL (F), flutriafol 20 μL (G) 30 μL (H) e 40 μL (I), sulfluramida (J) e controle (K) em operárias de *A. laevigata* em bioensaio de ingestão. Área sombreadas representam Intervalo de Confiança (95%), β = intercepto da curva, n = número de operárias, TL50 = tempo letal necessário para matar 50% da população.

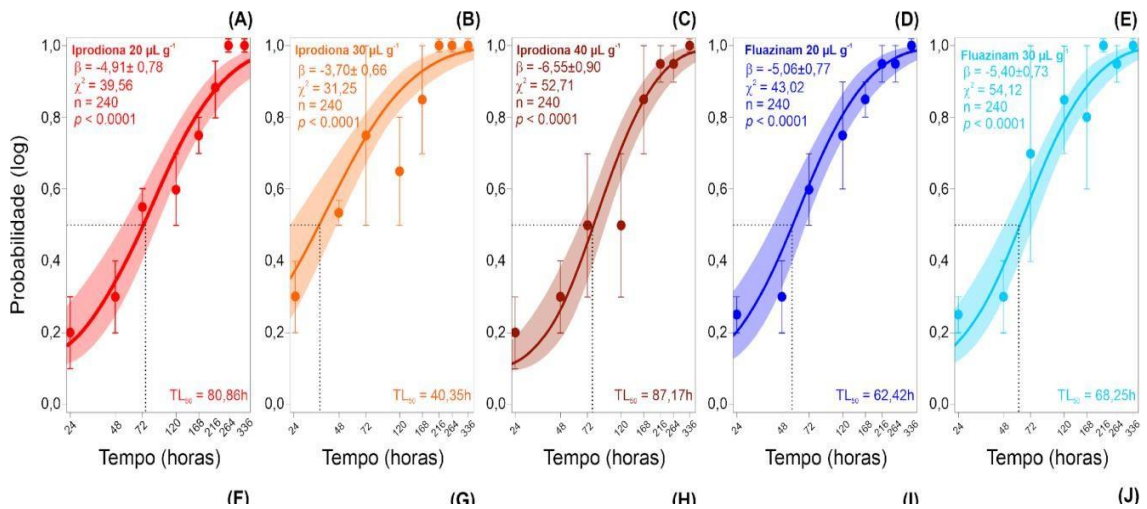


Figura 3.5. Efeito de fungicidas Iprodiona (20 $\mu\text{L g}^{-1}$, 30 $\mu\text{L g}^{-1}$ e 40 $\mu\text{L g}^{-1}$) (A) fluazinam (20 $\mu\text{L g}^{-1}$ e 30 $\mu\text{L g}^{-1}$) (D) em *A. laevigata*.

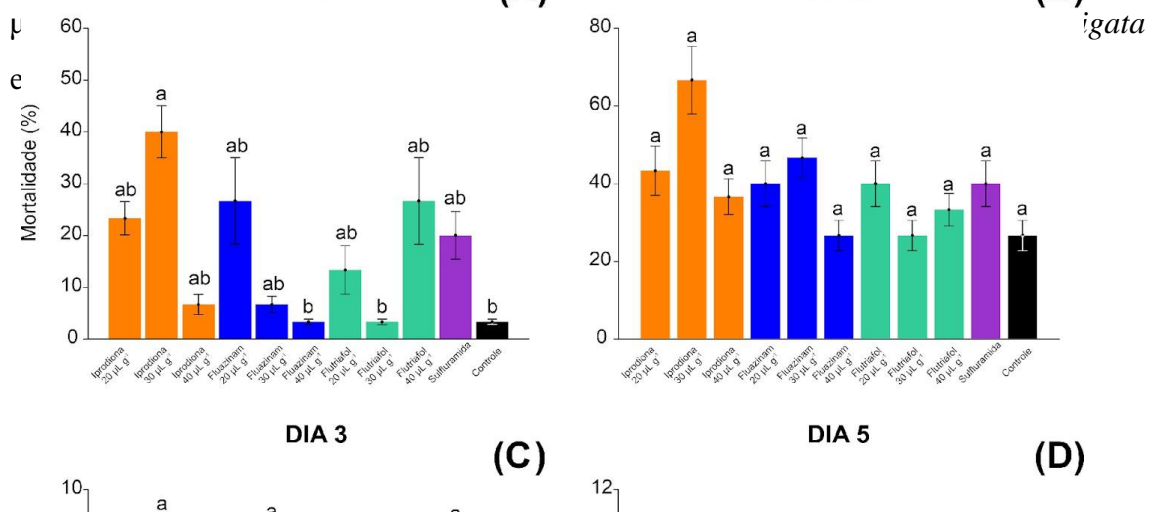


Figura 3.6- Mortalidade de operárias de *A. laevigata* expostas a fungicidas em bioensaio de ingestão em diferentes dias de avaliação: Dia 1 (A), Dia 2 (B), Dia 3 (C), Dia 5 (D), Dia 7 (E), Dia 9 (F) e Dia 11 (G).

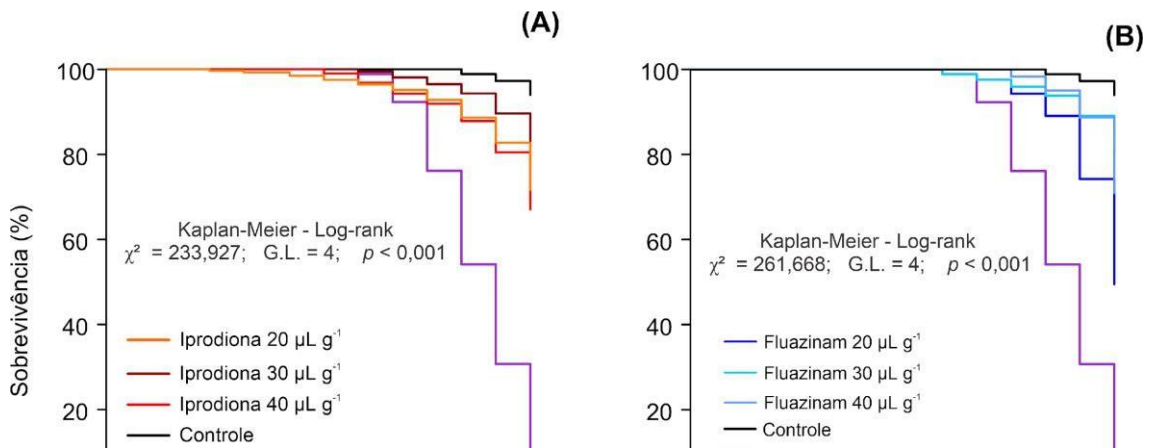


Figura 3.7- Curvas de sobrevivência de operárias de *A. laevigata* expostas à Iprodiona (A) fol (20, 30 e 40 μL) (C) em

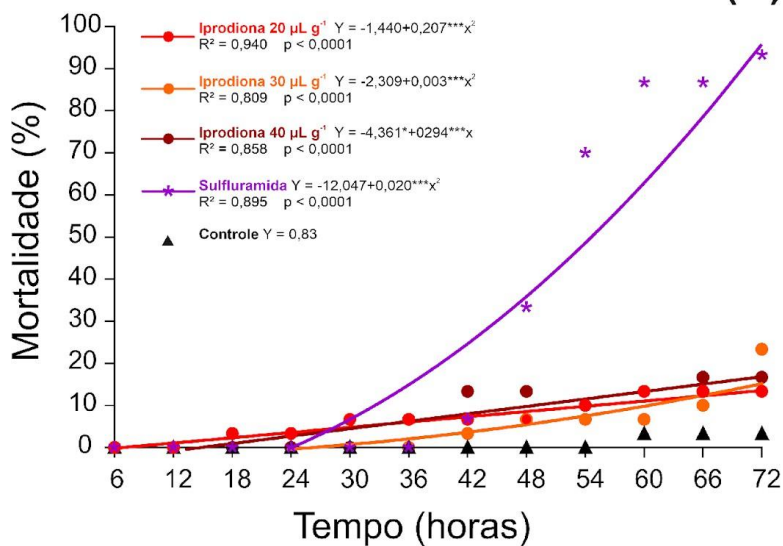


Figura 3.8- Efeito de fungicidas Iprodiona (20 μL , 30 μL e 40 μL) (A), fluazinam (20 μL , 30 μL e 40 μL) (B), flutriafol (20 μL , 30 μL e 40 μL) (C) em operárias de *A. laevigata* em bioensaio de contato em função do tempo de avaliação. Ajuste de regressão a 5% de probabilidade.

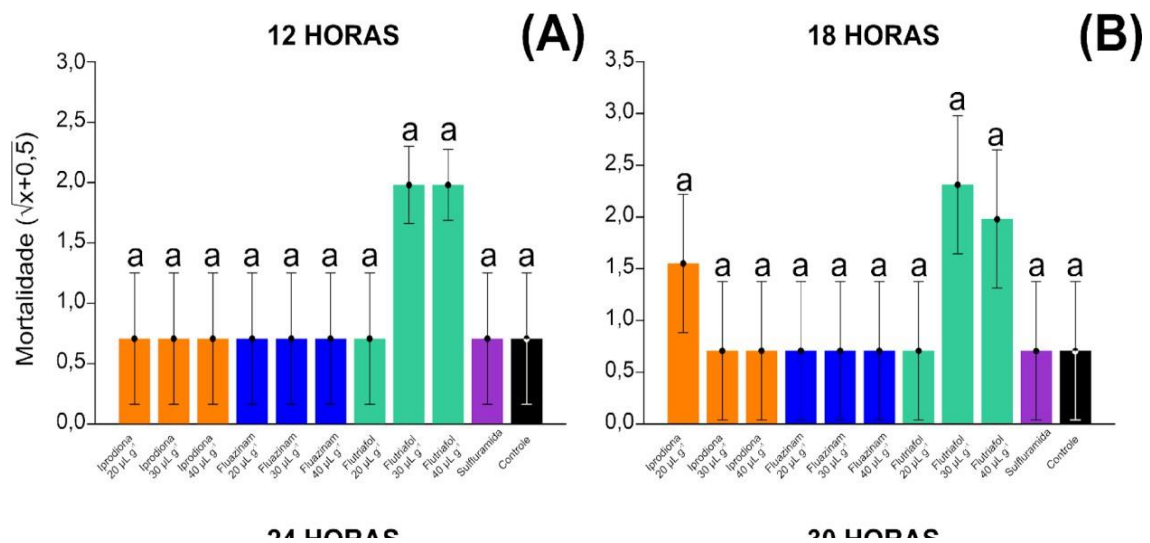


Figura 3.9- Mortalidade de operárias de *A. laevigata* expostas a fungicidas em bioensaio de contato em diferentes dias de avaliação: Dia 1 (A), Dia 2 (B), Dia 3 (C), Dia 5 (D), Dia 7 (E), Dia 9 (F) e Dia 11 (G)

4 ARTIGO 2:

Otimol possui ação de contato às operárias de formigas cortadeiras *Atta laevigata*
(hymenoptera: formicidae)?²

Artigo de Pesquisa Original

Ana C. P. Cardoso¹, Maria A. Castellani¹, Aldenise A. Moreira^{1*}

¹ Departamento de Fitotecnia e Zootecnia- DFZ, Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia, Vitória da Conquista, BA, 45083-300, Brasil.

² Situação: não-submetido

* Autora correspondente: Profa Dr.a. Aldenise Alves Moreira, Programa de Pós-Graduação em Agronomia, Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia – UESB, Vitória da Conquista, BA, 45083-300, Brasil, Telefone: +5577992101582, E-mail: a.moreira@uesb.edu.br.

RESUMO

As formigas cortadeiras são insetos de grande importância econômica em áreas agrícolas, pastagens e reflorestamentos, necessitando da utilização de métodos de controle. Atualmente o único método eficiente é o químico, que vem provocando impactos ambientais indesejáveis. Assim, existe uma necessidade de identificar novas substâncias com ação formicida e fungicida, que apresentem menor impacto à saúde humana e ao meio ambiente. Este trabalho teve como objetivo avaliar a toxicidade do timol às operárias da formiga cortadeira *Atta laevigata* por ação de contato. O estudo foi conduzido no Laboratório de Mirmecologia da Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia (UESB), *campus* de Vitória da Conquista, Bahia. O bioensaio com timol em operárias de *A. laevigata* foi realizado em delineamento inteiramente casualizado (DIC), com seis tratamentos e quatro repetições, totalizando 24 parcelas. Os tratamentos foram: 1. Timol 0,1%; 2. Timol 0,3%; 3. Timol 0,6%; 4. Timol 1,8%; 5. Sulfluramida 0,1% (controle positivo) e 6. Água destilada (controle negativo). Cada repetição consistiu de 20 operárias, com um total de 80 operárias por tratamento e com avaliações até 48 horas após a exposição. Os resultados obtidos com as diferentes concentrações de timol mostraram efeito tóxico de contato às operárias de *A. laevigata*, nos tempos de 24 e 48 horas após a exposição de avaliação, com maior mortalidade nas menores concentrações.

Palavras-chave: Attini, Formigas-cortadeiras, controle químico, agrossistema, ação de contato.

ABSTRACT

Leaf-cutting ants are insects of great economic importance in agricultural areas, pastures, and reforestation, requiring the use of control methods. Currently, the only efficient method is the chemical one, which has been causing undesirable environmental impacts. Thus, there is a need to identify new substances with formicidal and fungicidal action, which have less impact on human health and the environment. This study aimed to evaluate the toxicity of thymol to workers of the leaf-cutter ant *Atta laevigata* by contact action. The study was conducted at the Myrmecology Laboratory of the Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia (UESB), Vitória da Conquista campus, Bahia. The bioassay with thymol on workers of *A. laevigata* was carried out in a completely randomized design (CRD), with six treatments and four replicates, totaling 24 plots. The treatments were: 1. Thymol 0.1%; 2. Thymol 0.3%; 3. Thymol 0.6%; 4. Thymol 1.8%; 5. Sulfluramid 0.1% (positive control); and 6. Distilled water (negative control). Each replicate consisted of 20 workers, with a total of 80 workers per treatment and with evaluations up to 48 hours after exposure. The results obtained with the different thymol concentrations showed a toxic contact effect on *A. laevigata* workers at 24 and 48 hours after exposure, with higher mortality at the lower concentrations.

Keywords: Attini, Leaf-cutting ants, chemical control, agrosystem, contact action.

4.1 INTRODUÇÃO

As formigas cortadeiras habitam o continente americano desde o Sul dos Estados Unidos até o centro da Argentina, e as que pertencem ao gênero *Atta* são popularmente conhecidas como saúvas (FORTI; BOARETTO, 1997). São insetos que tem como hábito o corte de folhas frescas de diversas espécies que, posterior ao corte, são transportadas para o interior dos ninhos e acumuladas nas câmaras, para servir de nutriente para o fungo *Leucoagaricus gongylophorus*, com o qual apresentam uma relação simbiote (SOUZA et al., 2011).

As plantas jovens são as que sofrem os maiores danos ocasionados pelas formigas e, por serem mais vulneráveis e frágeis, podem chegar à morte. Além disso, ocorre também a redução da produção das plantas, diminuição da resistência das mesmas e maior suscetibilidade ao ataque de pragas e doenças (NICKELE et al., 2013).

As formigas cortadeiras são insetos sociais e se dividem em castas, esse comportamento permite uma maior plasticidade a mudanças climáticas e à perda numerosa de indivíduos, pois mesmo com a diminuição da população, não há alteração comportamental e da taxa de coleta de folhas. Esse tipo de organização também torna as formigas de difícil controle, pois, de forma conjunta, elas mantêm a colônia produtiva e protegida, tanto de ataques, como de contaminação do meio externo aos ninhos (BUENO, 2020).

Os métodos de controle utilizados são: controle mecânico, físico-cultural, biológico e químico (Da SILVA et al., 2021). Dentre os métodos citados, o controle químico sintético é o mais utilizado no controle das formigas cortadeiras, sendo a sulfluramida, fipronil, deltametrina e clorpirifós os ingredientes ativos mais usados (BRITO et al., 2016). A Sulfluramida, uma substância popular, é aplicada em forma de iscas granuladas, contudo, em poucos dias se transforma em Perfluorooctanossulfonato (POFS), que é arrastado com a água das chuvas, infiltrando no solo, contaminando lençóis freáticos e mananciais (BION, 2019).

Desse modo, para atender às demandas de mercado e ambientais, são necessários estudos voltados a produtos com menor risco possível à saúde humana e ambiental. Alguns inseticidas botânicos vêm sendo estudados para controle de formigas cortadeiras e vêm apresentando um potencial promissor, principalmente quando se utiliza os compostos isolados (Da SILVA et al., 2020). O timol tem atividade antimicrobiana comprovada (REIS et al., 2023). O potencial formicida do timol está sendo estudado, pois

já se tem vários estudos demonstrando bioatividade com outros insetos-praga, como o *Sitophilus zeamays* (MEMAR et al., 2017), além de ter também atividade antimicrobiana comprovada (REIS et al., 2023).

Há uma grande necessidade de novos produtos eficientes, economicamente viáveis e com menor impacto ambiental para o controle de formigas cortadeiras. Assim, o presente estudo avaliou o efeito formicida do timol em contato com formigas cortadeiras (*Atta laevigata*).

4.2 MATERIAL E MÉTODOS

4.2.1 Local de estudo e material biológico

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

O material biológico para realização do bioensaio foi proveniente das colônias já estabelecidas em laboratório. Para a manutenção das mesmas, são coletadas anualmente rainhas recém-copuladas durante o período da revoada, que ocorre em Vitória da Conquista nos meses de outubro a dezembro. Após o voo nupcial e a cópula, a rainha desce ao solo para iniciar a escavação do novo ninho no solo, para estabelecimento da colônia, nesse momento, são realizadas as coletas das rainhas recém-copuladas e levadas ao laboratório de Mirmecologia da UESB. Nessa fase inicial, a mortalidade das rainhas é bem elevada, chegando a 99,95%, segundo pesquisas de Autuori (1950), são coletadas entre 500 e 1000 rainhas para que possamos conseguir uma sobrevivência de 5 a 10% em laboratório.

Depois de estabelecidas as colônias, são utilizados vários substratos vegetais frescos (folhas de *Acalipha* sp., *Eucalyptus*, *Citrus* e outros) e material seco (quirera de milho e aveia em flocos) para a manutenção das mesmas. Diariamente, era realizada a retirada do lixo e limpeza dos potes para evitar a contaminação das colônias.

Para a condução do bioensaio, além da utilização das operárias de *A. laevigata*, foi também confeccionada uma dieta artificial para manutenção das operárias durante o período de avaliações. A dieta artificial foi produzida conforme metodologia desenvolvida por Nagamoto et al. (2004) e estabelecida pelo Mapa (2009), e consistiu na utilização da polpa cítrica desidratada e moída mais solução de sacarose a 10%, até a formação de uma pasta.

4.2.2 Toxicidade de Timol a operárias de *Atta laevigata* por contato

Para condução deste trabalho, foi usado Timol com 98,5 % de pureza, adquirido da empresa comercial Sygma-Aldrich. As concentrações utilizadas foram 0,1% (T1), 0,3% (T2), 0,6% (T3), 1,8% (T4), Sulfluramida 0,1% (T5) e água destilada (T6). O experimento foi formado por quatro repetições e em cada repetição foram utilizadas 20 operárias, totalizando 80 formigas por tratamento. O delineamento utilizado foi o Inteiramente Casualizado (DIC). O papel filtro (90 mm de diâmetro) foi imerso por 30 segundos em um becker de vidro de 100 ml, contendo a calda referente a cada tratamento. Posteriormente à imersão, os papeis-filtro foram colocados para secar em temperatura ambiente e, após 30 minutos, foram utilizados para forrar o fundo dos potes em que as formigas foram acondicionadas na sequência (Figura 1).

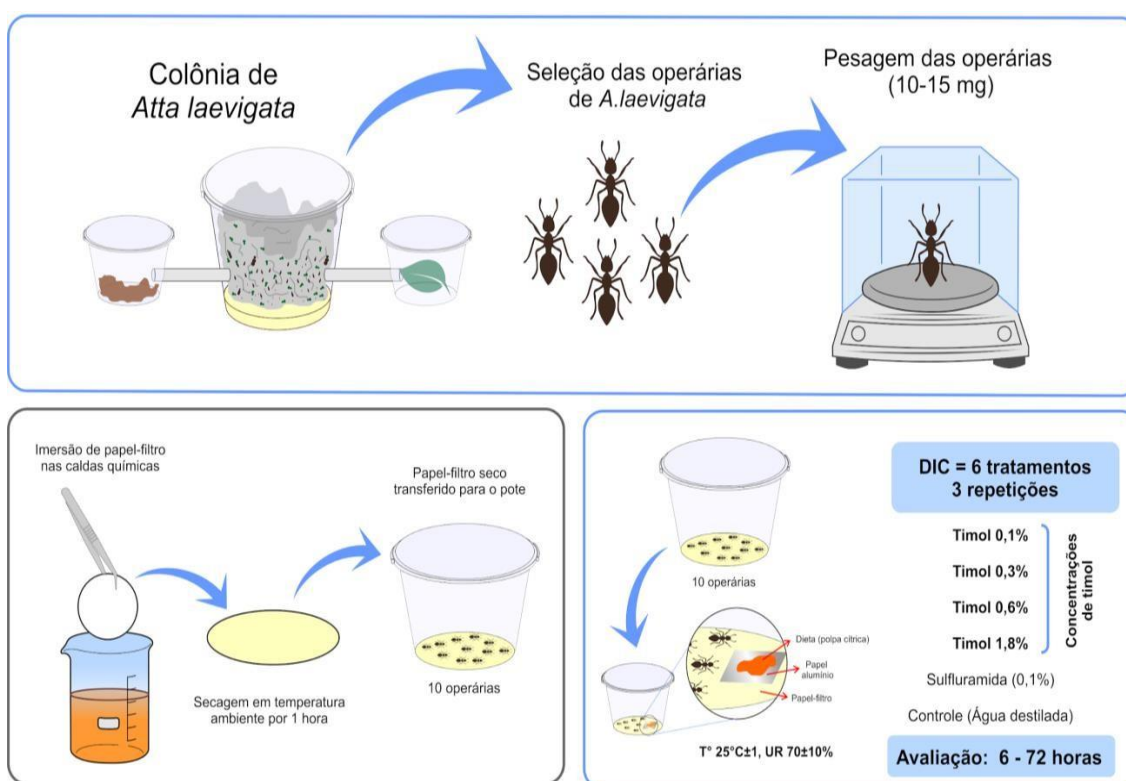


Figura 4.1- Resumo da metodologia de montagem, condução e avaliação do bioensaio sobre a ação do timol às operárias de *Atta laevigata* in vitro.

Em cada pote, foi oferecida uma porção de dieta à base de polpa cítrica para manutenção das operárias, conforme metodologia de Nagamoto et al. (2004) e estabelecida pelo Mapa (2009). As avaliações ocorreram no período de 2, 4, 6, 8, 24 e 48 horas, após o contato das operárias com o papel filtro, sendo observada a mortalidade das mesmas (adaptada de Marcomini et al., 2009).

4.2.3 Análises estatísticas

A toxicidade de Timol em *Atta laevigata* foi determinada através da estimativa da Concentração Letal Mediana (CL50), por meio da função PROC PROBIT do *software* SAS (SAS Institute, SAS, Cary, NC, 2020), seguindo Análise de Probit. Os dados de mortalidade foram submetidos à Análise de Regressão ($p < 0,05$), adotando-se os critérios de seleção de modelos mais simples e significativos (parcimônia), com alto valor de R^2 , alto valor de F e significância a 5% de probabilidade. O ajuste dos modelos de regressão foi executado no *software* TableCurves2D (SYSTAT, San Jose, CA, 2002).

4.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados sobre a toxicidade de timol à *A. laevigata* em bioensaio de contato, sob condições de laboratório, estão apresentados na Tabela 1. Foi verificado que o efeito tóxico do timol nas operárias ocorreu apenas nos tempos de avaliação de 24 e 48 horas, entretanto, foi possível realizar a estimativa da CL50 para apenas o tempo de avaliação de 48 horas. O valor de CL50 estimado foi de 0,045% ($p < 0,0001$). Isso indica que estudos que permitam avaliar as respostas tóxicas do timol em faixas de tempos, no intervalo mínimo de 24 horas, são necessários para determinar se o mesmo possui ação lenta ou retardada, o que é ideal para o uso em iscas tóxicas comerciais.

Compostos químicos de ação tóxica rápida não são interessantes para uso em iscas tóxicas, pois sua rápida ação prejudica a distribuição do ingrediente ativo na colônia, reduzindo sua eficácia (BRITTO et al., 2016).

Tabela 4.1- Toxicidade de timol às operárias de *Atta laevigata* em laboratório por ação de contato

Tempo (horas)	CL ₅₀ (%)	Intercepto (β)	Intervalo de Confiança (95%)	χ^2	p
48	0,045	-1,38 ± 0,26	0,0005822 – 0,10996	27.75	< 0,0001

Análise de Probit, Proc Probit, SAS (SAS Institute, Cary, North Carolina, USA)

Os resultados da análise de regressão indicaram ajuste de modelos significativos simples (24 horas - $\hat{Y} = a+bx^2$; 48 horas - $\hat{Y} = a+bx$) para explicar o efeito do timol na mortalidade de operárias de *A. laevigata*, considerando 24 (Figura 1) e 48 (Figura 2) horas de avaliação

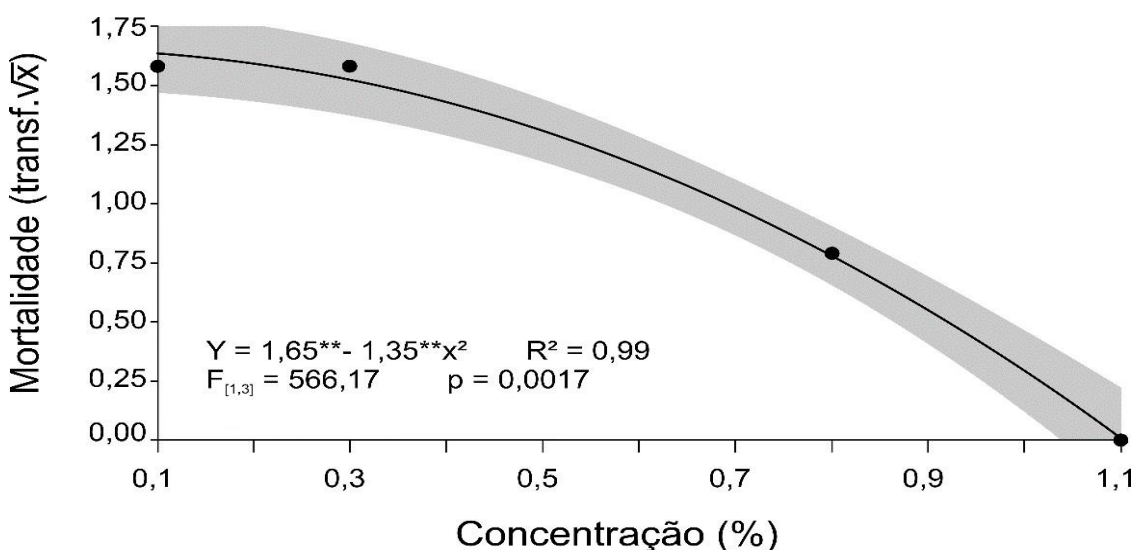


Figura 4.2- Efeito do timol na mortalidade de operárias de *A. laevigata* por ação de contato, 24 horas após a exposição aos tratamentos, sob condições in vitro.

Estudos anteriores mostraram que Cloroacetato de timol apresentou maior toxicidade às operárias de *Acromyrmex balzani*, quando comparado aos outros derivados de timol testados (DANTAS et al., 2023). Contudo, ressalta-se que essa ação tóxica pode ter sido potencializada, devido à presença de cloro na composição da molécula, e não há efeito da concentração (ou dose) sobre a resposta (mortalidade). Os valores de CL50 encontrados para *A. balzani* foi de 2,23 $\mu\text{g mg}^{-1}$, estimada para o timol, outros compostos de plantas também exibiram toxicidade à *A. laevigata*, como é o caso de extrato de *Eugenia dysenterica* (Myrtaceae), com valor de 0,075 a 0,05 g mL^{-1} (FALEIRO et al., 2022). No caso deste trabalho, o valor de CL50 encontrado foi de 0,045%.

Esse resultado indica que o timol exibiu ação tóxica em baixa concentração, o que é uma vantagem, quando se refere à formulação de iscas tóxicas (FORTI et al., 2007). Estudos com extratos do pseudocaule de *Musa acuminata* (Musaceae) mostraram que, na concentração de 20%, houve mortalidade de 90% de operárias de *Atta sexdens rubropilosa* (SILVA et al., 2018). Compostos de plantas que exibem ação tóxica em insetos, em geral, possui ação neuromuscular e, no caso do timol, sua ação está ligada aos receptores octopaminérgicos, que são exclusivos dos insetos (SOUZA et al., 2017; DANTAS et al., 2023). O modelo de regressão indicou que a mortalidade das operárias de *A. laevigata* em 24 horas apresentou um padrão de decréscimo, a partir do ponto de máxima de mortalidade (1,71%), na concentração de 0,118%; a partir desse valor, a mortalidade reduziu suavemente até atingir valor nulo na maior concentração utilizada (Figura 1).

Considerando o tempo de avaliação de 48 horas, o modelo selecionado foi linear negativo, ou seja, à medida que houve aumento nas concentrações de timol, a mortalidade de operárias reduziu (Figura 2).

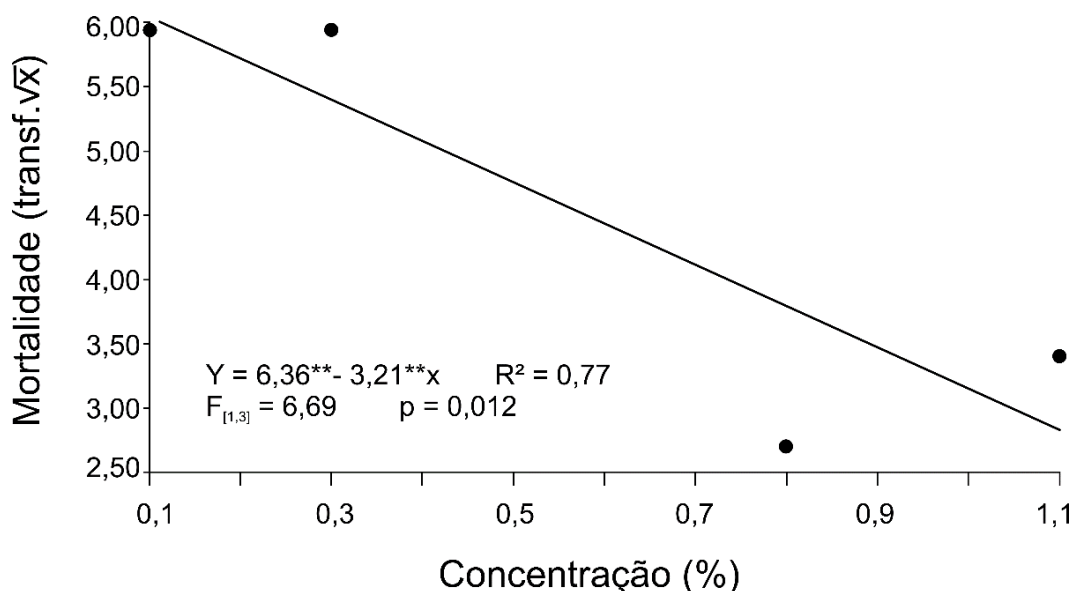


Figura 4.3 –Efeito do timol na mortalidade de operárias de *A. laevigata* por contato, 24 horas após a exposição aos tratamentos, sob condições in vitro.

A ação tóxica de compostos de plantas provenientes da Caatinga foi documentada para *Atta sexdens* em laboratório. Os resultados mostraram toxicidade moderada (~40%) desses compostos, contudo, os estudos foram realizados com extratos brutos, dessa forma, várias moléculas, ou algumas moléculas em sinergia, poderiam exibir potencial tóxico às formigas (Gomes et al., 2016). Seria crucial, para o desenvolvimento de novos produtos, o isolamento e caracterização das moléculas, bem como novos bioensaios em laboratório. Uma vantagem do timol é que sua composição e sua ação tóxica em insetos já têm sido conhecidas (Peneder e Koschier, 2011; Lazarević et al., 2022).

O mecanismo de ação do timol nos receptores octopaminérgicos pode levar a efeitos subletais importantes e que merecem investigações, como, por exemplo, alterações no comportamento de operárias, visto que as atividades de forrageamento, corte, transporte, entre outras, desenvolvidas por indivíduos pertencentes a esta casta, requer aprendizado e o desenvolvimento de funções cognitivas para tal (Muratore et al., 2022). Sendo assim, eventuais alterações nas habilidades causadas pelo timol podem ser aliadas no manejo dessas pragas. Além disso, são necessárias investigações mais profundas sobre o efeito do timol, considerando as particularidades dessas formigas, como no caso do cultivo do

fungo simbiote, para verificar se as moléculas apresentam potencial fungicida.

4.4 CONCLUSÃO

O timol exibe efeito tóxico em operárias de *A. laevigata* em laboratório em bioensaio de contato. Efeitos tóxicos do composto ocorre nos tempos de 24 e 48 horas de avaliação. Menores concentrações de timol resultam em maior mortalidade de operárias de *A. laevigata* em bioensaio de contato, sob condições de laboratório.

AGRADECIMENTOS

À Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia – UESB, à Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – CAPES e ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico – CNPq, pelo suporte na condução dos experimentos.

4.5 REFERÊNCIAS

- BION, R. Na contra-mão: o Brasil ainda utiliza o agrotóxico Sulfluramida. **Revista UFSC Ciência**, 1: 33-34, 2019.
- BRITTO, J. S. et al. 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**, 3: 11-92, 2016.
- DANTAS, J. O. et al. Formicidal Potential of Thymol Derivatives: Adverse Effects on the Survival and Behavior of *Acromyrmex balzani*. **Agriculture**, 13: 1410, 2023.
- FALEIROS, M. V. et al. Atividade inseticida do extrato etanólico de *Eugenia dysenterica* (Myrtaceae) sobre formigas cortadeiras. **Scientia Plena**, 18: 1-9, 2022.
- FORTI, L.C.; Boaretto, M.A.C. Formigas cortadeiras: biologia, ecologia, danos e controle. Botucatu: Departamento de Defesa Fitossanitária, Universidade Estadual Paulista, 61p, 1997.
- FORTI, L. C. et al. Dispersal of the delayed action insecticide sulfluramid in colonies of the leaf-cutting ant *Atta sexdens rubropilosa* (Hymenoptera: Formicidae). **Sociobiology**, 50: 1149-1164, 2007.
- REIS, D. L. R. S.; Carneiro, A. B.; Cruz, V. D.; Fernandes, E. H. M.; Knoechelmann, C. M.; Aa Silva Siqueira, F. F. Potencial de plantas inseticidas no controle de formigas cortadeiras no Brasil. **Unisanta BioScience**, 12: 17-39, 2023.
- SOUZA, M.S.; Peres Filho, O.; Dorival, A. Efeito de extratos naturais de folhas vegetais em *Leucoagaricus gongylophorus* (Moller) Singer, (Agaricales: Agaricaceae). **Ambiência**, 7: 461-471, 2011.
- SOUZA, B.R. et al. Topical toxicity of *Esenbeckia pumila* extracts on leaf-cutting ants *Atta laevigata* and *Acromyrmex balzani*. **Journal of Agricultural Science**, 9: 248-258, 2017.

- SILVA, T.C. et al. *Musa acuminata* pseudo stem extract on the control of *Atta sexdens rubropilosa*. 2019.
- SILVA, J.P. da; Souza et al. (Inseticidas botânicos no controle de formigas. Desafios-Revista Interdisciplinar da Universidade Federal do Tocantins, 7: 163-171, 2020.
- GOMES, M. C. A. R. et al. Toxicity of plant extracts from Bahia, Brazil, to *Atta sexdens sexdens* workers (Hymenoptera: Formicidae). **Sociobiology**, 63: 770-776, 2016.
- Acanthoscelides obtectus Say. **Frontiers in Physiology**, 13: 842314, 2022.
- PENEDER, S.; KOSCHIER, E.H. Toxic and behavioural effects of carvacrol and thymol on *Frankliniella occidentalis* larvae. **Journal of Plant Diseases and Protection**, 118: 26-30, 2011.
- MEMAR, M. Y.; Raei, P.; Alizadeh, N.; Aghdam, M. A.; Kafil, H, S. Carvacrol and thymol: Strong antimicrobial agents against resistant isolates. **Reviews and Research in Medical Microbiology**, 28: 63-68, 2017.
- MURATORE, I. B.; FANDOZZI, E. M.; TRANIELLO, J. F. A. Behavioral performance and division of labor influence brain mosaicism in the leafcutter ant *Atta cephalotes*. **Journal of Comparative Physiology A**, 20: 325-344, 2022.
- NICKELE, M. A.; Pie, M. R.; Reis Filho, W.; Penteadó, S. D. R. C. Formigas cultivadoras de fungos: estado da arte e direcionamento para pesquisas futuras. Embrapa Florestas - Artigo em periódico indexado (ALICE), 2013.

5 CONSIDERAÇÕES FINAIS

A busca por moléculas de ação tóxica para integrar o manejo de *A. laevigata* tornou-se uma necessidade, se levar em conta as restrições aos compostos inseticidas atuais das iscas tóxicas. Essa necessidade tem levado à procura de moléculas seguras à saúde humana e ambiental, bem como eficiência no controle dessas pragas de grande importância econômica.

Neste trabalho, os resultados têm indicado compostos promissores para uso no controle de *A. laevigata*. Os fungicidas comerciais e o timol exibiram toxicidade à *A. laevigata* em vias de ingestão e contato, o que abre novas portas para investigações mais aprofundadas, como o efeito desses compostos no comportamento social e na distribuição dos ingredientes ativos nos ninhos, sendo necessários estudos em condições de campo para validar as informações geradas com este trabalho. Além disso, estudos voltados para o potencial fungicida do timol também merecem atenção.