



UNIVERSIDADE ESTADUAL DE GOIÁS  
CÂMPUS IPAMERI  
Programa de Pós-Graduação em Produção Vegetal



TOXICIDADE TÓPICA DE EXTRATOS DA  
RUTACEAE *Esenbeckia pumila* EM OPERÁRIAS  
DE FORMIGAS-CORTADEIRAS *Atta laevigata* E  
*Acromyrmex balzani*

**BRENDA RODRIGUES DE SOUZA**

**MESTRADO**

**Ipameri-GO  
2017**

BRENDA RODRIGUES DE SOUZA

**TOXICIDADE TÓPICA DE EXTRATOS DA RUTACEAE**  
***Esenbeckia pumila* EM OPERÁRIAS DE FORMIGAS-**  
**CORTADEIRAS *Atta laevigata* E *Acromyrmex balzani***

Orientador: Prof. Dr. Márcio da Silva Araújo

Dissertação apresentada à Universidade Estadual de Goiás – UEG, Câmpus Ipameri como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação *Stricto Sensu* em Produção Vegetal para obtenção do título de MESTRE.

Ipameri

2017

Souza, Brenda Rodrigues de.

TOXICIDADE TÓPICA DE EXTRATOS DA  
RUTACEAE *Esenbeckia pumila* EM OPERÁRIAS DE  
FORMIGAS-CORTADEIRAS *Atta laevigata* E *Acromyrmex*  
*balzani*/ Brenda Rodrigues de Souza. - 2017.

22 f.il.

Orientador: Prof. Dr. Márcio da Silva Araújo.

Dissertação (Mestrado) – Universidade Estadual de  
Goiás, Câmpus Ipameri, 2017.

Bibliografia.

1. Planta inseticida. 2. Attini. 3. Mortalidade. I. Título.

## CERTIFICADO DE APROVAÇÃO

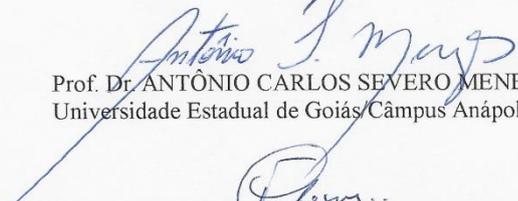
**TÍTULO:** “TOXICIDADE TÓPICA DE EXTRATOS DA RUTACEAE *Esenbeckia pumila* EM OPERÁRIAS DE FORMIGAS-CORTADEIRAS *Atta laevigata* E *Acromyrmex balzani*”

**AUTORA:** Brenda Rodrigues de Sousa

**ORIENTADOR:** Márcio da Silva Araújo

Aprovada como parte das exigências para obtenção do Título de MESTRE EM PRODUÇÃO VEGETAL, pela comissão Examinadora:

  
Prof. Dr. MÁRCIO DA SILVA ARAÚJO  
Universidade Estadual de Goiás/Câmpus Ipameri-GO

  
Prof. Dr. ANTÔNIO CARLOS SEVERO MENEZES  
Universidade Estadual de Goiás/Câmpus Anápolis-GO

  
Prof. Dr. FLÁVIO GONÇALVES DE JESUS  
Universidade Estadual de Goiás/Câmpus Ipameri-GO

Data da realização: 17 de abril de 2017

Ao meu filho Davi meu maior tesouro,  
Ao meu esposo Anderson.  
Aos meus queridos pais, Maria José e João Esmar,  
Ao meu amado irmão, Henrique.

Dedico com todo carinho!!

## AGRADECIMENTOS

A Deus e Nossa Senhora, por me manter em pé nos dias mais difíceis e nunca me desamparar.

Ao Programa de Pós-graduação em Produção Vegetal (PPGPV) e a Universidade Estadual de Goiás (UEG) pela oportunidade e infraestrutura concedida para realização deste trabalho.

Aos professores e a secretária do PPGPV por estar sempre prontos para esclarecer e ajudar no que fosse preciso.

Ao meu orientador professor Dr. Márcio, por toda dedicação, pelo seu suporte, encorajamento, pela amizade e confiança, por me auxiliar a tornar concreto o desejo de ser mestre, não tenho palavras para expressar minha gratidão e admiração. “Muito obrigada por tudo”.

Aos amigos Gustavo, Esther e Vitor por me auxiliarem nas atividades do projeto e na realização dos experimentos. “Sem vocês eu não teria conseguido”.

A querida Joseliana, por estar sempre à disposição, auxiliando e ajudando nos laboratórios.

Ao professor Dr. Antônio Carlos Severo Menezes e o professor Dr. Flávio Gonçalves de Jesus, por aceitarem o convite para avaliar essa dissertação.

Ao professor Ednaldo Cândido Rocha, pelo apoio e dedicação na parte estatística da pesquisa.

Aos meus pais Maria e João, por me darem a oportunidade de viver, por me ensinarem o caminho do bem, da humildade e do caráter. Ao meu irmão por sempre me apoiar e se fazer sempre presente mesmo distante. “Não sei o que seria de mim sem vocês”.

Ao meu filho Davi, por me fazer uma pessoa melhor, por me proporcionar momentos de tamanha alegria que não há como expressar, pelos momentos difíceis também que me fizeram mais forte. “Te amo filho, é por você todo meu empenho”.

Ao meu esposo, por sempre estar presente, por nunca me desamparar, pela compreensão, e incentivo. “Sem você seria muito mais difícil”.

À minha sogra e meu sogro, pelo incentivo, apoio e suporte, sempre dispostos a me ajudar. “Obrigada por tudo”.

Á minha querida amiga Heliana, que levarei no meu coração para sempre, obrigada por ser essa irmã que não tive, que mesmo distante me ajudava, e me acalmava nos momentos difíceis. “Conte sempre comigo, amo você”.

Á minha amada amiga Lívía, que sempre estava sempre pronta para me fazer companhia, sempre me acalmando e ajudando. “Obrigada por tudo amiga, saiba que pode contar comigo sempre que precisar também, amo!!

Aos colegas do mestrado por todos os momentos vividos, que com certeza me ajudou. “Torço por todos, e podem sempre contar comigo”.

A UEG, pela concessão da bolsa de estudos durante um ano, que sem esse auxílio não seria possível todo esforço e dedicação.

Por fim, a todos que de modo direto ou indireto possibilitaram a realização deste trabalho.

## SUMÁRIO

	Página
RESUMO.....	iii
ABSTRACT.....	iv
1. INTRODUÇÃO .....	01
2. REVISÃO DE LITERATURA.....	02
2.1. As formigas cortadeiras.....	02
2.2. A saúva <i>Atta laevigata</i> .....	02
2.3. A quenqué <i>Acromyrmex balzani</i> .....	03
2.4 A problemática do controle de formigas-cortadeiras.....	04
2.5. Os inseticidas botânicos e as formigas-cortadeiras.....	04
3. OBJETIVO.....	07
4. MATERIAL E MÉTODOS .....	08
4.1. Os extratos testados.....	08
4.2. Ensaio biológico.....	08
4.1.1. As formigas-cortadeiras.....	08
4.1.2. A Aplicação tópica dos extratos.....	09
5. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	11
6. CONCLUSÕES .....	17
7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....	18

## RESUMO

O uso indiscriminado de defensivos químicos sintético aliado à peculiar dificuldade de desenvolvimento de formulações formicidas de efeito retardado para controle de formigas-cortadeiras têm incentivado a busca por produtos formicidas alternativos. Assim, neste trabalho, foi avaliada a toxicidade de extratos vegetais da Rutaceae *Esenbeckia pumila* para as operárias de formigas-cortadeiras *Atta laevigata* e *Acromyrmex balzani*. Extrato etanólico de folhas e frutos de *E. pumila* foram fracionados, utilizando-se solventes por ordem crescente de polaridade. Tal processo foi realizado por meio de filtração a vácuo após a incorporação do adjuvante celulose microcristalina D ao extrato etanólico. Desse processo foram obtidas cinco frações de folhas: extrato hexânico de folhas de *E. pumila* (EPFEH), extrato etonólico de folhas de *E. pumila* (EPFE), extrato diclorometânico de folhas de *E. pumila* (EPFED), extrato acetato-etílico de folhas de *E. pumila* (EPFEA), extrato metanólico de folhas de *E. pumila* (EPFEM) e, extrato etanólico de frutos de *E. pumila* (EPFrE). Essas frações, em diferentes concentrações foram aplicadas topicamente nas operárias das formigas-cortadeiras de *A. laevigata* e *A. balzani*. A toxicidade (mortalidade de operárias) em função de dose das frações de *E. pumila* foram estimadas por curvas de Probit. Também, foi plotado a taxa de mortalidade ao longo do tempo após exposição das operárias a esses extratos. Todas as frações de extratos da planta testada mostraram efeito formicida quando comparada ao controle, sem aplicação do extrato da planta. Todas as frações dos extratos testadas mostraram-se mais tóxicas para a saúva *A. laevigata*, quando comparada à quenquém *A. balzani*. Pequena proporção de operárias mortas nas primeiras horas após aplicação dos extratos quando comparado às operárias mortas após maior tempo da exposição dos extratos sugerem efeito retardado de todos os extratos da *E. pumila*.

**Palavras-chave:** Planta inseticida; Attini; Mortalidade;

### ABSTRACT

The indiscriminate use of synthetic chemical pesticides along with the peculiar difficulties of developing formicidal formulations of delayed effect to control leaf-cutting ants have encouraged the search for alternative products. Thus, in this work, the toxicity of plant extracts of *Esenbeckia pumila*, Rutaceae, was evaluated for leaf-cutter ant (*Atta laevigata* and *Acromyrmex balzani*). Ethanolic extract of leaves and fruits of *E. pumila* were fractionated, using solvents in increasing order of polarity. This process was carried out using vacuum filtration after incorporation of the microcrystalline cellulose D adjuvant to the ethanolic extract. Five leaf fractions were obtained: *E. pumila* (EPFEH); *E. colum* (EPFE); *E. pumila* dichloromethane extract (EPFED); *E. pumila* ethyl acetate extract (EPFEA); *E. pumila* methanolic extract (EPFEM); and *E. pumila* ethanolic fruits extract (EPFrE). These fractions, in different concentrations, were applied topically to *A. laevigata* and *A. balzani* workers. The toxicity (worker mortality) as due to the dose of the fractions of *E. pumila* were estimated by Probitmodel. Also, the mortality rate was plotted over time after exposing the workers to these extracts. All the extracts fractions of the tested plant showed a formicidal effect when compared to the control, without application of the plant extract. All fractions of the tested extracts showed to be more toxic to the herbal *A. laevigata*, when compared to the others *A. balzani*. A small proportion of workers was dead in the first hours after application of the extracts when compared to the dead workers after longer exposure of the extracts suggest delayed effect of all the extracts of *E. pumila*.

**Keywords:** Insecticide; Attini; Mortality;

## 1. INTRODUÇÃO

Nos dias atuais, o principal método de controle de formigas-cortadeiras continua sendo as iscas formicidas granuladas. Mesmo sendo essas iscas envenenadas comercializadas pertencentes à classe toxicológica “verde”, que representa reduzido perigo para trabalhadores e meio ambiente, ainda existem controvérsias sobre real segurança dessas iscas para o homem e o meio ambiente em geral. Assim, a busca por produtos alternativos eficiente menos danoso ao meio ambiente, menos tóxicos e de menor custo deve ser uma constante pela comunidade científica.

Como alternativa, pesquisas diversas têm investigado o potencial efeito formicida de várias plantas. Dentre enorme diversidade de plantas, algumas famílias como Meliaceae, Rutaceae, Asteraceae, Annonaceae, Labiatae e Canellaceae têm se destacado por apresentarem propriedades inseticidas (VIEGAS JR., 2003; AGUIAR-MENEZES, 2005; GURULINGAPPA et al., 2009). Embora já sejam conhecidos os efeitos tóxicos de alguns inseticidas de origem vegetal como a nicotina, a azadiractina, as rotenonas e as piretrinas, pouca informação se tem sobre outras potenciais plantas tóxicas que interfiram sobre os insetos, particularmente sobre as formigas-cortadeiras e seu fungo simbiote. Estudos mostrando efeito formicida ou algum outro efeito deletério em colônias de formigas-cortadeiras, principalmente em *Atta* spp. têm sido realizados. A maioria desses trabalhos trata somente da toxicidade de extratos brutos ou de compostos químicos isolados de algumas delas para formigas-cortadeiras, sem, contudo, apresentarem alguma aplicação prática de controle, o que indica, ainda, um vasto caminho a ser explorado na pesquisa para busca de novos produtos para utilização em controle dessa praga.

Neste estudo foi investigado a toxicidade aguda de extratos de folhas e frutos da planta *Esenbeckia pumila*, uma Rutaceae, comumente encontrada em ambiente de cerrado goiano, sobre operárias de duas relevantes espécies de formigas-cortadeiras, *Atta laevigata* e *Acromyrmex balzani*.

## 2. REVISÃO DE LITERATURA

### 2.1. As formigas-cortadeiras: considerações gerais

As formigas da tribo Attini (cultivadoras de fungo) são primariamente neotropicais, com poucas espécies ocorrendo secundariamente na região Neártica (BRANDÃO et al., 2011). São conhecidos 16 gêneros de atíneos, distribuídos em 297 espécies (BOLTON, 2006; BRANDÃO et al., 2011). Dentre os atíneos, destacam-se os gêneros *Atta* (saúvas) e *Acromyrmex* (quenquéns), que são consideradas as principais pragas da agricultura e do setor florestal de países latino americanos, notadamente o Brasil. O gênero *Acromyrmex* é encontrada entre as latitudes 34° N e 41°S e, *Atta*, entre as latitudes 32°N e 33°S, ocorrendo em qualquer tipo de vegetação (DELABIE et al., 2011). Essas formigas cortam e transportam para o interior de seus ninhos, grandes quantidades de folhas frescas da maioria das plantas cultivadas pelo homem (DELLA LUCIA e SOUZA, 2011).

Segundo Della Lucia e Souza (2011), estimativas de danos diretos provocadas nas plantações pelas formigas-cortadeiras *Atta* e *Acromyrmex* são escassos devido à complexidade de sua aferição e, assim, muitos deles, são apresentados de forma, muitas das vezes, empírica. Entretanto, em todos esses estudos são apresentados números de intensidade de desfolha e custos de controle que destacam o potencial de dano provocado por essa praga nas culturas. Grande parte desses estudos foram realizados em plantações de *Eucalyptus* no Brasil, onde, sabidamente, essas formigas são as principais pragas (OLIVEIRA et al., 2014; ZANETTI et al., 2014). Para outras culturas e pastagens, os prejuízos ocasionados por formigas-cortadeiras são também expressivos (DELLA LUCIA, 1999). Indiretamente, os danos provocados por *Acromyrmex* e *Atta* devem-se aos grandes ninhos construídos sob o solo pelas operárias dessas formigas, que podem provocar prejuízos em construções como pontes, rodovias, represas, prédios, túmulos e outros. Também, indiretamente, pela expressiva quantidade de inseticidas distribuídos no ambiente, para o seu controle, que provoca efeitos negativos adversos.

### 2.2. A saúva *Atta laevigata*

A espécie *Atta laevigata* (F. Smith, 1858), vulgarmente conhecida como “saúva-cabeça-de-vidro”, ocorre no Brasil, Colômbia, Venezuela, Guiana, Bolívia e Paraguai (Mariconi, 1970) e, particularmente no Brasil, ocorre nos estados de São Paulo, Amazonas, Roraima, Pará, Maranhão, Ceará, Pernambuco, Alagoas, Bahia, Minas Gerais, Rio de Janeiro, Mato Grosso, Goiás, Paraná, Roraima, Piauí e Sergipe (DELLA LUCIA et al, 1993). Além desses locais, registrados por esses autores, em época mais recente, Rando e Forti (2005) relatam essa espécie no Estado do Acre. Segundo Vinha (2007), *A. laevigata* tem sido verificada em um número

cada vez maior de localidades, devido principalmente, à abertura de rodovias e à expansão da pecuária, que servem como meios para a dispersão da espécie.

Externamente, de maneira geral, os ninhos de *A. laevigata* apresentam um amontoado de terra solta, denominado popularmente de “murundu”. Sob o solo, a profundidade e número de câmaras dos ninhos de *A. laevigata* variam em função da idade da colônia e do tipo de solo onde estão presentes. Moreira et al. (2004) escavaram colônias adultas dessa espécie de saúva e encontraram número de câmaras variando de 1149 a 7864 e, algumas dessas câmaras podendo estar localizadas numa profundidade de 7,0 m da superfície.

A saúva-cabeça-de-vidro é uma praga de pastagens, florestas cultivadas, cana-de-açúcar e plantas cultivadas em geral, com registro de danos a eucaliptos, pinheiros, milho, mandioca e coqueiros novos (GONÇALVES, 1951; GONÇALVES, 1960).

### **2.3. A quenquém *Acromyrmex balzani***

*Acromyrmex balzani* (Emery, 1890), vulgarmente conhecida como “quenquém boca-de-cisco, formiga-rapa-rapa, formiga-rapa e formiga-meia-lua”, ocorre no Brasil, Paraguai, Uruguai, Argentina, Peru e Bolívia (BRANDÃO, 1991) e, particularmente no Brasil, ocorre nos Estados de São Paulo, Minas Gerais, Santa Catarina, Goiás e Mato Grosso (MAYHÉ-NUNES, 1991). Além desses locais, registrados por esses autores, em época mais recente, Rando e Forti (2005) relatam essa espécie no Estado do Acre e, mais recente ainda, Delabie et al (2011) sugerem que a ocorrência dessa espécie é muito mais ampla do que essa apresentada por esses autores, distribuindo-se por quase todo os Estados do País. Segundo Vinha (2007), *A. balzani* tem sua história taxonômica marcada por controvérsias, que residem no fato de ser considerada como uma espécie ou uma subespécie de *Acromyrmex landolti* Forel, 1884 (FOWLER, 1988; GONÇALVES, 1961; MAYHÉ-NUNES, 1991).

Externamente, os ninhos de *A. balzani* são bastante característicos, apresentando um único olheiro de entrada do ninho, em forma de torre, construído de fragmentos de palhada de gramínea seca, principalmente e, próximo e esse olheiro, além de amontoado de terra em forma de “meia-lua” (de onde origina-se um dos seus nomes populares), apresenta um amontoado de lixo, composto basicamente de restos de fungo e operárias mortas, descartados pelas operárias da colônia (MENDES et al., 1992; PIMENTA et al., 2007). Internamente, apresenta inúmeras câmaras superpostas, ligadas por estreitas galerias. Geralmente, com quatro a cinco câmaras (PIMENTA et al., 2007).

*A. balzani* tem o *status* de “famigerada” cortadeira de gramíneas, amplamente distribuída e prejudicial à agropecuária, sendo comum em pastagens, principalmente no Brasil, mas também em alguns outros ambientes como a restinga ou o meio urbano. Por essa razão, Delabie

et al. (2011), acreditam que seja muito provável que essa espécie seja um invasor recente na maior parte da sua área de distribuição atual, oriundo de uma população naturalmente ambientada em habitats onde o extrato herbáceo prevalece, como cerrado, campos ou restinga.

#### **2.4.A problemática do controle de formigas-cortadeiras**

Segundo Della Lucia e Araújo (2000), a grande quantidade de inseticidas usada para o controle de formigas-cortadeiras, principalmente iscas granuladas envenenadas, aliada ao alto custo de operação do seu combate têm despertado a atenção da comunidade científica para a contínua busca de produtos alternativos para seu controle, com menor toxicidade ao ambiente e menor custo.

No setor de florestas plantadas no Brasil, onde se consome a maior parte das iscas formicidas fabricadas no país, as necessidades de atender as rígidas normas exigidas nos processos de certificação florestal (ALVES, 2015), necessariamente fizeram com que as empresas do setor planejassem de maneira criteriosa a operação de combate. Entretanto, no momento atual, o método de controle ainda são as iscas granuladas, mesmo procedimento utilizados há 65 anos, aprimorando somente técnicas de monitoramento das formigas-cortadeiras nas plantações florestais, que implicaram em reduções de custos operacionais. Nos dias atuais, os princípios ativos usados nas iscas formicidas continuam os mesmos usados no início da década de noventa, no século passado.

Parcos estudos sobre métodos alternativos às iscas formicidas e outros métodos químicos de controle como termonebulização e pós-secos foram feitos (ARAÚJO et al., 2003). Em relação a controle biológico dessa praga, à exceção dos fungos patogênico (relativamente já bem estudados, mas com baixa e questionável eficiência na prática, principalmente por dependência de condições climáticas favoráveis para seu uso no campo), poucos trabalhos foram realizados explorando o potencial de inimigos naturais, sendo que na maioria dos trabalhos se limitam a uma listagem de suas ocorrências (ARAÚJO et al., 2011).

#### **2.5. Os inseticidas botânicos e as formigas-cortadeiras**

De maneira geral, esses inseticidas apresentam amplo espectro de controle de insetos-praga, são relativamente específicos no seu modo de ação, são de baixo impacto ambiental e seguros para organismos não alvos (AGUIAR-MENEZES, 2005; UPADHYAY, 2012). Além disso, são fáceis de serem produzidos pelos próprios agricultores e pequenas indústrias (TALUKDER e HOWSE, 1994; BASKAR e IGNACIMUTHU, 2012). Nos insetos, as plantas inseticidas são capazes de provocar inibição alimentar, redução da motilidade intestinal, interferência na síntese do ecdisônio, inibição da biossíntese de quitina, deformações em pupas

e adultos, redução na fecundidade e longevidade, esterilização, inibição na oviposição e mortalidade de formas imaturas e adultas (KOUL et al., 2004; BOIÇA JUNIOR et al., 2005; BASKAR et al., 2011; VENDAN et al., 2009; ZHANG et al., 2013).

Grainge & Ahmed, *apud* BOIÇA JÚNIOR et al. (2005) relataram 2.400 espécies de plantas que teriam propriedades inseticidas. Entretanto, é extremamente reduzido o número de plantas que efetivamente controlaram pragas. Embora já sejam conhecidos os efeitos tóxicos de alguns inseticidas de origem vegetal como a nicotina, a azadiractina, as rotenonas e as piretrinas, pouca informação se tem sobre outras potenciais plantas tóxicas que interfiram sobre os insetos, particularmente sobre as formigas-cortadeiras e seu fungo simbionte.

Estudos mostrando efeito formicida ou algum outro efeito deletério em colônias de formigas-cortadeiras, principalmente em *Atta* spp. (devido a sua maior importância econômica) por uso de extratos de algumas plantas como *Eucalyptus maculata*, por Marsaro Jr. (2004), *Sesamum indicum* por Bueno et al. (1995), Ribeiro et al., (1998) e Morini et al. (2005), *Ricinus communis* por Hebling et al. (1996), *Datura stramonium*, *Cordia verbenaceae*, *Mentha piperitae*, *Ageratum conyzoides* por Araújo et al. (2008) e, *Banana guianensis*, *Clavija weberbaueri*, *Mayna parviflora*, *Ryania speciosa*, *Spilanthe soleraceae* e *Siparuna amazônica* por Gouvêa et al. (2010).

Especificamente para Rutaceae, Almeida et al. (2007) investigaram toxicidade de isolados de *Helietta puberula* para operárias e fungo simbionte de *Atta sexdens* e, Araújo et al. (2008) investigaram efeito tóxico de extratos brutos de *Ruta graveolens* sobre *A. laevigata* e *Acromyrmex subterraneus subterraneus*. A maioria desses trabalhos trata somente da toxicidade de extratos brutos ou de compostos químicos isolados de algumas delas para formigas-cortadeiras, sem, contudo, apresentarem alguma aplicação prática de controle, o que indica, ainda, um vasto caminho a ser explorado na pesquisa para busca de novos produtos para utilização em controle dessa praga.

A família Rutaceae é muito conhecida devido a um único gênero, o *Citrus*, cujo fruto é largamente consumido na alimentação humana. Entretanto, essa família é muito grande e amplamente distribuída nas regiões tropicais, subtropicais e temperadas do mundo, sendo mais abundantes na América Tropical, sul da África e Austrália (compreende cerca de 160 gêneros e 1900 espécies) (MELO et al., 2004; GROppo et al., 2008).

No Brasil a família está representada por cerca de 29 gêneros e 182 espécies (BARROSO et al., 1986; MELO et al., 2004). O gênero *Esenbeckia* Kunth, planta nativa das Américas Tropicais (Mabberley, 1997 *apud* SIMPSON e JACOBS, 2005), de cuja espécie *Esenbeckia pumila* será investigada neste trabalho, conta com cerca de 20 espécies. Segundo Medeiros (2011), essa espécie é um arbusto, que habita bordas de Mata de Galeria, Cerrado (*stricto sensu*)

e Campos Sujos, distribuída nos Estados brasileiros de Tocantins, Piauí, Bahia, Mato Grosso, Goiás, Distrito Federal e Minas Gerais.

Devido ao fato dessa família de plantas ser grande produtora de metabólitos secundários, ela tem sido bastante investigados para uso como medicamentos, herbicidas, agente antimicrobiano e, também, tem despertando a atenção como fonte de compostos inseticidas naturais (Lewis, 1983 *apud* ALMEIDA et al., 2007; GROppo et al., 2008). Paula et al. (1997) e Simpson e Jacobs (2005) citam os metabólitos produzidos com frequência por essas plantas: terpenóides, limónides, proto-limonóides, cumarinas, alcaloides e ligninas.

A grande maioria das espécies de *Esenbeckia* já tiveram sua constituição química investigada (JANUÁRIO et al., 2009), entretanto, não existe relato até então da constituição química da *E. pumila*, nem tampouco se a mesma apresenta compostos secundários com propriedade formicida.

A toxicidade é uma propriedade que reflete o potencial de uma substância em causar um efeito danoso a um organismo vivo e, essa toxicidade, depende da concentração, da propriedade da substância química e, do tempo de exposição à essa substância pelo organismo tratado (RAND et al., 1995).

Os testes de toxicidade podem ser classificados em agudos e crônicos. Esses testes diferem na duração e nas respostas finais que são medidas. Toxicidade crônica é aquela que resulta da exposição contínua a uma determinada substância, sendo que a mesma não pode causar toxicidade aguda por apresentar-se em baixas concentrações (PROTEÇÃO FLORESTAL, 2017).

Os testes de toxicidade aguda são utilizados para medir os efeitos de agentes tóxicos sobre os organismos tratados (geralmente única dose) durante um curto período de tempo em relação ao período de vida do organismo-teste. Esses, têm como objetivo estimar a dose ou concentração de um agente tóxico que seria capaz de produzir uma resposta específica mensurável, geralmente morte ou alguma manifestação que a antecede, como imobilidade, em um organismo-teste ou população, em um período de tempo relativamente curto, geralmente de 24 a 96 horas (GHERARDI-GOLDSTEIN et al., 1990).

Geralmente os valores de concentrações letais são expressos em relação a 50% dos organismos, porque estas respostas são mais reprodutíveis, podem ser estimadas com maior grau de confiabilidade e são mais significativas para serem extrapoladas para uma população (COSTA et al., 2008).

## 2. OBJETIVO

Investigar efeito formicida de extratos foliares e de frutos da Rutaceae *E. pumila*, sobre operárias das formigas-cortadeiras *A. laevigata* e *A. balzani*.

### 3. MATERIAL E MÉTODOS

#### 3.1. Extratos vegetais

Os extratos de *E. pumila* foram obtidos de plantas coletados em área de Cerrado, em Anápolis, GO. Dessas plantas, foram coletadas em torno 3,0 Kg de folhas do terço superior e, 0,5 Kg de frutos ainda verdes, que foram transportadas para o Laboratório de Química do Câmpus Anápolis de Ciências Exatas e Tecnológicas, Universidade Estadual de Goiás (UEG). Esse material vegetal foi mantido em estufa de secagem (45°C), por 48 horas e, posteriormente, foi triturado em moinho de facas. O material triturado (folhas e frutos separadamente) foi mantido imerso em etanol 95%. O extrato bruto desse material foi obtido através da maceração desse material a frio após filtragem, esse extrato bruto foi filtrado e concentrado em evaporador rotativo, que originou um líquido viscoso, de cor escura.

O extrato etanólico de folhas de *E. pumila* (EPFE) foi fracionado, utilizando-se solventes por ordem crescente de polaridade (hexano < diclorometano < acetato de etila < metanol), conforme aumento de constante dielétrica. Tal processo foi realizado por meio de filtração a vácuo, após a incorporação da adjuvante celulose microcristalina D ao extrato etanólico. Desse processo foram obtidas quatro frações de folhas: extrato hexânico de folhas de *E. pumila* (EPFEH), extrato diclorometânico de folhas de *E. pumila* (EPFED), extrato acetato-etílico de folhas de *E. pumila* (EPFEA), extrato metanólico de folhas de *E. pumila* (EPFEM). Processo idêntico foi realizado para a obtenção do extrato etanólico de frutos de *E. pumila* (EPFrE).

Todas as frações obtidas foram colocados em frascos de vidro com tampa rosqueável, cobertos com papel alumínio e, mantidos em geladeira até a utilização nos testes biológicos, seis meses após sua preparação.

#### 3.2. Ensaios biológicos

Os ensaios biológicos foram realizados no Laboratório de Entomologia da Universidade Estadual de Goiás, em Ipameri, Goiás, em sala mantida com temperatura de 25 °C ± 2, umidade relativa do ar de 70 % ± 10 e, escotofase total.

##### 3.1.1. As formigas-cortadeiras

As operárias de *A. laevigata* usadas no experimento foram oriundas de 20 colônias selecionadas em áreas contíguas de pastagens, Cerrado e plantio comercial de *Eucalyptus* sp. localizadas na Fazenda Experimental da UEG, Campus Ipameri, GO e, as operárias de *A.*

*balzani*, também, de 20 colônias, na mesma localidade, mas somente em áreas de pastagens, com predominância da gramínea *Paspalum notatum*, onde foram facilmente encontradas.

Todas as colônias selecionadas foram consideradas “boa atividade” de forrageamento, ou seja, intenso fluxo de operárias forrageadoras trazendo fragmentos de vegetação cortada para o interior da colônia, o que sugeria integridade da mesma. Tal como Araújo et al. (2008), foi padronizado o tamanho de operárias para o ensaio biológico; utilizou-se aquelas de maior porte dentro das respectivas colônias; para *A. balzani*, em torno de 3mm de comprimento de cápsula cefálica e, em *A. laevigata*, em torno de 4,6mm de comprimento de cápsula cefálica. Essas operárias foram coletadas aleatoriamente na entrada dos olheiros ativos das colônias, durante picos de forrageamento das colônias.

### 3.1.2. A Aplicação tópica dos extratos

As doses das frações do extrato hexano de folhas de *E. pumila* (EPFEH), do extrato diclorometânico de folhas de *E. pumila* (EPFED), do extrato acetato-etílico de folhas de *E. pumila* (EPFEA), do extrato metanólico de folhas de *E. pumila* (EPFEM) e, do extrato etanólico de frutos de *E. pumila* (EPFrE) aplicadas topicamente na região notal das operárias das formigas-cortadeiras foram: 0,1, 0,5; 4,0; 7,0; 50,0; 100,0; 200,0 mg. mL<sup>-1</sup> de solvente álcool 70%. A diluição das frações dos extratos em álcool se deveu ao fato de que, em estudos preliminares já realizados, este foi aquele em que visivelmente se observou a melhor diluição de todos os extratos testados.

A aplicação das frações e doses de cada um dos extratos EPFEH, EPFED, EPFEA, EPFEM e EPFrE foi feita na região notal da operária, com auxílio de uma microseringa de 10,0µL, aplicando-se uma única dose de 1,0µL de um dos extratos em cada operária. Para essa aplicação, as operárias foram cuidadosamente imobilizadas com os dedos (com mãos protegidas por luvas cirúrgicas descartáveis) e pinças de madeira, evitando qualquer tipo de dano à operária. Da mesma forma no tratamento testemunha, as operárias foram topicamente tratadas com igual volume (1,0 µL) de álcool 70%. A unidade amostral foi constituída de uma Placas de Petri de vidro (de 92 mm de diâmetro e 16 mm de altura), contendo 10 operárias de formiga-cortadeira de uma mesma colônia e, um pequeno chumaço de algodão que era diariamente umedecido com água destilada. Os indivíduos vivos e mortos (totalmente imobilizados) foram contados 6, 12, 24, 48 e 72 horas após aplicação dos tratamentos. A percentagem de operárias mortas devido a aplicação dos diferentes extratos de *E. pumila* foi corrigida em relação ao tratamento controle (somente com aplicação de álcool 70%), conforme Abbott (1925). O delineamento experimental adotado para estimar a mortalidade de operárias

em função da dosagem da fração de extrato de *E. pumila* e do tempo pós-aplicação foi o inteiramente casualizado, com 10 repetições. As estimativas de percentagem de mortalidade de operárias de formigas-cortadeiras em função da concentração das frações de *E. pumila* e do tempo (48 e 72 horas) da aplicação das mesmas foram realizadas por meio de curva de Probit (FINNEY, 1971), que definiram as concentrações letais  $CL_{50\%}$ . A comparação de toxicidade dos diferentes extratos para as duas espécies de formiga-cortadeira foi feita pelo teste não paramétrico de Kruskal-Wallis, a  $p < 0,001$ , comparando-se o “ranking” das amostras.

#### 4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Após 24 horas da aplicação tópica, verificou-se toxicidade aguda de todas as frações dos extratos de folhas de *E. pumila* testados em operárias de *A. laevigata*. Isso, porque, com o aumento da concentração de todas as frações EPFE, EPFPD, EPFEH, EPFEM e EPFEA ocorreu aumento da mortalidade operárias (Tabela 1). A fração EPFE foi a que apresentou maior toxicidade aguda para as operárias de *A. laevigata*, com menor  $DL_{50\%}$  e, maior valor de coeficiente angular da curva de mortalidade (0,0067). Apesar de apresentar modelo significativo, a curva dose-resposta para a fração EPFrE apresentou a  $DL_{50\%}=213,38$ , valor acima do intervalo das doses testadas (0,1 a 200 mg/ml), mostrando menor toxicidade aguda para essa formiga, quando comparado com os demais extratos.

Após 72 horas da aplicação tópica dos extratos de folhas e frutos de *E. pumila* em *A. laevigata*, o efeito tóxico de todos os extratos fica mais evidente. Redução significativa de  $DL_{50\%}$  para todos os extratos, com todas as concentrações estimadas definidas dentro dos intervalos de doses testadas, mostrou efeito formicida retardado de todos os extratos, independente de polaridade do solvente usado para o fracionamento dos mesmos.

Em *A. balzani*, após 48 horas da aplicação dos extratos, dentro das frações nos intervalos de doses testadas (0,1 a 200 mg/ml), só foi verificada a  $DL_{50\%}$  das frações EPFrE e EPFEA, mostrando baixo potencial formicida dos demais extratos quando se avalia no referido tempo de aplicação dos extratos (Tabela 1). Diferentemente, quando se avalia a proporção de mortalidade de operárias de *A. balzani* após 72 horas de aplicação tópica dos extratos (Tabela 1), a  $DL_{50\%}$  foi determinada para todas as frações de extratos, no intervalo das doses testadas. Menor  $DL_{50\%}$ , ou seja, mais tóxico para as operárias de *A. balzani* foi o extrato da fração EPFEA ( $DL_{50\%}=95,34$ ), valor que é muito próximo da fração EPFrE, com  $DL_{50\%} = 96,89$ .

Nota-se nas figuras 1 e 2 que o efeito tóxico de todas as frações de extrato de *E. pumila* apresentaram toxicidade mais destacada, somente a partir de 48 horas de sua aplicação nas operárias de formigas-cortadeiras, sendo que nos tempos de avaliação de 6, 12 e 24 horas, em nenhum caso, se verificou percentagem média de indivíduos mortos superior a 50%. Em *A. balzani* e *A. laevigata*, sugere-se que o efeito tóxico dos extratos dessa planta seja de efeito retardado, o que proeminentemente foi destacado 72 horas após aplicação dos mesmos. Caso o propósito de uso de extratos dessa planta seja para manufaturar iscas granuladas, o ideal é que o veneno promova a morte das operárias lentamente, conforme destaca Gouveia et al. (2010). Segundo Della Lucia e Araújo (2000), as operárias devem viver o suficiente depois de

TABELA 1. Dados da análise de regressão (concentração x mortalidade) das seis diferentes frações dos extratos de *Esenbeckia pumila* sobre as operárias das formigas-cortadeiras *Atta laevigata* e *Acromyrmex balzani*, em dois períodos distintos.

Tipo de Extrato*	Dados da curva de regressão	Período pós-exposição tópica das operárias aos extratos da planta			
		48 h		72 h	
		<i>Atta laevigata</i>		<i>Acromyrmexbalzani</i>	
EPFrE	Coefficiente angular (EP)	0,0029 (0,0007)	0,0180 (0,0019)	0,0048 (0,0609)	0,0047 (0,0007)
	DL <sub>50%</sub> (IC <sub>95%</sub> )	213,88 (132,04-295,73)**	6,66 (0,93-12,38)	185,78 (143,44-228,12)	96,89 (72,97-120,82)
	$\chi^2$ (p)	18,4 (<0,001)	87,3 (<0,001)	48,8 (0,001)	47,6 (0,001)
EPFE	Coefficiente angular (EP)	0,0067 (0,0007)	0,0418 (0,0051)	0,0014 (0,0007)	0,0020 (0,0007)
	DL <sub>50%</sub> (IC <sub>95%</sub> )	91,67 (69,65-113,69)	5,38 (2,80-7,95)	495,43 (67,68-927,19)**	200,77 (94,93-340,60)**
	$\chi^2$ (p)	52,0 (<0,001)	66,7 (<0,001)	4,3 (0,001)	8,8 (0,0001)
EPFED	Coefficiente angular (EP)	0,0056 (0,0007)	0,0154 (0,0017)	0,0039 (0,0007)	0,0050 (0,0007)
	DL <sub>50%</sub> (IC <sub>95%</sub> )	123,75 (99,26-148,24)	9,37 (2,84-15,91)	232,00 (165,81-300,19)**	117,46 (91,26-143,66)
	$\chi^2$ (p)	66,3 (<0,001)	80,3 (<0,001)	32,0 (<0,001)	53,3 (<0,0001)
EPFEH	Coefficiente angular (EP)	0,0032 (0,0007)	0,0198 (0,0021)	0,0031 (0,0007)	0,0045 (0,0007)
	DL <sub>50%</sub> (IC <sub>95%</sub> )	167,77 (111,38-224,15)	4,83 (0,00-10,14)	314,61 (193,02-432,21)**	136,74 (103,44-170,05)
	$\chi^2$ (p)	23,1 (0,001)	68,4 (<0,001)	19,2 (<0,001)	43,5 (<0,001)
EPFEM	Coefficiente angular (EP)	0,0029 (0,0007)	0,0182 (0,0020)	0,0030 (0,0007)	0,0047 (0,0007)
	DL <sub>50%</sub> (IC <sub>95%</sub> )	131,38 (81,92-180,85)	14,46 (7,68-21,25)	335,97 (198,86-473,08)**	137,30 (105,75-168,85)
	$\chi^2$ (p)	18,6 (<0,001)	86,1 (<0,001)	17,4 (<0,001)	48,7 (<0,001)
EPFEA	Coefficiente angular (EP)	0,0042 (0,0007)	0,0153 (0,0017)	0,0039 (0,0007)	0,0047 (0,0007)
	DL <sub>50%</sub> (IC <sub>95%</sub> )	135,95 (104,04-170,83)	21,26 (13,56-28,96)	195,56 (140,10-251,01)	95,34 (71,54-119,15)
	$\chi^2$ (p)	39,3 (<0,001)	77,3 (<0,001)	32,5 (<0,001)	47,0 (<0,001)

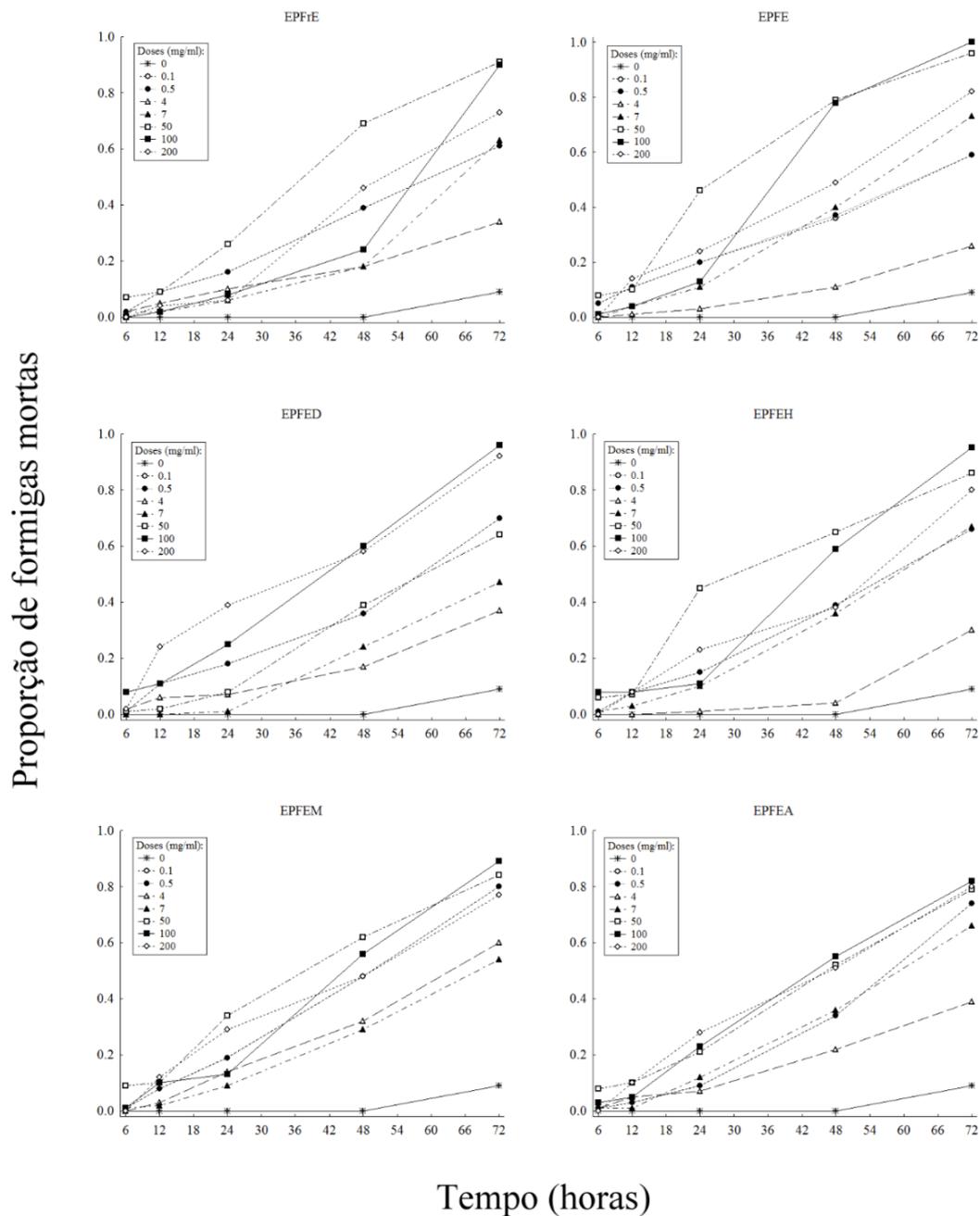
\*EPFrE: Extrato etanólico de frutos de *E. pumila*; EPFE: Extrato etanólico de folhas de *E. pumila*; EPFED: Extrato diclorometânico de folhas de *E. pumila*; EPFEH: Extrato hexânico de folhas de *E. pumila*; EPFEM: Extrato metanólico de folhas de *E. pumila*; EPFEA: Extrato acetato-etílico de folhas de *E. pumila*;  $\chi^2$ : Teste não paramétrico qui-quadrado; p: significância; EP: Erro padrão; DL<sub>50%</sub> (IC<sub>95%</sub>): Concentração Letal para 50% da população (Intervalo de confiança); \*\* DL<sub>50%</sub> estimada fora do intervalo de 0,1 a 200 mg.mL<sup>-1</sup>

contato com o princípio ativo do veneno, para que dê tempo dela distribuir a isca para as demais companheiras de ninhos, incluindo a rainha.

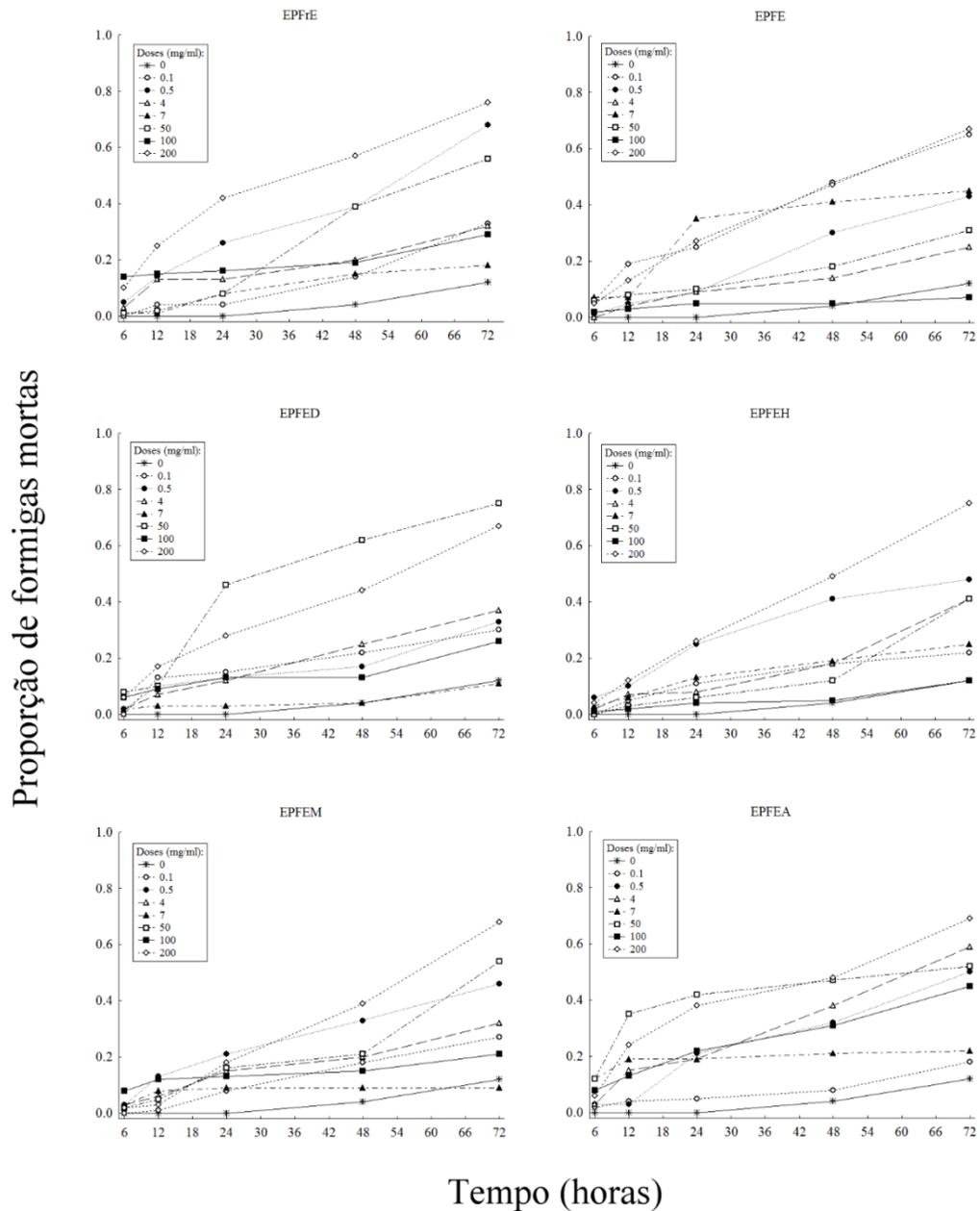
Considerando a mortalidade geral de operárias de formigas em cada tratamento, independentemente de dose, após 48 horas ou 72 horas da aplicação das diferentes frações dos extratos de *E. pumila* indica não haver diferença de toxicidade entre os diferentes extratos para a mesma espécie de formiga-cortadeira (Kruskal-Wallis,  $p < 0,001$ ) (Tabela 2). Entretanto, foi verificada diferenças significativas para os tratamentos EPFE, EPEFEH e EPFEM, que apresentaram maior taxa de mortalidade para *A. laevigata* comparado com *Acromyrmex balzani*, após 48 horas. A maior toxicidade dos extratos de *E. pumila* para *A. laevigata* quando comparado com a espécie *A. balzani* é destacada 72 horas pós-aplicação de todos os extratos nas operárias (Kruskal-Wallis,  $p < 0,001$ ). Para todas as frações testadas, a toxicidade em *A. laevigata* foi maior que em *A. balzani* (Tabela 2).

Resultados desse trabalho não corroboram com os de Araújo et al. (2008), uma vez que esses autores creditaram maior toxicidade de extratos de plantas para operárias de *Atta* quando comparado com *Acromyrmex*, devido ao menor tamanho das operárias de *Acromyrmex*. Em nosso estudo, em regra, as frações de *E. pumila* testadas foram mais tóxicas para *A. laevigata*. Fracionar extrato de plantas para identificação de compostos formicidas é o primeiro passo para a descoberta de mais uma alternativa de controle de formigas-cortadeiras. Em nosso estudo, foi observado que independente do grau de polaridade do solvente, a toxicidade para as formigas-cortadeiras *A. laevigata* ou *A. balzani* não diferiu significativamente (Kruskal-Wallis,  $p < 0,001$ ). O uso de solventes de diferentes e gradativas polaridades e o não destaque de uma fração do extrato mais tóxico sugerem a não existência de único composto como o fator chave de mortalidade, ou até mesmo a pequena eficiência como formicida de todos os eventuais compostos secundários presentes em *E. pumila*. Também, é importante destacar que os testes toxicológicos foram realizados somente seis

Resultados desse trabalho não corroboram com os de Araújo et al. (2008), uma vez que esses autores creditaram maior toxicidade de extratos de plantas para operárias de *Atta* quando comparado com *Acromyrmex*, devido ao menor tamanho das operárias de *Acromyrmex*. Em nosso estudo, em regra, as frações de *E. pumila* testadas foram mais tóxicas para *A. laevigata*. Fracionar extrato de plantas para identificação de compostos formicidas é o primeiro passo para a descoberta de mais uma alternativa de controle de formigas-cortadeiras. Em nosso estudo, foi observado que independente do grau de polaridade do solvente, a toxicidade para as formigas-cortadeiras *A. laevigata* ou *A. balzani* não diferiu significativamente (Kruskal-Wallis,  $p < 0,001$ ).



**Figura 1** Mortalidade de operárias de *Atta laevigata* após aplicação tópica de diferentes concentrações de extratos de folhas e frutos de *Esenbeckia pumila*. EPFrE: Extrato hexânico de frutos de *E. pumila*; EPFE: Extrato etanólico de folhas de *E. pumila*; EPFED: Extrato diclorometânico de folhas de *E. pumila*; EPFEH: Extrato hexânico de folhas de *E. pumila*; EPFEM: Extrato metanólico de folhas de *E. pumila*; EPFEA: Extrato acetato-etílico de folhas de *E. pumila*.



**Figura 2.** Mortalidade de operárias de *Acromyrmex balzani* após aplicação tópica de diferentes concentrações de extratos de folhas e frutos de *Esenbeckia pumila*. EPFrE: Extrato etanólico de frutos de *E. pumila*; EPFE: Extrato etanólico de folhas de *E. pumila*; EPFED: Extrato diclorometânico de folhas de *E. pumila*; EPFEH: Extrato hexânico de folhas de *E. pumila*; EPFEM: Extrato metanólico de folhas de *E. pumila*; EPFEA: Extrato acetato-etílico de folhas de *E. pumila*.

**Tabela 2.** Comparação de toxicidade aguda tóxica de extratos de folhas e frutos de *Esenbeckia pumila* para operárias de formigas-cortadeiras *Atta laevigata* e *Acromyrmex balzani*.

Tratamentos <sup>1</sup>	Proporção média de mortalidade de operárias			
	48 horas		72 horas	
	[H <sub>(13, n=912)</sub> = 242,89; p<0,01]		[H <sub>(13, n=912)</sub> = 354,25; p<0,01]	
	<i>A. laevigata</i>	<i>A. balzani</i>	<i>A. laevigata</i>	<i>A. balzani</i>
Controle	0,00 bB	0,04 bA	0,09 bA	0,13 bA
EPFrE	0,36 aA	0,29 aA	0,68 aA	0,45 aB
EPFE	0,47 aA	0,29 aB	0,71 aA	0,40 aB
EPFED	0,39 aA	0,27 aA	0,68 aA	0,40 aB
EPFEH	0,40 aA	0,23 aB	0,70 aA	0,38 aB
EPFEM	0,46 aA	0,22 aB	0,75 aA	0,37 aB
EPFEA	0,41 aA	0,32 aA	0,71 aA	0,45 aB

<sup>1</sup>EPFrE: Extrato etanólico de frutos de *E. pumila*; EPFE: Extrato etanólico de folhas de *E. pumila*; EPFED: Extrato diclorometânico de folhas de *E. pumila*; EPFEH: Extrato hexânico de folhas de *E. pumila*; EPFEM: Extrato metanólico de folhas de *E. pumila*; EPFEA: Extrato acetato-etílico de folhas de *E. pumila*. Média seguidas de mesma letra, minúscula na coluna ou maiúscula na linha, no período avaliado, 48 ou 72 horas após aplicação dos extratos, não diferem entre si (Kruskal-Wallis; p<0,001).

O uso de solventes de diferentes e gradativas polaridades e o não destaque de uma fração do extrato mais tóxico sugerem a não existência de único composto como o fator chave de mortalidade, ou até mesmo a pequena eficiência como formicida de todos os eventuais compostos secundários presentes em *E. pumila*. Também, é importante destacar que os testes toxicológicos foram realizados somente seis meses depois de sua preparação. Durante este tempo, as frações dos extratos preparados (líquido viscoso) permaneceram armazenados em geladeira comum, sob temperatura variando entre zero e 6,0°C e, conforme pondera Rojas (2011), substâncias de origem vegetal podem sofrer transformações (perdas e/ou inativação) durante o processo de sua extração por solvente ou durante o armazenamento. Trabalhos futuros deverão ser desenvolvidos para correlacionar toxicidade com formas e tempos de armazenamentos dos extratos dessa planta.

## 5. CONCLUSÕES

Todas as frações de extratos de *E. pumila* testadas mostraram efeito formicida quando comparada ao controle (sem aplicação do extrato da planta) e, independente do grau de polaridade dos solventes usados (hexano, diclorometano, acetato de etila, metanol), não foi verificada diferença de toxicidade das frações dos extratos nas operárias de *A. laevigata* ou *A. balzani*.

As frações dos extratos testadas mostraram-se mais tóxicas para a saúva *A. laevigata*, quando comparada à quenquém *A. balzani* e, essa maior toxicidade dos extratos de *E. pumila* para *A. laevigata*, quando comparada com a espécie *A. balzani* é destacada 72 horas pós-aplicação de todos os extratos nas operárias.

Pequena proporção de operárias mortas nas primeiras horas após aplicação dos extratos quando comparado às operárias mortas após maior tempo pós-exposição desses extratos sugerem efeito formicida retardado de todos os extratos da *E. pumila*.

## 5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ABBOTT, W. S. A method of computing the effectiveness of an insecticide. **Journal of Economic Entomology**, v. 18, p.265–266, 1925.
- AGUIAR-MENEZES, E. L. **Inseticidas botânicos: seus princípios ativos, modo de ação e uso agrícola**. Seropédica: Embrapa Agrobiologia, (Documentos), 2005, 58p.
- ALVES, P. G. L. **Certificação florestal do Forest Stewardship Council (FSC) e o manejo integrado de pragas florestais em empreendimentos certificados**. Tese de Doutorado - Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, 131p, 2015.
- ALMEIDA, R. N. A.; PENAFLORES, M. F. G. V.; SIMOTE, S. Y.; BUENO, O. C. et al. Toxicity of substances isolated from *Helietta puberula* RE Fr. (Rutaceae) to the leaf-cutting ant *Atta sexdens* L. (Hymenoptera: Formicidae) and the symbiotic fungus *Leucoagaricus gongylophorus* (Singer) Moeller. **Bio Assay**, v.2, p. 1-8, 2007.
- ARAÚJO, M. S.; DELLA LUCIA, T. M. C.; MOREIRA, M. D.; PICANÇO, M. C. . Toxicidade de extratos hexânicos de plantas às operárias de *Atta laevigata* e *Acromyrmex subterraneus subterraneus* (Formicidae: Attini). **Revista Brasileira de Agrociência**, v. 14, n.3-4, p. 106-114, 2008.
- ARAÚJO, M. S.; PEREIRA, J. M. M.; GANDRA, L. C.; RIBEIRO, M. M. R.; OLIVEIRA, M. A. O. Predadores e outros organismos associados aos ninhos de formiga-cortadeiras. p. 311-320. In: DELLA LUCIA, T. M. C. (ed.) **Formigas-cortadeiras: da biologia ao manejo**. Viçosa: UFV, 2011.
- BARROSO, G. M.; GUIMARÃES, E. F.; ICHASO, C. L. F.; COSTA, C. G.; PEIXOTO, A. L.; LIMA, H. C. **Sistemática de angiospermas do Brasil**. Viçosa: Universidade Federal de Viçosa. 1986. 377p.
- BASKA, K., IGNACIMUTHU, S., Antifeedant, larvicidal and growth inhibitory effects of ononitol monohydrate isolated from *Cassia tora* L. against *Helicoverpa armigera* (Hub.) and *Spodoptera litura* (Fab.) (Lepidoptera: Noctuidae). **Chemosphere**, v. 88, n. 4, 384-388, 2012.
- BASKAR, K., MAHESWARAN, R., KINGSLEY, S., IGNACIMUTHU, S. Bioefficacy of plant extracts against Asian armyworm *Spodoptera litura* Fab. (Lepidoptera: Noctuidae) larvae. **International Journal of Agricultural Technology**, v. 7, n.1, 123-131, 2011.
- BOIÇA JUNIOR, A. L., MEDEIROS, C. A. M., TORRES, AL., CHAGAS FILHO, N. R. Efeito de extratos aquosos de plantas no desenvolvimento de *Plutella xylostella*(L.) (Lepidoptera: Plutellidae) em couve. **Arquivos do Instituto Biológico**, v.72, n.1, 45-50, 2005.
- BOLTON, B.; ALPERT, G.; WARD, P.; NASKRECKI, P. **Bolton's catalogue of ants of the world: 1758-2005**. Cambridge: Harvard University Press, 2006, 504p.
- BRANDÃO, C. R. F. Adendos ao catálogo abreviado das formigas da região neotropical (Hymenoptera: Formicidae). **Revista Brasileira de Entomologia**, v.35, n.2, p. 319-412, 1991.

- BRANDÃO, C. R. F.; MAYHÉ-NUNES, A. J.; SANHUDO, C. E. D. Taxonomia e filogenia das formigas-cortadeiras, p.27-48, In: DELLA LUCIA, T. M. C. (ed.) **Formigas-cortadeiras: da biologia ao manejo**. Viçosa: UFV, 2011.
- BUENO, O. C.; HEBLING, M. J. A.; O. A. DA SILVA, O. A.; MATENHAUER, A. M. C. Effect of sesame (*Sesamum indicum*) on nest development of *Atta sexdens rubropilosa* (Hymenoptera: Formicidae). **Journal Applied Entomology**, v.119, p.341-343, 1995.
- COSTA, C. R.; E PAULO OLIVI, P.; BOTTA, C. M. R.; ESPINDOLA, E. L. G. A toxicidade em ambientes aquáticos: discussão e métodos de avaliação. **Química Nova**, v.31, n.7, p.1820-1830, 2008.
- DELABIE, J. H. C.; ALVES, H. S. R.; REUSS-STRENZEL, G.M.; CARMO, A. F. R.; NASCIMENTO, I. C. Distribuição das formigas-cortadeiras dos gêneros *Acromyrmex* e *Atta* no Novo Mundo. p. 80-101. In: DELLA LUCIA, T. M. C. (ed.) **Formigas-cortadeiras: da biologia ao manejo**. Viçosa: UFV, 2011.
- DELLA LUCIA, T. M. C. *Atta bisphaerica*: uma ilustre desconhecida. **Naturalia**, v.24, p. 53-59, 1999.
- DELLA LUCIA, T. M. C.; ARAÚJO, M. S. Formigas-cortadeiras: atualidades no combate, p.26-31. In: ZAMBOLIM, L. (ed.) **Manejo integrado - doenças, pragas e plantas daninhas**. Viçosa: Suprema gráfica, 2000.
- DELLA LUCIA, T.M.C.; SOUZA, D.J. Importância e história de vida das formigas cortadeiras. p. 13-26. In: DELLA LUCIA, T.M.C. (ed.) **Formigas-cortadeiras: da biologia ao manejo**. Viçosa: UFV, 2011.
- DELLA LUCIA, T. M. C.; FOWLER, H. G.; MOREIRA, D. D. O. Espécies de formigas cortadeiras no Brasil, p.26-42. In: DELLA LUCIA, T. M. C. (ed.) **As formigas Cortadeiras**. Viçosa: Folha de Viçosa, 1993.
- FINNEY, D.J. **Probit Analysis**. 3 ed., London:Cambridge Press, 1971, 338 p.
- FOWLER, H.G. Taxa of the Neotropical grass-cutting ants, *Acromyrmex* (Moellerius) (Hymenoptera: Formicidae: Attini). **Científica**, v. 16, n. 2, p. 281-296, 1988.
- GHERARDI-GOLDSTEIN, E.; BERTOLETTI, E.; ZAGATTO, P. A.; ARAÚJO, R. P. A.; RAMOS, M. L. L. C. **Procedimentos para utilização de testes de toxicidade no controle de efluentes líquidos**. Companhia de Tecnologia de Saneamento Ambiental (CETESB Série Manuais): São Paulo, 1990, 17p.
- GONÇALVES, C. R. Saúvas do nordeste do Brasil (*Atta* spp., Formicidae). **Boletim Fitossociológico**, v. 5, p. 1-42, 1951.
- GONÇALVES, C. R. Distribuição, biologia e ecologia das saúvas. **Divulgação Agronômica**, v.1, p. 2-10, 1960.
- GONÇALVES, C. R. O Gênero *Acromyrmex* no Brasil (Hym. Formicidae). **Studia Entomologica**, v.4, p. 113 -173, 1961.

GOUVEIA, S.M.; CARVALHO, G.A.; PICANÇO, M.C.; MORAIS, E.G.F.; BENEVENUTE, J. S.; MOREIRA, M. D. Lethal and behavioral effects osamazonian plant extracts on leaf-cutting ant (Hymenoptera: Formicidae) workers. **Sociobiology**, v. 56, p. 1-10, 2010.

GROPPO, M.; PIRANI, J.R.; SALATINO, M.L.F.; BLANCO, S.R.; KALLUNKI, J.A. Phylogeny of Rutaceae based on two non coding regions from cp DNA. **American Journal of Botany**, v. 95, n.8, 985–1005. 2008.

GURULINGAPPA, H.; TARE, V.; PAWAR, P.; TUNGIKAR, V. et al. Susceptibility of *Aedes aegypti* and *Culex quinquefasciatus* larvae to gedunin-related limonoids. *Chemistry & Biodiversity*, v.6, p. 987-902, 2009.

HEBLING, M.J.A.; MAROTI, P.S.; BUENO, O.C.; SILVA, O.A.; PAGNOCCA, F.C. Toxic effects of leaves of *Ricinus communis* (Euphorbiaceae) to laboratory nests of *Atta sexdens rubropilosa* (Hymenoptera: Formicidae). **Bulletin of Entomological Research**, v.86, p. 253-256, 1996.

JANUÁRIO, A.H.; VIEIRA, P.C.; SILVA, M.F.G.F.; FERNANDES, J.B. Alcaloides $\beta$ -Indolopiridoquinazolínicos de *Esenbeckia grandiflora* Mart. (Rutaceae) **Química Nova**, v.32, p.2034-2038, 2009.

KOUL, O., SINGH, G., SINGH, R., MULTANI, J.S. Bioefficacy and mode-of-action of aglaroxin A from *Aglaia elaeagnoidea* (syn. *A. Roxburghiana*) against *Helicoverpa armigera* and *Spodoptera litura*. **Entomologia Experimentalis et Applicata**, v. 114, 197-204, 2004.

LEWIS, J.R. Biological activity of some Rutaceous compounds, p. 301-318. In: P.G. Waterman & M.F. Grundon (eds.), **Chemistry and chemical taxonomy of Rutales**. London: Academic Press, 451p, 1983.

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

MARSARO JR. A. L.; SOUZA, R. C.; DELLA LUCIA, T. M. C.; FERNANDES, J. B. B.; SILVA M. F. G. F.; VIEIRA, P.C. Behavioral changes in workers of the leaf-cutting ants *Atta sexdens rubropilosa* induced by chemical compounds of *Eucalyptus maculata* leaves. **Journal of Chemical Ecology**, v.30, p.1771-1780, 2004.

MAYHÉ-NUNES, A. J. **Estudo de *Acromyrmex* (Hymenoptera: Formicidae) com ocorrência constatada no Brasil: subsídios para uma análise fiogenética**. 122 f. Tese (Mestrado em Ciências Biológicas). Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, 1991.

MEDEIROS, J. D. **Guia de campo: vegetação do Cerrado – 500 espécies**. Instituto Brasileiro do Meio Ambiente e dos Recursos Naturais Renováveis, 2011, 532 p. Disponível em: [http://www.mma.gov.br/estruturas/sbf2008\\_df/\\_publicacao/148\\_publicacao14022012101832.pdf](http://www.mma.gov.br/estruturas/sbf2008_df/_publicacao/148_publicacao14022012101832.pdf).

MELO, M. F. F.; ZICKEL, C. S. Os gêneros *Zanthoxylum* L. e *Esenbeckia* Kunth (Rutaceae) no Estado de Pernambuco, Brasil. **Acta Botanica Brasilica**, v. 18(1): 73-90. 2004s

MENDES, W. B. A.; FREIRE, J. A. H.; LOUREIRO, M. C.; NOGUEIRA, S. B.; VILELA, E. F.; DELLA LUCIA, T. M. C. Aspectos ecológicos de *Acromyrmex* (Moellerius) balzani (Emery, 1890) (Formicidae: Attini) no município de São Geraldo, Minas Gerais. **Anais da Sociedade Entomológica do Brasil**, 21: 155-168, 1992.

MOREIRA, A.; FORTI, L. C.; ANDRADE, A.P.; BOARETTO, M. A.; LOPES, J. Nest Architecture of *Atta laevigata* (F. Smith, 1858) (Hymenoptera: Formicidae). **Studies on Neotropical Fauna and Environment**, v. 39, n. 2, 109-116, 2004.

MORINI, M. S. C.; BUENO, O. C.; BUENO, F. C.; LEITE, A.C.; HEBLING, M. J. A.; PAGNOCCA, FERNANDES, J. B.; VIEIRA, P. C.; SILVA, M. F. G. F. Toxicity of sesame seed to leaf-cutting ant *Atta sexdens rubropilosa* (Hymenoptera: Formicidae). **Sociobiology**, v.45, n.1, p. 195-204, 2005.

OLIVEIRA, M.A.; DELLA LUCIA, T.M.C.; DELLA LUCIA, R.M.; ANJOS, N.; ARAUJO, M.S.; LEITE, B.S. The simulate defect of defoliation in the growth of the *Eucalyptus grandis*. **Chemical Engineering Transactions**, v. 39, p.1543-1548. 2014.

PAULA, J. R.; I. J. C. VIEIRA, M. F. G. F. SILVA, E. RODRIGO-FILHO, J. B. FERNANDES, P. C. VIEIRA, A. L. PINHEIRO, E. F. VILELA. Sesquiterpenes, triterpenoids, limonoids and flavonoids of *Cedrela odorata* graft and speculations on the induced resistance against *Hypsipyla grandela*. **Phytochemistry**, v. 44: 1449- 1454, 1997.

PIMENTA, L. B.; ARAÚJO; LIMA, R.; SILVA, J. M. S.; NAVES, V. G. O. Dinâmica de forrageamento e caracterização de colônias de *Acromyrmex balzani* (Emery, 1890) (Hymenoptera: Formicidae) em ambiente de cerrado goiano. **Revista Científica Eletrônica de Engenharia Florestal**, v. 9, p. 1-12, 2007.

PROTEÇÃO FLORESTAL. Laboratório de proteção florestal. Centro de Ciências Florestais e da Madeira - Campus III, Universidade Federal do Paraná. 2017. Disponível em: [http://www.floresta.ufpr.br/alias/lpf/public\\_html/ind\\_toxicologia.html](http://www.floresta.ufpr.br/alias/lpf/public_html/ind_toxicologia.html). Acessado em: 17/02/2017.

RAND, G. M.; WELLS, P. G.; Mc CARTY, L.S. Introduction to aquatic toxicology. In: RAND, G. M. **Fundamentals of aquatic toxicology: effects, environmental fate and risk assessment**. Washington, D.C.: Taylor & Francis, p. 3-67, 1995.

RANDO, J. S. S.; FORTI, L. C. Ocorrência de formigas *Acromyrmex* Mayr, 1865, em alguns municípios do Brasil. **Acta Scientiarum**, v. 27, n. 2, p. 129-133, 2005.

RIBEIRO, S. B.; PAGNOCCA, F. C.; VICTOR, S.R.; BUENO, O. C.; HEBLING, M. J.; BACCI JR., M.; SILVA, O. A.; 1, FERNANDES, J. B.; VIEIRA, P. C.; SILVA, M. F. G. F. Activity of Sesame leaf extracts against the symbiotic fungus of *Atta sexdens* L. **Anais da Sociedade Entomológica do Brasil**, v.27, n.3, p.421-426, 1998.

ROJAS, D. F. C. **Extratos secos padronizados de *Bidens pilosa* L.: desenvolvimento tecnológico e avaliação da atividade biológica**. Dissertação de Mestrado. Universidade de São Paulo, Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Ribeirão Preto, 2011.165p.

SIMPSON, D. S.; JACOBS, H. Alkaloids and coumarins from *Esenbeckia pentaphylla* (Rutaceae). **Biochemical Systematics and Ecology**, v.33, p.941-844, 2005.

TALUKDER, F. A., HOWSE, P. E. Laboratory evaluation of toxic and repellent properties of the pithraj tree, *Aphanamixis polystachya* Wall & Parker, against *Sitophilus oryzae* (L.). **International Journal of Pest Management**, v. 40, 274-279, 1994.

UPADHYAY, R.K. Insecticidal and oviposition inhibition efficacy of *Capparis decidua* to *Sitophilus oryzae* Linn. (Coleoptera: Curculionidae). *International Journal of Chemical and Biochemical Sciences*. v.2, p.14-23, 2012.

VENDAN, S. E., BASKAR, K., PAULRAJ, M. G., IGNACIMUTHU, S. Antifeedant and larvicidal effects of *Hydnocarpus alpine* Wt. (Flacourtiaceae) extracts against the larvae of *Helicoverpa armigera* Hub. (Lepidoptera: Noctuidae). p. 210-216. In: IGNACIMUTHU, S., DAVID, B.V. (eds.) **Ecofriendly Insect Pest Management**. New Delhi: Elite Publishing House, 2009.

VIEGAS JR., C. Terpenos com atividade inseticida: uma alternativa para o controle de insetos. *Química Nova*, v.26, n.3, p. 390-400, 2003.

VINHA, G. G. **Sistemática molecular de *Atta laevigata* (Smith 1858) e *Acromyrmex balzani* (Emery 1890)**. 133p. Dissertação (Mestrado em Ciências Biológicas). Universidade Estadual Paulista, Câmpus Rio Claro, 2007.

ZANETTI, R.; ZANÚNCIO, J. C.; SANTOS, J. C.; SILVA, W. P. L.; RIBEIRO, G. T. R.; LEMES, P. G. An Overview of integrated management of leaf-cutting ants (Hymenoptera: Formicidae) in brazilian forest plantations. **Forests**, v.5, n.3, 439-454, 2014.

ZHANG, Z. X.; ZHOU, Y.; SONG, X. N.; XU, H. H.; CHENG, D. M. Insecticidal activity of the whole grass extract of *Typha angustifolia* and its active component against *Solenopsis invicta*. **Sociobiology**, v. 60(4): p.362-366, 2013.