

**CONTROLE DE FORMIGAS CORTADEIRAS (HYMENOPTERA:  
FORMICIDAE) COM PRODUTOS NATURAIS**

**MARIA DE FÁTIMA SOUZA DOS SANTOS DE OLIVEIRA**

**Orientador: Dr. ODAIR CORREA BUENO**

Tese apresentada ao Instituto de Biociências do  
Campus de Rio Claro, Universidade Estadual Paulista  
“Julio de Mesquita Filho”, como parte dos requisitos  
para obtenção do título de Doutor em Ciências  
Biológicas (Área de Concentração: Zoologia).

RIO CLARO – SP  
Março / 2006

A Deus.

Aos meus filhos Igor e Iago.

À minha mãe Madalena Conceição Souza.

Ao meu pai Carlos Bispo dos Santos *in memoriam*

Ao meu marido Luiz Carlos.

Aos meus sobrinhos.

Aos meus irmãos.

DEDICO

Devia ter amado mais

Ter chorado mais

Ter visto o sol nascer

Devia ter arriscado mais

E até errado mais

Ter feito o que eu queria fazer

Queria ter aceitado as pessoas como elas são

Cada um sabe a alegria e a dor que traz no coração...

(Epitáfio –Titãs/ Composição: João Ubaldo Viera)

## AGRADECIMENTOS

- ✓ À Universidade Estadual Julio de Mesquita Filho, pela oportunidade de realizar este trabalho.
- ✓ Ao Conselho Nacional de Pesquisa Científica e Tecnológica (CNPq), pela concessão da bolsa de estudos.
- ✓ Ao meu orientador, Odair Correa Bueno, pelo incentivo, ensinamentos e, principalmente, pela confiança depositada em mim desde o início deste trabalho.
- ✓ À minha mãe, por ser um exemplo de dignidade, força, coragem e por toda dedicação e afeto.
- ✓ Aos meus filhos, Igor e Iago, os verdadeiros motivos desta minha caminhada.
- ✓ Ao meu esposo, Luiz Carlos A. de Oliveira, por toda paciência, ajuda e incentivo incondicional. Enfim... por ser uma pessoa muito especial.
- ✓ A meus irmãos, pelo carinho, apoio e incentivo nas horas mais difíceis.
- ✓ Aos meus sobrinhos, pelo carinho.
- ✓ À amiga Lucimeire, pela presença nos momentos alegres, difíceis e pelo carinho e cumplicidade.
- ✓ A bióloga Itamar Cristina Reiss, pela amizade sincera, pelo auxílio no desenvolvimento do projeto e por proporcionar um ambiente de trabalho muito agradável.
- ✓ A Fabiana Correa Bueno pelo apoio, carinho e auxílios prestados durante todas as etapas deste trabalho.
- ✓ À Aline, Aldenise e Adriana, grandes amigas que conquistei durante o desenvolvimento da tese.
- ✓ Aos amigos do CEIS, em especial, André Rodrigues, Andriago, Eliane, Erica, Carlos, Cíntia, Fabiana Casarin, Paulo, Priscila e Raquel.
- ✓ À Fernanda Peñaflor e Fernanda Zarzuela, pelo apoio, carinho e gratificante convivência.
- ✓ Ao Eduardo Diniz, pela ajuda e companheirismos.
- ✓ Ao Romualdo, pelo auxílio nas coletas e conversas agradáveis.
- ✓ Ao Daniel, pelas conversas divertidas e por resolver problemas ocasionados pela “Lei de Murphy”.
- ✓ À Secretária do CEIS, Necis Miranda, pela paciência e amizade.
- ✓ À profa. Dra. Maria Santana de Castro Morini (Tina), pelo incentivo e amizade.
- ✓ Ao prof. Dr. Osmar Malaspina, pela disposição em ajudar.
- ✓ À prof. Dra. Terezinha Della Lucia, toda minha admiração.
- ✓ Aos responsáveis pela Floresta Estadual Edmundo Navarro de Andrade por permitirem o a realização dos experimentos.
- ✓ A todos que de alguma forma contribuíram para a realização deste trabalho.

## ÍNDICE

	Página
1. RESUMO.....	01
2. SUMMARY.....	02
3. INTRODUÇÃO.....	03
4. REVISÃO DA LITERATURA.....	06
4.1. Relação mutualística.....	06
4.2. Considerações sobre o gênero <i>Atta</i> .....	07
4.3. Formigas cortadeiras como praga.....	09
4.4. Controle de formigas cortadeiras.....	10
4.4.1 Controle químico.....	10
4.4.2 Controle mecânico.....	12
4.4.3 Controle físico.....	12
4.4.4 Controle cultural.....	12
4.4.5 Controle biológico.....	13
4.5 Plantas tóxicas às formigas cortadeiras e ao fungo simbiote.....	14
4.6 Plantas utilizadas.....	17
4.6.1 <i>Anacardium occidentale</i> (Caju).....	17
4.6.2 <i>Azadirachta indica</i> (Nim).....	18
4.6.3 <i>Carapa guianensis</i> (Andiroba).....	19
4.6.4 <i>Elaeis guineensis</i> (Dendê).....	20
4.6.5 <i>Ricinus communis</i> (Mamona).....	22
4.6.6 <i>Sesamum indicum</i> (Gergelim).....	23
4.6.7 <i>Theobroma cacao</i> (Cacau).....	24
5. MATERIAL E MÉTODOS.....	26
5.1 Delineamento experimental.....	26
5.2 Obtenção dos óleos brutos.....	26
5.3 Obtenção dos extratos da casca da castanha de caju, <i>Anacardium occidentale</i> .....	27
5.4 Bioensaios “in vitro” de toxicidade em operárias de <i>Atta sexdens rubropilosa</i> .....	28
5.4.1 Origem das formigas.....	28
5.4.2 Dieta artificial para manutenção das operárias.....	29
5.4.3 Determinação da toxicidade.....	30
5.4.4 Análise dos dados.....	32
5.5 Bioensaios em colônias de <i>Atta sexdens rubropilosa</i> mantidas em laboratório.....	33
5.5.1 Origem e manutenção das colônias.....	33
5.5.2 Iscas granuladas.....	33
5.5.3 Nebulização.....	36
5.6 Testes de nebulização em colônias de campo de <i>Atta sexdens rubropilosa</i> .....	39
5.6.1 Área de estudo.....	39
5.6.2 Colônias utilizadas.....	39
5.6.3 Dosagem dos óleos nebulizados.....	42
5.6.4 Adaptação do equipamento.....	42
5.6.5 Avaliação das colônias submetidas aos óleos nebulizados.....	42
5.7 Testes de termonebulização em colônias de campo de <i>Atta bisphaerica</i> .....	43
5.7.1 Área de estudo.....	43

5.7.2 Colônias utilizadas.....	43
5.7.3 Avaliação das colônias submetidas aos óleos termonebulizados.....	45
6. RESULTADOS.....	46
6.1 Bioensaios “in vitro” de toxicidade em operárias de <i>Atta sexdens rubropilosa</i> .....	46
6.1.1. Ingestão.....	46
6.1.2 Aplicação tópica.....	60
6.1.3 Bioensaios com iscas granuladas em colônias de <i>Atta sexdens rubropilosa</i> mantidas em laboratório.....	75
6.1.4 Testes de nebulização em colônias de <i>Atta sexdens rubropilosa</i> , mantidas em laboratório.....	79
6.2 Testes em colônias de campo.....	89
6.2.2 Teste de nebulização em colônias de <i>Atta sexdens rubropilosa</i> .....	89
6.2.3 Testes de termonebulização em colônias de <i>Atta bisphaerica</i> .....	89
7. DISCUSSÃO.....	90
8. CONCLUSÕES.....	99
9. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	101

## 1. RESUMO

As formigas cortadeiras pertencem aos gêneros *Atta* e *Acromyrmex* causam perdas consideráveis a uma grande variedade de plantas e são consideradas importantes pragas em áreas cultivadas. Como consequência, há uma grande procura por métodos alternativos para o seu controle, buscando produtos que apresentem rápida degradação, grande especificidade e que sejam menos danosos ao ambiente. Os produtos naturais das plantas superiores podem representar um método alternativo para o controle dessas formigas e, especialmente, as plantas tropicais têm mostrado ser uma fonte rica de substâncias biologicamente ativas. O presente trabalho teve por objetivo avaliar a eficiência dos óleos brutos de *Carapa guianensis* Aubl. (andiroba), *Elaeis guineensis* Jacq. (dendê), *Sesamum indicum* L. (gergelim), *Ricinus communis* L. (mamona), *Azadirachta indica* Juss (nim), *Theobroma cacao* L. (cacau), *Anacardium occidentale* L. (caju) e dos extratos de *Anacardium occidentale* no controle de formigas cortadeiras, utilizando como alvo a espécie *Atta sexdens rubropilosa*.

Inicialmente, foram realizados testes de toxicidade com operárias isoladas de colônia através de: 1) tratamentos por incorporação dos óleos brutos e dos extratos em dieta artificial e 2) tratamentos por aplicação tópica dos óleos brutos ou extratos no pronoto de cada formiga. De acordo com os resultados obtidos nos testes de toxicidade, alguns óleos brutos e extratos foram selecionados para serem incorporados em iscas ou aplicados por nebulização e testados em colônias de laboratório. Os óleos brutos e extratos mais eficientes no controle dessas colônias foram selecionados para testes de campo.

Os resultados obtidos nos testes permitiram selecionar os óleos brutos de *C. guianensis*, *E. guineensis*, *S. indicum*, *R. communis*, *A. indica*, *A. occidentale* e os extratos hexânico, diclorometano, acetato de etila e metanólico de *A. occidentale* para serem aplicados por nebulização e os óleos brutos de *E. guineensis*, *A. indica* e *A. occidentale* para serem incorporados em iscas e testados em colônias de laboratório.

Em colônias de laboratório, a nebulização com os óleos brutos de *C. guianensis*, *E. guineensis*, *S. indicum*, *R. communis* e *A. indica* não causaram efeitos deletérios nas colônias e, portanto, não devem ser indicados como produtos nebulizáveis no controle de formigas cortadeiras. No entanto, o óleo bruto e os extratos hexânico, diclorometano, acetato de etila e metanólico de *A. occidentale* propiciaram a extinção das colônias. As iscas contendo óleos brutos de *E. guineensis*, *A. indica* e *A. occidentale* não causaram nenhum efeito nas colônias e, portanto, não devem ser indicadas para o controle de formigas cortadeiras.

O óleo bruto de *A. occidentale* foi testado em colônias de campo de *Atta sexdens rubropilosa* e *Atta bisphaerica* por meio da termonebulização e da nebulização. No entanto, esse óleo apresentou eficiência inferior a 80%, considerada insatisfatória para testes de eficácia.

## 2. SUMMARY

Leaf-cutting ants belong the genera *Atta* and *Acromyrmex* cause serious damage to a wide variety of plants and they are considered a serious crop pest. As a consequence, there has been a great search for alternate methods to control these insects lately, trying to discover products with fast decay, great specificity and, therefore, less harmful to the environment. The natural products of higher plants may represent new alternative methods for ant control and the tropical plants in particular have proved to be a rich source of biologically active substances. The present work aimed to evaluate the efficiency of crude oils of *Carapa guianensis* Aubl. (crabwood), *Elaeis guineensis* Jacq. (African oil palm), *Sesamum indicum* L. (sesame), *Ricinus communis* L. (castor beans), *Azadirachta indica* Juss (neem), *Theobroma cacao* L. (cocoa), *Anacardium occidentale* L. (cashew nut) and crude extracts of *Anacardium occidentale* on leaf-cutting ants control, using *Atta sexdens rubropilosa* as model.

Toxicity bioassays with ant workers were done using: 1) treatments by incorporation of crude oils or extracts in artificial diet and 2) treatments by topic application of crude oils or extracts on the ants pronotum. According to obtained results in toxicity tests, some crude oils and extracts were select to be incorporated in baits or applied by nebulization and tested on laboratory colonies. The crude oils or extracts more efficient on laboratory colonies control were tested on field grown up colonies.

The obtained results in all toxicity tests permitted to select crude oils of *C. guianensis*, *E. guineensis*, *S. indicum*, *R. communis*, *A. indica*, *A. occidentale* and hexane, dichloromethane, ethyl acetate and methanol extracts of *A. occidentale* to be applied by nebulization and crude oils of *E. guineensis*, *A. indica* and *A. occidentale* to be incorporated in baits and tested on laboratory colonies.

On laboratory colonies, the nebulization with crude oils of *C. guianensis*, *E. guineensis*, *S. indicum*, *R. communis* and *A. indica* didn't cause any effect on colonies. Therefore, these crude oils don't must be used to leaf-cutting ants control. However, crude oil and hexane, dichloromethane, ethyl acetate and methanol extracts of *A. occidentale* propitiated the extinction of colonies. The *E. guineensis*, *A. indica* and *A. occidentale* baits didn't any cause effect on colonies hence it follows that these baits don't must be used to leaf-cutting ant's control.

Crude oil of *A. occidentale* was tested on field grown up colonies of *Atta sexdens rubropilosa* and *Atta bisphaerica* through nebulization and thermonebulization. However, this crude oil presented efficiency lesser than 80%, insufficient to efficacy test.

### 3. INTRODUÇÃO

As formigas cortadeiras dos gêneros *Atta* (saúvas) e *Acromyrmex* (quenquéns) são responsáveis por danos econômicos em áreas agrícolas, destacando-se como um dos principais insetos-praga que ocorrem nas regiões Tropicais e Subtropicais das Américas. Entre elas, as saúvas são os insetos que acarretam grandes prejuízos, dado ao tamanho do saueiro que demanda enorme volume de folhas para o cultivo do fungo simbiote, responsável por atender a necessidade alimentar da elevada população que compõem a colônia (CHERRETT, 1982; ABREU & DELABIE, 1986; HOWARD et al., 1988).

Diversas formas de controle dessas formigas são empregadas e incluem desde as receitas caseiras até recursos de alta tecnologia (DELLA LUCIA & VILELA, 1993). Os métodos atualmente disponíveis são gases liquefeitos, pós-secos, líquidos termonebulizáveis e iscas granuladas (DELLA LUCIA & VILELA, 1993; FORTI & BOARETTO, 1997). Assim, enormes quantidades de inseticidas são aplicadas na tentativa de controle dessas formigas e, nem sempre apresentam resultados satisfatórios (DELLA LUCIA & FOWLER, 1993).

Devido aos efeitos maléficos causados pelos agrotóxicos sobre o ambiente, ao homem e outros organismos, diversos métodos estão sendo avaliados e entre eles, encontram-se os agentes biológicos, cujas pesquisas estão sendo intensificadas. Contudo, as formigas cortadeiras juntamente com o seu fungo simbiote possuem estratégias de defesas mecânicas e bioquímicas para dificultar a invasão desses inimigos. Boaretto & Forti (1997) sugeriram que apesar desse tipo de controle mostrar-se bastante promissor, ainda há a necessidade de se ampliar o conhecimento biológico sobre o assunto e segundo Carrión et al. (1996) são necessários estudos mais aprofundados sobre o uso de fungos entomopatogênicos como *Beauveria bassiana* e

*Metarhizium anisopliae* no controle de formigas cortadeiras.

Existe uma grande necessidade de buscar novas formas de controle que satisfaçam não só os interesses econômicos como também a preservação do meio ambiente, visando reduzir os efeitos residuais causados pelo uso indiscriminado dos produtos químicos. Uma alternativa que tem apresentado boas perspectivas é a utilização de produtos naturais originários de vegetais potencialmente tóxicos ao fungo e/ou as formigas cortadeiras (BUENO et al., 1990).

Das espécies vegetais que apresentam atividade inseticida, a mais estudada atualmente é o nim indiano, *Azadiracta indica* A. Juss, pertencente à Família Meliaceae e Ordem Rutales (SCHMUTTERER, 1988; SAXENA, 1989). Os compostos ativos presentes nessa planta podem ter ação repelente, deterrente, inibidora do crescimento dos insetos e da oviposição das fêmeas, além de causarem esterilidade (REMBOLD, 1987; JACOBSON, 1989; SAXENA, 1989; ADDOR, 1994). Para Schumutterer (1990), em alguns casos, o óleo do nim pode ser considerado tão eficiente no controle de insetos quanto os inseticidas comerciais.

Várias espécies vegetais já foram estudadas visando o controle de formigas cortadeiras e entre àquelas que apresentaram efeitos satisfatórios encontram-se *Sesamum indicum* (HEBLING-BERALDO et al., 1984; BUENO et al., 1994, 2004a; 2004b; MORINI et al., 2005), *Ricinus communis* (HEBLING et al., 1996; ACÁCIO-BIGI et al., 1998, 2004), *Canavalia ensiformis* (HEBLING et al., 2000a), *Cedrela fissilis* (BUENO et al., 2005) e *Cipadessa fruticosa* (LEITE et al., 2005).

Diante do exposto e dando continuidade aos trabalhos desenvolvidos com plantas potencialmente tóxicas às formigas cortadeiras, o presente trabalho teve por objetivo avaliar a eficiência de alguns óleos vegetais no controle desses insetos, utilizando como modelo a “saúva limão” *Atta sexdens rubropilosa*, além de desenvolver um sistema de controle que atenda as exigências para monitoramento e certificação do processo de produção orgânica. Para tal, os objetivos específicos foram:

- Verificar a toxicidade dos óleos brutos de andiroba, *Carapa guianensis* Aubl. (Meliaceae); dendê, *Elaeis guineensis* Jacq. (Arecaceae); gergelim, *Sesamum indicum* L. (Pedaliaceae); mamona, *Ricinus communis* L. (Euphorbiaceae); nim, *Azadirachta indica* Juss (Meliaceae); cacau, *Theobroma cacao* L. (Sterculiaceae) e caju, *Anacardium occidentale* (Anacardiaceae). Além, dos extratos de caju

*Anacardium occidentale*, em operárias de *Atta sexdens rubropilosa* isoladas da colônia através de tratamentos de ingestão e aplicação tópica.

- b) Avaliar a eficiência de iscas contendo óleos brutos ou extratos vegetais em colônias incipientes de *A. sexdens rubropilosa* mantidas em laboratório.
- c) Avaliar a eficiência da nebulização com óleos brutos ou extratos vegetais em colônias incipientes de *A. sexdens rubropilosa* mantidas em laboratório.
- d) Avaliar a eficiência da nebulização com óleo bruto em colônias de campo de *A. sexdens rubropilosa*
- e) Avaliar a eficiência da termonebulização com óleo bruto em colônias de campo de *A. bisphaerica*.

## 4. REVISÃO DA LITERATURA

### 4.1 Relação mutualística

A tribo Attini (Formicidae: Myrmicinae) possui 13 gêneros e mais de 200 espécies, divididos em três diferentes grupos: um parafilético, representado pelas espécies basais (*Myrmicocrypta*, *Mycocepurus*, *Apterostigma*, *Mycetarotes*, *Mycetophylax*, *Mycetosoritis* e *Cyphomyrmex*); um intermediário (*Trachymyrmex*, *Sericomyrmex* e *Mycetagroicus*) e um derivado monofilético, no qual estão inseridas as formigas cortadeiras *Atta* (saúva) e *Acromyrmex* (quenquéns) (WETTERER et al., 1998; BRANDÃO & MAYHÉ-NUNES, 2001; MÜLLER et al., 2001; MÜLLER, 2002; SHULTZ et al., 2005). Completa a tribo o gênero *Pseudoatta*, parasita social destituído de operárias (MÜLLER et al., 2001; SCHULTZ et al., 2005).

Todas as Attini cultivam um fungo que é a principal fonte alimentar das larvas e que também constitui parte da alimentação dos adultos (QUINLAN & CHERRETT, 1979; CURRIE, 2001a; MÜELLER, 2002). Para manutenção do jardim de fungo, os gêneros basais utilizam fezes de insetos, carcaça ou material vegetal em decomposição, enquanto que os intermediários usam materiais vegetais em decomposição e os derivados cortam material vegetal fresco como folhas e flores (WEBER, 1972; WETTERER et al., 1998; CURRIE, 2001a). O gênero *Mycetagroicus*, descrito recentemente por Brandão & Mayhé-Nunes (2001), coleta fragmentos de plantas e sementes de gramínea.

A relação simbiótica entre o fungo e as formigas proporciona benefícios a ambos (SCHUTZ et al., 2005) e pode ser retratada entre os custos e benefícios dessa relação: por um lado, as formigas se beneficiam do fungo através da quebra de enzimas

possibilitando a detoxicação de compostos secundários (aleloquímicos) oriundos dos vegetais, os quais poderiam agir como inseticidas às formigas (LITTLEDYKE & CHERRETT, 1978; NORTH et al., 1997; 1999) e, por outro lado, o fungo se beneficia, entre outras razões, pela manutenção do ambiente livre de competidores (antagonista ou entomopatogênicos) através da aplicação de compostos antibióticos produzidos pelas formigas além do fungo não poder viver independente das formigas (CURRIE et al., 1999). Dessa maneira, as formigas protegem o fungo da presença de microorganismos patogênicos, através da produção de substâncias químicas (enzimas proteolíticas) livrando-o de competidores que poderiam reduzi-lo e conseqüentemente matá-lo. Assim, existe uma dependência entre ambos, onde a ausência de um acarretará no desaparecimento do outro (CURRIE et al., 1999; CURRIE & STUART, 2001).

A associação mutualística entre as formigas e o fungo simbiote surgiu há aproximadamente 50 milhões de anos (SCHULTZ, 1999; MUELLER et al., 2001) e teria origem com uma ancestral *Attini* forrageadora generalista que cultivava o fungo de forma facultativa e, posteriormente, passou a ter uma relação simbiótica obrigatória (MÜELLER, 2002). Dessa forma, diversas hipóteses foram postuladas no intuito de explicar a simbiose entre esses dois organismos: (1) provisão de sementes; (2) madeira podre; (3) micorrizas; (4) paredes do ninho; (5) cadáveres de artrópodes; (6) fezes de formigas e (7) pellets infrabucal (MÜLLER et al., 2001). Contudo, apesar dos progressos recentes na compreensão evolutiva dos membros da tribo *Attini*, a reconstrução do processo histórico da relação entre formiga e fungo ainda permanece sem resposta.

#### **4.2 Considerações sobre o gênero *Atta***

As formigas do gênero *Atta*, popularmente denominadas saúvas, pertencem à Tribo *Attini* da família *Formicidae*. São insetos sociais que vivem em ninhos subterrâneos, caracterizados por apresentarem numerosas câmaras e galerias (MARICONI, 1970). Possuem o hábito de cortar elevadas quantidades de diversas espécies vegetais, sendo por isso denominadas formigas cortadeiras (MARICONI, 1970; FOWLER et al., 1991; WETTERER et al., 1998). O material vegetal é usado no

cultivo do fungo simbiote *Leucoagaricus gongylophorus* Singer (Möller) do qual às operárias adultas obtém parte de suas necessidades alimentares e as larvas a sua totalidade (WEBER, 1972; QUINLAN & CHERRETT, 1979).

A organização social é caracterizada pelo polimorfismo acentuado e pela divisão nas tarefas entre os indivíduos. A casta das operárias jardineiras, com largura da cápsula cefálica entre 0,8 a 1,0 mm, é responsável pelo cuidado com a cria e pela manutenção do jardim de fungo, a casta das operárias generalistas, possuindo cápsula cefálica em torno de 1,4 mm de largura, é responsável por explorar novos recursos alimentares, cortar e transportar o material vegetal, bem como escavar os ninhos e, a casta das operárias escoteiras ou soldados, com largura da cápsula cefálica de aproximadamente 3,0 mm, desempenha a função de defesa da colônia e, ocasionalmente, desenvolve atividades de corte e transporte do material vegetal. Além dessas castas, existe a rainha e as formas aladas içás (fêmeas) e bitus (machos) que aparecem somente na época de reprodução do saúveiro (WILSON, 1980; DELLA LUCIA et al., 1993a; FORTI & BOARETTO, 1997).

O saúveiro é fundado por uma única fêmea (haplometrose) que, após o vôo nupcial, livra-se de suas asas e procura um local no solo para o estabelecimento da nova colônia. Durante a fundação, a içá escava um pequeno canal de aproximadamente 8,5 a 18 cm de profundidade e constrói a primeira câmara onde, após 48 horas do término da escavação, regurgita o fungo simbiote trazido por ela em sua cavidade infrabucal ao deixar a colônia de origem (WILSON, 1980; DELLA LUCIA et al., 1993a).

Na iniciação ou instalação do saúveiro, alguns fatores influenciam positivamente no seu desenvolvimento, como por exemplo, solos desnudos de vegetação e com pobreza de nutrientes (MARICONI, 1970; DELLA LUCIA & ARAÚJO, 1993).

No forrageamento ou busca do material vegetal a ser cortado, as espécies *A. bisphaerica*, *A. capiguara*, *A. goiana* e *A. vollenweideri* cortam preferencialmente monocotiledôneas enquanto que *A. cephalotes*, *A. opaciceps*, *A. robusta* e *A. sexdens* cortam preferencialmente plantas dicotiledôneas e *A. laevigata* e *A. silvai* (sinônimo júnior de *A. laevigata*) cortam os dois tipos de vegetal (FORTI & BOARETTO, 1997; DELABIE, 1998).

A distribuição geográfica das saúvas está restrita ao Continente Americano, ocorrendo desde o Sul dos Estados Unidos até o Centro da Argentina (HÖLLDOBLER

& WILSON 1990; FORTI & BOARETTO, 1997; MÜLLER et al., 2001; MÜLLER, 2002). Existem 15 espécies catalogadas, sendo que no Brasil ocorrem 9 espécies, inclusive a espécie *Atta sexdens rubropilosa*, que é considerada a mais amplamente distribuída e a que causa maiores prejuízos às lavouras, composta de três subespécies (MARICONI, 1970; FORTI & BOARETTO, 1997; DELLA LUCIA et al., 1993b).

### 4.3 Formigas cortadeiras como praga

As formigas cortadeiras dos gêneros *Atta* e *Acromyrmex* são consideradas pragas de grande importância nas regiões tropicais das Américas. A capacidade de colonização e forrageamento dessas formigas, aliadas, principalmente, aos ambientes que sofreram desequilíbrio ecológico provocado pelo desmatamento e implantações de monoculturas propiciam condições ideais para o estabelecimento e a proliferação das colônias, favorecendo também o aumento da densidade populacional (CHERRETT, 1986; DELLA LUCIA & FOWLER, 1993).

As formigas cortadeiras representam uma das principais pragas da região neotropical, principalmente na América do Sul, sendo responsáveis por danos econômicos em reflorestamentos (VILELA, 1986; ANJOS et al., 1998; OLIVEIRA et al., 1998; PERREIRA et al., 1999) na agricultura (MARICONI, 1970; CHERRETT, 1986) e em pastagens (AMANTE, 1967; FOWLER et al., 1986). Segundo Amante (1967), dez saúveiros adultos/ha cortam cerca de 21 Kg de folhas / dia, reduzindo em mais de 50% a capacidade de pastagem, além de proporcionar maior desenvolvimento de plantas daninhas.

Os prejuízos causados pela atividade de *A. sexdens rubropilosa*, numa densidade de 4 colônias/ha foram calculados em 14% para plantações de eucalipto e 14,5% para a produção de pinos (AMANTE, 1972). Na cana-de-açúcar, os danos causados por *A. bisphaerica* podem atingir 3,2 toneladas/ha (PRECETTI et al., 1998).

Anjos et al. (1998) descreveram que o desfolhamento provocado pelas formigas causa prejuízos de 13% da colheita e que, em ecossistemas tropicais as formigas cortadeiras consomem cerca de 15% da produção florestal e, segundo Zanetti et al. (2003) as formigas cortadeiras são consideradas as principais pragas de reflorestamentos

no Brasil.

Além desses prejuízos causados pelas formigas cortadeiras, existem os problemas de forma indireta, como é o caso da grande quantidade de agrotóxicos aplicados no controle desses insetos, afetando a saúde do homem e de outros animais (DELLA LUCIA & FOWLER, 1993).

#### **4.4 Controle de formigas cortadeiras**

Devido aos danos econômicos causados pelas formigas cortadeiras, elas são alvo de diferentes métodos de controle. Atualmente, os métodos utilizados são: químicos, mecânicos, físicos, biológicos e culturais (DELLA LUCIA & VILELA, 1993; FORTI & BOARETTO, 1997; LOECK et al., 2001).

##### **4.4.1 Controle químico**

As estratégias de controle químico diferem, principalmente, pelo tipo de formulação e modo de aplicação dos inseticidas, podendo ser:

**Fumigantes:** Pioneiro no controle das formigas cortadeiras, esse método consiste na utilização de gases tóxicos, sendo o brometo de metila o único permitido para essa finalidade. Porém, apesar de altamente eficaz, apresenta elevado custo, exige mão-de-obra especializada para a aplicação e possui alta periculosidade ao aplicador causando sérias queimaduras ao contato prolongado com esse gás (DELLA LUCIA & VILELA, 1993; FORTI & BOARETTO, 1997).

**Pós - químicos:** Compreende a utilização de formicidas de ação de contato. São formulados juntamente com um veículo e aplicados através de polvilhamento com equipamentos manuais. Possui a limitação do produto não atingir todas as câmaras dos ninhos adultos devido à complexidade estrutural dos formigueiros, aderência no solo devido à umidade, além disso, existe a necessidade da remoção da terra solta dos formigueiros 24-48h antes da aplicação do produto (BOARETTO & FORTI, 1997).

**Iscas granuladas:** As iscas comerciais são constituídas de um substrato atrativo misturado a um princípio ativo tóxico, formuladas em pellets (FORTI & BOARETTO,

1997). Os pellets são distribuídos próximos às trilhas de forrageamento onde as formigas posteriormente os transportam para o interior da colônia. Nesse método não há necessidade de ferramentas e aparelhos sofisticados o que facilita a aplicação, tornando-o prático, econômico e eficiente. Contudo, apresenta a limitação da sua utilização em períodos chuvosos (ANJOS et al., 1993; DELLA LUCIA & VILELA, 1993) e a intoxicação de espécies não alvo (RAMOS et al., 2003). Além disso, algumas características são importantes na formulação de iscas economicamente viáveis, entre elas estão: o sinergismo com os adjuvantes de fabricação ou inseticida, resistência à umidade e às modificações de temperatura, especificidade às espécies alvo e atratividade às formigas (FORTI & BOARETTO, 1997; DELABIE et al., 2000).

**Termonebulização:** Consiste em introduzir, através dos olheiros, um inseticida veiculado em óleo mineral ou diesel sob a ação do calor, produzindo pequenas partículas (em torno de 50 micra) semelhante a “fumaça” tóxica dentro do formigueiro, utilizando um equipamento denominado termonebulizador (DELLA LUCIA & VILELA, 1993; FORTI & BOARETTO, 1997). Esse método é caracterizado como muito eficiente, pois pode matar as formigas por contato, ingestão e fumigação, além de proporcionar a paralisação rápida das atividades do formigueiro (DELLA LUCIA & VILELA, 1993). Esse tipo de controle apresenta também as vantagens de poder ser aplicado em qualquer tipo de solo, além de apresentar eficiência no controle de grandes ninhos onde o uso de iscas pode se tornar inviável (FORTI & BOARETTO, 1997). Entretanto, o método apresenta desvantagem operacional e econômica, pois a manutenção do equipamento possui custo elevado, além da necessidade de formulação especial do formicida (DELLA LUCIA & VILELA, 1993).

**Nebulização:** Compreende a utilização do equipamento denominado Aero-system, o qual permite a atomização sem o intermédio do calor produzindo partículas a frio em torno de 8 a 15 micras. O equipamento possui um tanque cilíndrico de aço acoplado a uma mangueira conectada à haste ou lança de aplicação, esta dotada de bico especial de aplicação em sua extremidade. Algumas pesquisas têm indicado que esta técnica é eficiente apenas em formigueiros novos (FORTI & BOARETTO, 1997; BOARETTO & FORTI, 1997).

#### **4.4.2 Controle mecânico**

O controle mecânico de formigas cortadeiras ocorre a partir da extinção total do formigueiro, incluindo a morte da rainha, através do uso de enxadas e pás. Esse método é indicado apenas para ninhos superficiais e em pequenas áreas, onde exige um esforço menor do agricultor. No caso de ninhos com mais de 4 meses de idade, torna-se difícil a localização da rainha, por esta se encontrar a uma profundidade superior a 1,5 m (ANJOS et al., 1993; DELLA LUCIA & VILELA, 1993; FORTI & BOARETTO, 1997).

#### **4.4.3 Controle físico**

É uma técnica de prevenção que consiste em utilizar obstáculos para evitar que as formigas cortadeiras alcancem as folhagens das árvores. Esse método é recomendado apenas para árvores isoladas, canteiros, pequenos viveiros, pequenos reflorestamentos, áreas experimentais e áreas urbanas (ANJOS et al., 1998).

#### **4.4.4 Controle cultural**

A aração e gradagem do solo para formigueiros iniciais com até 4 meses de idade pode ser importante na eliminação de formigueiros que estejam localizados a aproximadamente 20 cm de profundidade do solo, existindo grandes possibilidades da lâmina do equipamento atingir a rainha e matá-la (DELLA LUCIA & VILELA, 1993). Porém, para formigueiros adultos esses tipos de tratamentos culturais podem ser prejudiciais, uma vez que a mecanização do solo pode desestruturar parcialmente a colônia, cessando temporariamente a sua atividade, dando a falsa impressão de inatividade do formigueiro além de dificultar a sua localização (FORTI & BOARETTO, 1997). Outro método de controle cultural que também pode ser utilizado é o emprego de culturas armadilhas ao redor da cultura principal (DELLA LUCIA & VILELA, 1993; FORTI & BOARETTO, 1997).

#### 4.4.5 Controle biológico

Compreende a utilização dos inimigos naturais das formigas cortadeiras, visando o seu controle. Esse método ocorre normalmente através da conservação e adequação do ambiente natural às necessidades dos inimigos naturais ou através da introdução de organismos que possam competir por fatores importantes às formigas (ANJOS et al., 1998). Dentre os inimigos naturais encontram-se aranhas, pássaros, ácaros, parasitóides, microorganismos (bactérias, fungos e vírus), outras espécies de formigas, besouros (MARICONI, 1970; DELLA LUCIA & VILELA, 1993; FORTI & BOARETTO, 1997), além de moscas Phoridae (MARICONI, 1970; DELLA LUCIA & VILELA, 1993; BRAGANÇA et al., 2002).

Entre os tipos de controle biológico de formigas, alguns fungos entomopatogênicos, tais como *Beauveria bassiana* e *Metarhizium anisopliae*, têm demonstrado eficiência e outras vantagens sobre os produtos químicos no controle de pragas (DIEHL-FLEIG, 1995). As estratégias usadas nesse tipo de controle ocorrem com a aplicação dos esporos de fungos contaminantes com o intuito de infectar as formigas através da ingestão ou contato (DELLA LUCIA & VILELA, 1993).

Da Silva & Diehl-Fleig (1988) sugeriram que para o controle efetivo de *A. sexdens piriventris* usando fungo entomopatogênicos, o patógeno teria que ser utilizado em grandes quantidades de unidades infectadas e com repetidas aplicações. Carrión et al. (1996) realizaram experimentos, em condições de laboratório, utilizando fungo entomopatogênico *Aspergillus parasiticus*, *Beauveria bassiana* e *Metarhizium anisopliae* no controle de *Atta mexicana* e observaram alta mortalidade de operárias.

Apesar de ser uma área promissora de pesquisa, existem inúmeros fatores que dificultam a obtenção de dados mais consistentes. Assim, há necessidade de estudos mais efetivos sobre as estratégias de controle das formigas cortadeiras e a sua aplicabilidade (BOARETTO & FORTI, 1997).

#### 4.5 Plantas tóxicas às formigas cortadeiras e ao fungo simbiote

A preocupação em controlar pragas sem a utilização de produtos químicos remonta mais de cem anos. Inicialmente, os produtos naturais foram obtidos a partir de extratos e partes de plantas ou ainda de minerais extraídos da terra (JACOBSON, 1989). A partir da década de 50, os produtos sintéticos substituíram, quase totalmente, os produtos naturais, por estes se mostrarem mais específicos e com efeito mais rápido no controle de pragas agrícolas (VIEGAS Jr., 2003). Contudo, o uso de altas doses desses inseticidas propiciaram, entre outros fatores, contaminação ao ambiente e a organismos não alvo (BERENBAUM, 1989).

Uma alternativa que vem despertando o interesse de muitos pesquisadores é o retorno aos estudos de compostos naturais presentes nos vegetais superiores, principalmente, os que fazem parte do metabolismo secundário, que constituem novas fontes para o controle de insetos praga. Segundo Roel (2001) o emprego de plantas inseticidas tem inúmeras vantagens quando comparada ao emprego de sintéticos uma vez que são obtidos de recursos naturais renováveis, não persistem no ambiente, não deixam resíduos em alimentos e possuem baixo custo financeiro. Para Jacobson (1989) os derivados botânicos mais promissores pertencem às famílias Meliaceae, Rutaceae, Asteraceae, Annaceae e Canellaceae e, segundo Isman (2000), óleos essenciais, principalmente das espécies pertencentes às famílias Lamiaceae e Myrtaceae estão entre as plantas inseticidas com resultados notáveis.

Dentre as substâncias de origem vegetal, destaca-se a piretrina, extraída das flores de *Chrysanthemum* (família Compositae), a nicotina de *Nicotiana tabacum* (família Solenaceae) e a rotenona encontrada em plantas da família Leguminosae (ADDOR, 1994; GODFREY, 1994). Atualmente, um dos maiores avanços nesta área ocorreu com a planta *Azadirachta indica*, cujos compostos químicos, principalmente a azadiractina (tetranortriterpenóide), presente nas sementes, inibem o crescimento e reprodução, além de agirem como deterrente ou repelente para a maioria dos insetos (REMBOLD, 1987; JACOBSON, 1989, SAXENA, 1989; SCHMUTTERER, 1990, 2002).

Há um grande número de pesquisas relacionadas com as plantas que não são cortadas pelas formigas, indicando alguns compostos químicos, em particular os

metabólitos secundários, como deterrentes ou repelentes. Em 1983, Hubbell & Wiemer, estudando uma árvore tropical, *Hymenaea courbaril*, isolaram o terpenóide epóxido de cariofileno que se mostrou repulsivo para as formigas e, posteriormente, este mesmo composto foi caracterizado como fungicida letal para o fungo simbionte de *Atta cephalotes* por Howard et al. (1988).

Uma linha de pesquisa relacionada ao estudo de plantas tóxicas às formigas cortadeiras vem sendo desenvolvida há duas décadas por pesquisadores do Centro de Estudos de Insetos Sociais do Instituto de Biociências de Rio Claro – UNESP em parceria com pesquisadores do Laboratório de Produtos Naturais da Universidade Federal de São Carlos. O primeiro passo tem sido verificar a ação das plantas sobre colônias incipientes mantidas em laboratório e, as que causam efeito sobre a sociedade das formigas são testadas em bioensaios com as formigas e o fungo isoladamente. Em seguida, as plantas responsáveis por alterações na sobrevivência das formigas ou no desenvolvimento do fungo são fracionadas e testadas novamente, sendo que esse processo de fracionamento e realização de bioensaios se repete até a identificação dos compostos tóxicos que voltam a ser aplicados em colônias incipientes de laboratório através da nebulização ou da incorporação em iscas atrativas. Finalmente, os compostos considerados tóxicos nos testes de laboratório devem ser testados em colônias de campo (BUENO O.C., 2005).

Em 1979, Mullenax observou uma diminuição na atividade de colônias de *Atta* sp. tratadas com folhas de *Canavalia ensiformis* (fava-branca), sugerindo ser a presença da desmetilomptero carpina, com ação fungicida. De acordo com Stradling & Powell (1992), os efeitos tóxicos observados poderiam ser causados pelo aminoácido canavanina. Entretanto, Monteiro et al. (1998) indicaram que os efeitos inibitórios sobre o desenvolvimento do fungo simbionte de *A. sexdens* foram decorrentes da atividade de uma mistura de ácidos graxos, isolada de extratos foliares desta planta.

Posteriormente, Hebling et al. (2000a) realizaram estudos dos efeitos tóxicos de folhas frescas de *C. ensiformis* em colônias de *A. sexdens rubropilosa* mantidas em laboratório e observaram alta mortalidade de formigas, redução gradual no volume da esponja fúngica e extinção dos formigueiros após 11 semanas de tratamento. Takahashi-del-Bianco (2002), através da realização de bioensaios com operárias médias de *A. sexdens rubropilosa*, sugeriu que mistura de açúcares e misturas complexas de ácidos

graxos seriam os principais responsáveis pela atividade tóxica de extratos foliares de *C. ensiformis* nas formigas.

Outra planta muito bem estudada é o *Sesamum indicum* (gergelim). Colônias de *A. sexdens rubropilosa* tratadas exclusivamente com as folhas dessa planta apresentaram acentuada redução no volume do jardim de fungo bem como alterações no comportamento das operárias, no teor de umidade nas câmaras, na consistência e no aspecto geral do lixo acumulado, culminando na extinção dos formigueiros (BUENO et al., 1995). Análises dos vários compartimentos da planta revelaram a presença de compostos com efeitos inibitórios ao fungo simbiote e tóxico às formigas (PAGNOCCA et al., 1990; RIBEIRO et al., 1998; BUENO et al., 2004 a; 2004 b) e também foi verificado que operárias provenientes de colônias tratadas com folhas de gergelim apresentavam alterações significativas no metabolismo respiratório (HEBLING-BERALDO et al., 1991).

No caso do fungo, a presença de lignanas nas sementes foi marcante para o efeito inibidor. Entre esses compostos estão a sesamina e a sesamolina, conhecidos como sinergistas de vários inseticidas (PAGNOCCA et al., 1996). A toxicidade para as formigas foi relacionada à grande quantidade de lipídios presentes nas sementes, potencializada pela presença da sesamolina (MORINI et al., 2005), enquanto que nas folhas foi pela presença de uma mistura complexa de açúcares (BUENO et al., 2004 b).

Em 1996, Hebling et al. trataram colônias de *A. sexdens rubropilosa* mantidas em laboratório com folhas de *Ricinus communis* (mamona) e observaram redução no tamanho das esponjas do fungo, com declínio acentuado a partir da quinta semana, o que ocasionou extinção dos formigueiros. Esses resultados também foram verificados por Acácio-Bigi et al. (2004) ao estudarem os efeitos tóxicos de frações das folhas da mamona para operárias de *A. sexdens rubropilosa* e o seu fungo simbiote, isolados da colônia. Segundo os autores, a ricinina foi a principal substância responsável pela toxicidade nas operárias enquanto que os ácidos graxos inibiram o desenvolvimento do fungo simbiote.

## 4.6 Plantas utilizadas

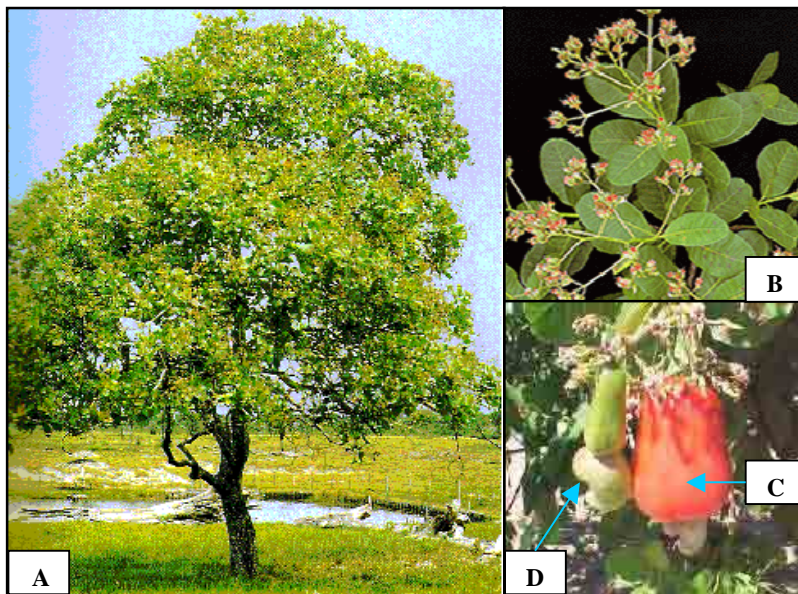
### 4.6.1. *Anacardium occidentale* (caju)

O cajueiro (*A. occidentale*), pertencente à família Anacardiaceae, é uma planta tropical, nativa do Brasil e dispersa em quase todo o seu território. A Região Nordeste, com uma área plantada superior a 650 mil hectares, responde por mais de 95% da produção nacional, sendo os estados do Ceará, Piauí, Rio Grande do Norte e Bahia os principais produtores (RIBEIRO & RIBEIRO, 2003). Possui altura entre 5 e 10m, com tronco tortuoso de 25-40cm de diâmetro, sendo que em solos argilosos de boa fertilidade pode atingir até 20m de altura. O pedúnculo super desenvolvido e suculento é geralmente confundido com o fruto, quando na verdade o fruto do cajueiro é a castanha. A parte carnosa ligada ao fruto é o pedúnculo floral hipertrofiado chamado hipocarpo ou pseudofruto, rico em suco e com formato variado podendo ser cilíndrico, piriforme ou alongado (Figura 1) (LORENZI, 2002).

A árvore é cultivada em quase todo o país e no exterior para a obtenção de seu pseudofruto (caju) e de sua castanha. Os frutos e pedúnculos são muito consumidos em todo país na forma de sucos e de doces caseiros e a castanha é bastante popular e exportada para quase todo o mundo (LORENZI, 2002).

No uso culinário do pseudofruto são feitos sucos, bebidas e geléias e as castanhas assadas são usadas como alimento em uma variedade de doces e em ornamento de alimentos (LIMA et al., 2001). Recentemente, duas outras substâncias estão sendo estudadas, uma para desenvolver um filtro solar e outra para a obtenção de um análogo do ácido salicílico (BAHIA, 2006a).

Segundo Lima et al. (2000) os ácidos anacárdicos obtidos dos extratos etílicos do óleo da casca da castanha de caju apresentam atividade sobre os microorganismos da cavidade bucal. Akinpelu (2001), utilizando extratos metanólicos da casca de *A. occidentale* também verificaram atividade sobre algumas bactérias e Mendonça et al. (2005) constataram a toxicidade do óleo para as larvas do mosquito *Aedes aegypti* (Hymenoptera: Diptera).



**Figura 1:** *Anacardium occidentale*: **A** – Vista geral da árvore; **B** – Detalhe de folhas e flores; **C** – Detalhe do pseudofruto; **D** – Detalhe do fruto (LORENZI, 2002).

#### 4.6.2 *Azadirachta indica* (Nim)

O nim indiano pertence à família Meliaceae, do mesmo modo que diversas espécies de árvores conhecidas pela madeira de grande utilidade, como o mogno, o cedro, o cinamomo, o cedrilho, a canjerana e a triquília. Nativo do Sudeste da Ásia, é cultivado em diversos países da Ásia, em todos os países da África, na Austrália, América do Sul e Central. É usado há séculos na Ásia, principalmente na Índia, como planta medicinal. Sua árvore pode alcançar 15m de altura, com tronco semi-reto e curto possuindo 30 a 80cm de diâmetro, tem uma casca grossa e dura e possui flores brancas ou de cor creme, encontrando-se tanto flores masculinas como femininas na mesma planta (Figura 2). Possui diversos usos, em especial antiséptico, curativo ou vermífugo e também é utilizado no preparo de sabões medicinais, cremes e pastas dentais. A árvore é usada para sombra e possui madeira de qualidade para a produção de móveis, construção de batentes e portas, caixas, lenha e carvão (MARTINEZ, 2002).

Segundo Vendramim (2000), o nim é considerado, atualmente, a mais importante planta inseticida, apresentando uma série de compostos químicos dos quais a

azadiractina é o que apresenta maior atividade. Essa substância possui efeitos tóxicos, repelentes, deterrentes alimentar, inibição da oviposição, do crescimento e da reprodução de vários insetos (SCHMUTTERER, 1990; JACOBSON, 1989; REMBOLD, 1989; SAXENA, 1989). Os derivados mais utilizados são os óleos extraídos das sementes (ISMAN, 1990; IVBIJARO, 1990) e os extratos da folha (SCHMUTTERER, 1990).

A ação dos extratos de nim sobre insetos é bastante variável de espécie para espécie. Há registros de ação sobre mais de 400 espécies de insetos e ácaros, além da ação contra fungos, bactérias e nematóides (MARTINEZ, 2002).



**Figura 2:** *Azadirachta indica*: **A** – Vista geral da árvore; **B** – Detalhe das folhas; **C** – Detalhe do fruto (MARTINEZ, 2002).

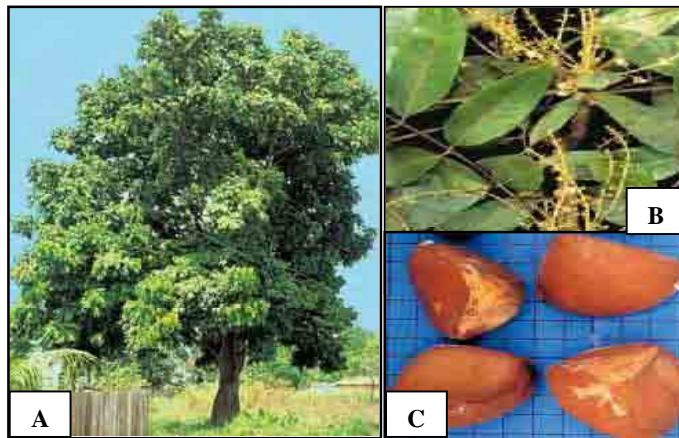
#### 4.6.3 *Carapa guianensis* (Andiroba)

A andiroba pertence à família Meliaceae. No Brasil é encontrada em toda a Bacia Amazônica, com predominância nas faixas alagáveis, frequentemente formando associações com seringueiras e outras espécies, sendo que a maior ocorrência dessa espécie é nos estados do Pará, Amapá, Amazonas, Maranhão e Roraima. Sua árvore é de grande porte, chegando a atingir 30 metros de altura e 120cm de diâmetro. Possui frutos em forma de amêndoas, de coloração ferrugem que encerram sementes vermelhas, ricas em óleo (LORENZI, 2002). A casca é grossa e amarga e apresenta

coloração avermelhada, podendo também ser acinzentada. As sementes de um mesmo fruto podem apresentar grande variação em tamanho (FERRAZ et al., 2002) e nelas se encerram 70% de óleo insetífugo e medicinal (Figura 3) (LORENZI, 2002).

O óleo que é extraído de suas sementes é um dos óleos medicinais mais utilizados na Amazônia, conhecido popularmente como azeite de andiroba, que tem varias funções terapêuticas, sendo utilizado como cicatrizante, insetífugo, febrífugo antiinflamatório externo e antihelmíntico. Também é indicado no tratamento de contusões, estados doloridos e reumatismos e é empregado na fabricação de sabonetes, shampoos e velas repelentes a insetos (PINTO, 1963 apud SILVA et al., 2004).

Ambrozim (2000) estudando a toxicidade de extratos, frações e substâncias puras de andiroba sobre operárias de *A. sexdens rubropilosa* e seu fungo simbiote verificou que o óleo é tóxico tanto para as formigas quanto para o fungo. Observou ainda, que o óleo bruto, a fração hexano e o triglicerídeo ocasionaram 50% de inibição do fungo, sugerindo que os triglicerídeos são agentes fungicidas.



**Figura 3:** *Carapa guianensis*: **A** – Vista geral da árvore; **B** – Detalhe das folhas; **C** – Detalhe do fruto (LORENZI, 2002).

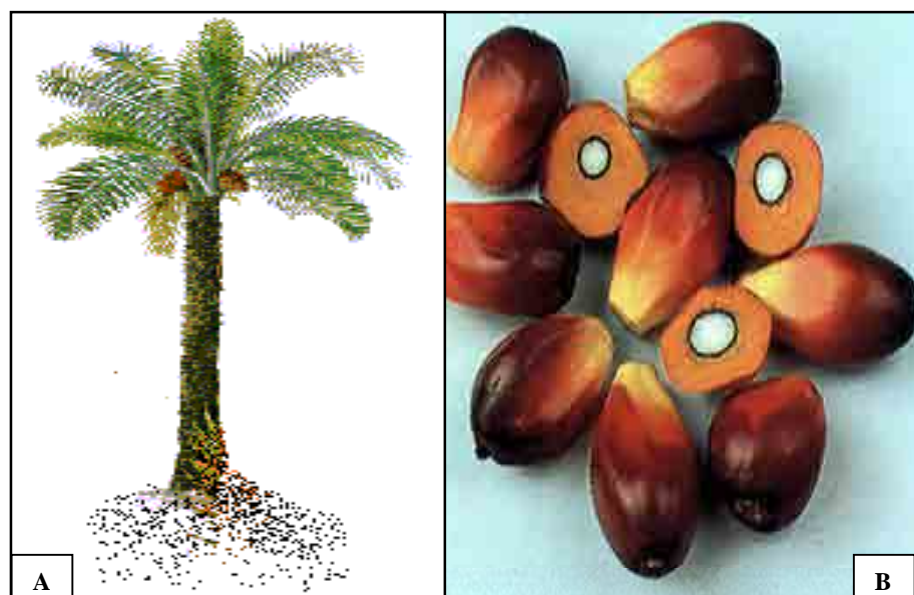
#### 4.6.4 *Elaeis guineensis* (Dendê)

O dendezeiro (*Elaeis guineensis*), pertencente à família Palmae (Arecaceae), é originário da África, sendo encontrado em povoamentos subspontâneos desde o Senegal até a Angola (BAHIA, 2006b). Foi introduzido no Brasil no século XVI, pelos escravos e se adaptou ao litoral sul do Estado da Bahia (BAHIA, 2006b; SUPERINTENDÊNCIA DA ZONA FRANCA DE MANAUS - SUFRAMA, 2003a).

A palmeira de até 15m de altura apresenta estipe ereto, escuro e anelado devido às cicatrizes deixadas pelas folhas antigas, suas folhas são grandes podendo atingir até 1m de comprimento com as bases recobertas de espinhos. As flores são creme-amareladas, aglomeradas em cachos e os frutos apresentam forma ovóide, alongada, angulosa, de coloração amarela ou laranja (Figura 4) (BIBLIOTECA VIRTUAL DO ESTUDANTE BRASILEIRO, 2006).

Entre as oleaginosas, a cultura do dendê é a de maior produtividade, com um rendimento de 4 a 6 toneladas de óleo/ha. Além do óleo de palma, seu principal produto, ainda pode-se extrair o óleo palmiste oriundo da amêndoa, tendo como subproduto a torta, que se destina à ração animal. No processamento dos frutos de dendê são produzidos resíduos sólidos que podem gerar energia térmica ou elétrica para a própria unidade industrial ou para uso nas comunidades rurais (PERES et al., 2005).

Os óleos de palma e palmiste apresentam ampla utilização na indústria de alimentos, farmacêutica e química, além de seu potencial como fonte de energia alternativa, capaz de substituir o óleo diesel. São mais de 15 formulações distintas que servem de matéria-prima para quase 50 produtos, desde o uso alimentar (margarina, óleo de cozinha e frituras) ao industrial (sabão, sabonete, óleo diesel, plásticos e tintas) (FUNDAÇÃO CPE, 1993; MESQUITA, 2002).



**Figura 4:** *Elaeis guineensis*: **A** – Vista geral da palma; **B** – Detalhe do fruto (Purdue University - Center for New Crops & Plant Products, 2006)

#### 4.6.5 *Ricinus communis* (Mamona)

A mamona é uma planta de clima tropical e subtropical. Sua origem é incerta, podendo ser asiática ou africana e possui extensa distribuição geográfica, sendo cultivada em quase todas as zonas tropicais e subtropicais do mundo (FORNAZIERI JUNIOR, 1986). Acredita-se que as sementes da mamona tenham chegado ao Brasil no século XVI trazidas pelos escravos, onde se disseminou e hoje é muito comum em todos os estados brasileiros (RODRIGUES et al., 2002).

Pertencente à família Euphorbiaceae, que engloba vasto número de plantas nativas da região tropical, é uma planta arbustiva, com diversas colorações de caule, folhas e racemos (cachos), podendo ou não possuir cera no caule e pecíolo. Os frutos, em geral, possuem espinhos e, em alguns casos, são inermes e as sementes apresentam-se com diferentes tamanhos, formatos e grande variabilidade de coloração (Figura 5). O óleo de mamona ou de rícino, extraído pela prensagem das sementes, contém 90% de ácido graxo ricinoléico, conferindo ao óleo suas características singulares e possibilitando ampla utilização industrial, o que torna a cultura da mamoneira importante potencial econômico e estratégico ao país. A torta de mamona é utilizada como adubo orgânico, possuindo efeito nematicida (SAVY FILHO, 2001).

Devido à presença de uma proteína tóxica, presente nas sementes e que persiste na torta após aproveitamento do óleo, o resíduo é apenas utilizado na fabricação de adubos e não na alimentação de animais (ALZUGARAY & ALZUGARAY, 1984). A intoxicação por folhas de mamona foi verificada em ovinos e caprinos por Bezerra & Brito (1995) onde os animais apresentavam sintomas de intoxicação caracterizados por perturbações no sistema neuromuscular, com dificuldade no caminhar, tremores musculares e morte rápida. Fernandes W.R. et al. (2002) observaram intoxicação em eqüinos após a ingestão e aspiração de um filtrado preparado à base de frutos de mamona, acarretando comprometimentos hepático e renal, peritonite e desidratação.

O óleo da mamona foi utilizado por Salas & Hernandez (1985) que constataram a toxicidade desta planta para pragas de grãos armazenados *Acanthoscelides obtectus* (Coleoptera: Bruchidae), tendo ainda observado 100% de mortalidade dos insetos em uma hora de tratamento, utilizando 10 mL de óleo para cada quilo de semente de milho.

Niber et al. (1992) também comprovaram a toxicidade da mamona utilizando extratos brutos da semente, obtidos em solvente etanol, para *A. obtectus* (Coleoptera: Bruchidae), *Sitophilus oryzae* (Coleoptera: Curculionidae) e *Prostephanus truncatus* (Coleoptera: Bostrichidae), através de aplicação tópica dos extratos, em condições de laboratório.



**Figura 5.** *Ricinus communis*: **A** – Vista geral do arbusto (ACÁCIO-BIGLI, 1994); **B** – Detalhe do fruto (EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA - EMBRAPA, 2006).

#### 4.6.6 *Sesamum indicum* (Gergelim)

O gergelim (Pedaliaceae) é uma planta exótica de origem incerta, podendo situar-se entre a Ásia e a África (BAHIA, 2006c). É extensivamente cultivada na Índia, Indonésia, Japão, em algumas regiões da África, Estados Unidos, México e outros países da América Latina (DASHAK & FALI, 1993).

Arbusto de pequeno porte alcançando altura de 1,8m podendo possuir o crescimento ramificado ou não. Suas folhas possuem formato oval, largas ou serreadas e suas flores podem ter cor rósea, branca ou violeta. O fruto é uma baga alongada com pelugem contendo sementes pequenas com cor variando do branco ao preto (Figura 6) (BAHIA, 2006c).

O principal produto do gergelim é a semente, podendo ser utilizada na culinária, medicina e indústria farmacêutica. As sementes são comestíveis, fornecendo óleo e

farinha que contém vitaminas A, B e C e alto teor de cálcio, fósforo e ferro (grãos pretos são mais ricos em cálcio e vitamina A). O óleo da semente de gergelim tem teores altos de ácidos graxos insaturados, de proteína digestível e de sesamol (2%); além do mais o óleo possui grande resistência à rancificação por oxidação (propriedade atribuída ao sesamol) (BAHIA, 2006c).



**Figura 6:** *Sesamum indicum* **A** – Vista geral do arbusto e do fruto (DFT DIGITAL LIBRARY, 2006); **B** – Detalhe das sementes (BOTANIC SPICE, 2006); **C** – Detalhe da flor (DFT DIGITAL LIBRARY, 2006).

#### 4.6.7 *Theobroma cacao* (cacau)

O cacaueiro é uma planta da família Sterculiaceae, originária do continente Sul Americano, provavelmente das bacias dos rios Amazonas e Orinoco. Atinge entre 5 a 8 metros de altura e entre 4 a 6 metros de diâmetro da copa, quando proveniente de semente. Em florestas, devido ao sombreamento, pode atingir uma altura de até 20 metros (SUFRAMA, 2003b). Suas pequenas flores se inserem sobre o tronco e ramos, onde também surgem os frutos de tamanho e formato variável (Figura 7) (NAKAYAMA et al., 1996).

A madeira tem aplicações apenas para lenha e carvão e os frutos são comestíveis, tanto “in natura” como industrializados. Na forma “in natura” é utilizado para o preparo de refrescos, licores e chocolate caseiro, sendo sua polpa também

consumida. O principal valor comercial do cacau está nas sementes, transformadas industrialmente em chocolate e consumida em todo o mundo (LORENZI, 2002). Dela extrai-se a manteiga, muito utilizada na indústria farmacêutica e cosmética, a torta e o pó, utilizados na indústria chocolateira e moageira para fabricação de doces, confeitos e massas. Já a polpa do cacau, rica em açúcares, é utilizada na fabricação de geléia, vinho, licor, vinagre e suco (SUFRAMA, 2003b).

É largamente cultivado em plantações comerciais na região Amazônica e na Bahia (LORENZI, 2002), sendo que a produção nacional de cacau em amêndoas está concentrada no sul da Bahia (83% da oferta brasileira, especialmente nos municípios de Itabuna, Camacã e Ilhéus), seguida pelo Pará (9,9% da oferta brasileira, focalizada nos municípios de Medicilândia, Uruará, Altamira e Tomé-Açú) e por Rondônia (5,4% da produção brasileira, concentrada nos municípios ao longo da rodovia BR-364 ou Transamazônica) (SUFRAMA, 2003b).



**Figura 7:** *Theobroma cacao*; **A** – Vista geral da árvore; **B** – Detalhe das folhas (LORENZI, 2002); **C** – Detalhe do fruto (SUFRAMA, 2003b).

## 5. MATERIAL E MÉTODOS

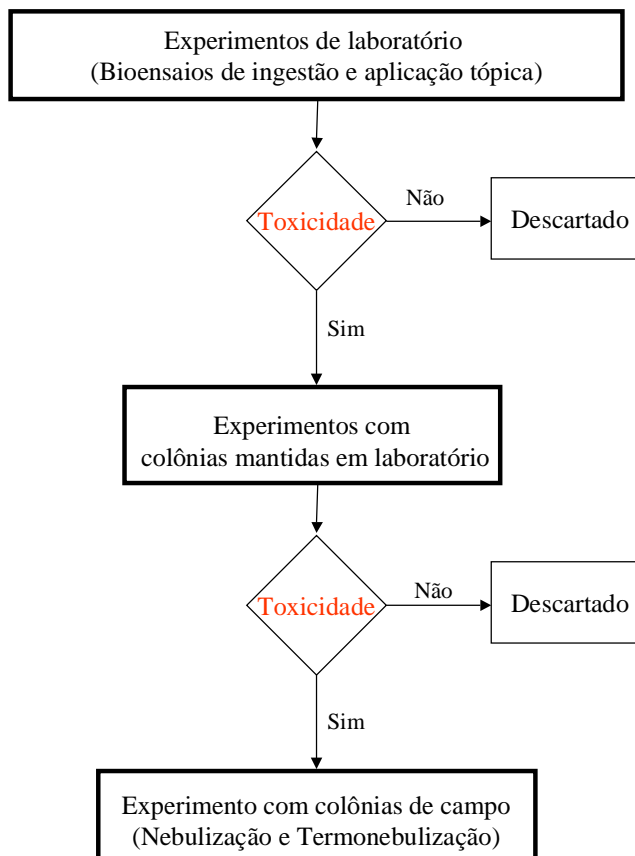
### 5.1 Delineamento experimental

Inicialmente, foram realizados os bioensaios de toxicidade “in vitro” de ingestão e aplicação tópica, utilizando-se operárias médias de *Atta sexdens rubropilosa*, cujo peso variou entre 10 e 20 mg e cápsula cefálica entre 2,0 e 2,8 mm. Após a obtenção dos resultados, aqueles óleos que se mostraram tóxicos às operárias foram aplicados em colônias mantidas no laboratório pela técnica de nebulização e aplicação de iscas granuladas. Na etapa seguinte, realizou-se os bioensaios de nebulização e termonebulização em ninhos de campo, utilizando os óleos que apresentaram toxicidade em todas as etapas laboratoriais (Figura 8).

### 5.2 Obtenção dos óleos brutos

O processo de obtenção dos óleos brutos de sementes de andiroba, *C. guianensis* Aubl. (Meliaceae); gergelim, *S. indicum* L. (Pedaliaceae); mamona *R. Communis* L. (Euphorbiaceae); nim *A. indica* Juss (Meliaceae); casca da castanha de caju, *A. occidentale* L. (Anacardiaceae) e da manteiga de cacau *T. cacao* L. (Sterculiaceae) foi essencialmente físico, mediante o uso de prensas industriais. O óleo da semente de dendê *E. guineensis* Jacq. (Arecaceae) foi extraído através de um processamento artesanal, correspondente a uma espécie de agroindústria rústica familiar, típica da Bahia, no qual o óleo é extraído da semente mediante prensagem contínua das sementes da planta até a formação de uma pasta. Após uma semana de repouso da parte sólida ocorreu

decantação e o sobrenadante foi isolado sendo considerado óleo bruto da semente e o restante denominado pasta da semente.



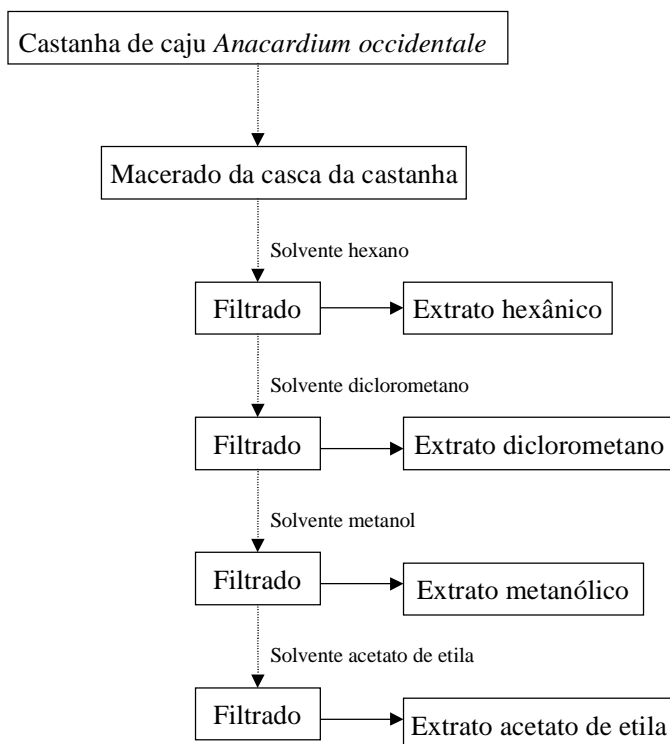
**Figura 8:** Diagrama do delineamento experimental utilizado no presente trabalho.

### 5.3 Obtenção dos extratos da casca da castanha de caju, *Anacardium occidentale*

Os extratos da castanha do caju foram obtidos através da trituração da casca até obter três porções iguais de 400 gramas que foram colocadas em Erlenmeyer de 2 litros, adicionados os solventes e submetidos a percolação por 10 dias. Após a filtração, adicionou-se um novo solvente ao filtrado e este, foi concentrado com o auxílio do evaporador rotativo.

A obtenção dos extratos foi seqüencial por ordem crescente de polaridade dos solventes: hexano, diclorometano, acetato de etila e metanol, em temperatura ambiente.

Dessa forma, os extratos obtidos foram denominados: hexânico, diclorometano, acetato etílico e metanólico, como representado na Figura 9.



**Figura 9:** Esquema da obtenção dos extratos orgânicos da casca da castanha de caju, *Anacardium occidentale*.

## 5.4 Bioensaios “in vitro” de toxicidade em operárias de *Atta sexdens rubropilosa*

### 5.4.1 Origem das formigas

As operárias de *A. sexdens rubropilosa* utilizadas nos bioensaios, foram as de tamanho médio, obtidas de ninhos adultos (Figura 10), mantidos em salas climatizadas com temperatura de  $24 \pm 1^{\circ} \text{C}$  e U.R. acima de 70%, no Laboratório do Centro de Estudos de Insetos Sociais (CEIS) do Instituto de Biociências da UNESP de Rio Claro – SP, Brasil ( $22^{\circ} 25' \text{S}$ ,  $47^{\circ} 31' \text{N}$ ), durante o período de 2002 a 2004.

Para manutenção do formigueiro foram oferecidos diariamente folhas de eucalipto, hibisco, ligustro, roseiras ou flocos de aveia.



**Figura 10:** Vista geral de formigueiro de *Atta sexdens rubropilosa* mantido no Centro de Estudos de Insetos Sociais (CEIS) da UNESP, Rio Claro, SP.

#### **5.4.2 Dieta artificial para manutenção das operárias**

Para manutenção das formigas “in vitro” foi preparada uma dieta sólida com 1% de peptona bacteriológica, 1,5% de ágar bacteriológico, 0,1% de extrato de levedura e 5% de glicose, dissolvidos em 100 mL de água destilada. A mistura foi homogeneizada e em seguida autoclavada a 120° C e 1 atm, por aproximadamente 20 minutos (BUENO et al., 1997). Depois, em uma sala esterilizada por raios UV, a dieta ainda líquida, foi vertida em placas de Petri de 10 cm de diâmetro previamente esterilizadas na autoclave e, após o resfriamento, as placas foram envolvidas com filme PVC e mantidas na geladeira para melhor conservação durante o período dos bioensaios.

### 5.4.3 Determinação da toxicidade

Em todos os bioensaios, as formigas foram retiradas dos formigueiros e distribuídas em lotes de 50 operárias para cada concentração testada (tratamento) divididas em grupo de 10 formigas e mantidas em 5 placas de Petri de 10 cm de diâmetro, forradas com papel filtro. Essas placas foram colocadas ao acaso nas prateleiras de uma estufa para B.O.D. com temperatura média de  $24\pm 1^{\circ}\text{C}$  e umidade relativa acima de 70% (Figura 11) e examinadas diariamente, para retirada e anotação do número de formigas mortas (BUENO et al., 1997).

A dieta para manutenção das formigas (controle) ou as dietas acrescidas dos produtos naturais foram colocadas em papel alumínio na quantidade aproximada de 0,4g a 0,5g por placa. A cada 24 horas as dietas foram renovadas e sempre que necessário, os papéis filtro foram trocados, a fim de se evitar o desenvolvimento de microorganismos contaminantes e, conseqüentemente, estes alterassem o comportamento e/ou a sobrevivência das formigas.

Foi estipulado um período máximo de 25 dias para realização dos experimentos de toxicidade, levando em consideração o período máximo de sobrevivência das operárias submetidas a essas condições (BUENO et al., 1997).



**Figura 11:** Disposição das placas de Petri nos bioensaios em estufa B.O.D. com temperatura e umidade relativa controladas.

#### 5.4.3.1 Ingestão

Todos os óleos ou extratos foram incorporados na dieta utilizando o método dry-mix, que consiste em acrescentar o princípio ativo à glicose e aos demais ingredientes secos da dieta e, posteriormente, à água destilada, não utilizando solvente. Em seguida, a mistura foi homogeneizada e autoclavada a 120° C e 1 atm, por 20 minutos (BUENO et al., 1997).

As formigas foram distribuídas nas placas de Petri e juntamente a elas foi acrescentada a dieta contendo óleo ou extratos.

Os óleos de *A. indica*, *C. guianensis*, *E. guineensis*, *R. communis*, *S. indicum*, *T.cocoa* e *A. occidentale* foram adicionados à dieta na concentração final de 5 mg/mL, 10 mg/mL e 30 mg/mL e os extratos da casca de castanha de *A. occidentale* foram adicionados na concentração de 2 mg/mL, 10 mg/mL e 20 mg/mL determinados a partir das concentrações de diferentes bioensaios, com compostos que causam efeitos tóxicos nas operárias de *A. sexdens rubropilosa*, desenvolvidos no Laboratório (ACÁCIO-BIGI et al., 1998 e 2004; BUENO et al., 2004a e b; BUENO F.C., 2005).

Nos bioensaios por ingestão foi utilizado um controle que constituiu no oferecimento de apenas dieta artificial com o intuito de verificar a interferência do manuseio na sobrevivência das formigas.

#### 5.4.3.2 Aplicação tópica

Os óleos e extratos foram dissolvidos em solventes orgânicos e, com o auxílio de uma pinça de ponta mole, cada formiga foi imobilizada para receber 1µL do tratamento ou do respectivo controle no pronoto, através de uma microseringa adaptada a um micrômetro (Figura 12).

Após a aplicação, as formigas permaneceram por um período de aproximadamente 30 minutos nas bandejas para completar a evaporação dos solventes antes de sua distribuição aleatória nas 5 placas de Petri, previamente esterilizadas e forradas com papel filtro.

Para esse tipo de bioensaio foram utilizados dois controles. No primeiro foi aplicado solvente no pronoto das formigas e, no segundo as formigas não receberam

nenhuma aplicação, sendo apenas distribuídas em placas e mantidas com dieta artificial. O objetivo do primeiro controle foi avaliar a toxicidade do solvente orgânico, enquanto que o segundo foi verificar a interferência do manuseio na sobrevivência das formigas.

As concentrações testadas foram  $0,02\mu\text{L}/\mu\text{L}$ ,  $0,1\mu\text{L}/\mu\text{L}$  e  $0,2\mu\text{L}/\mu\text{L}$  para todos os óleos brutos e extratos (ACÁCIO-BIGI et al., 1998; BUENO et al., 2004b).



**Figura 12:** Operária de *Atta sexdens rubropilosa* recebendo  $1\mu\text{L}$  do tratamento no pronoto com o auxílio de uma microseringa adaptada a um micrômetro.

#### 5.4.4 Análise dos dados

Os dados dos bioensaios de ingestão e aplicação tópica foram avaliados através da determinação das porcentagens de formigas mortas por dia para cada tratamento. Posteriormente, determinou-se o tempo de sobrevivência mediana e as curvas de sobrevivência através do teste não paramétrico “Log Rank”, com nível de significância de 5% (ELANDT-JOHNSON & JONSON, 1980), utilizando-se o software Graph-Pad, aplicativo Prisma 3.0.

## **5.5 Bioensaios em colônias de *Atta sexdens rubropilosa* mantidas em laboratório**

### **5.5.1 Origem e manutenção das colônias**

As colônias de *A. sexdens rubropilosa* utilizadas nesta etapa foram coletadas na Fazenda Corumbataí, Corumbataí, SP (22° 17' S, 47° 39' W) em março de 2003 e, posteriormente, transferidas para ninhos artificiais constituídos de três câmaras, sendo uma para o jardim de fungo (1000 mL), uma de lixo (500 mL) e a outra para o fornecimento do alimento (Figura 13)

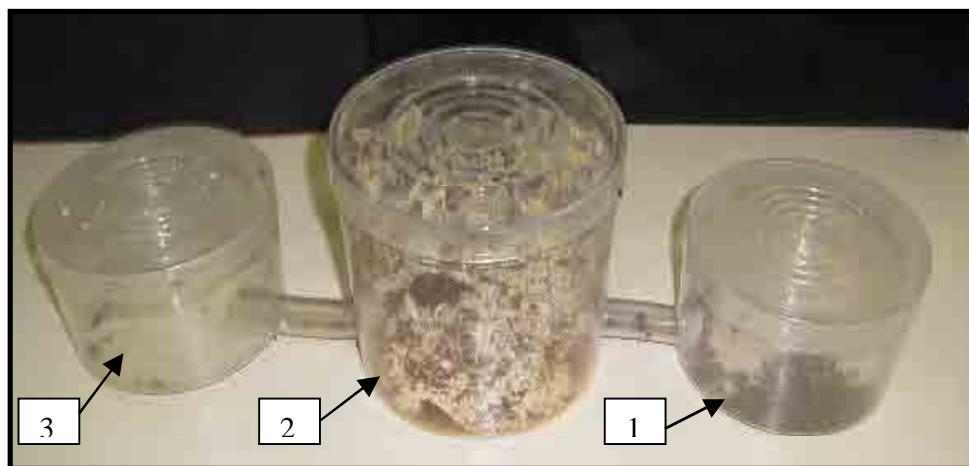
As colônias foram mantidas em laboratório com temperatura e umidade relativa controladas ( $24 \pm 1^{\circ}$  C e U.R acima de 70%) e foram oferecidos diariamente folhas de eucalipto e flocos de aveia até que o jardim de fungo atingisse o volume de 1000 mL, ideal para a realização dos bioensaios.

### **5.5.2 Iscas granuladas**

#### **5.5.2.1 Preparação das iscas**

Os óleos vegetais de *A. indica* (nim), *A. occidentale* (caju) e *E. guineensis* (dendê), selecionados nos bioensaios por ingestão “in vitro” por apresentarem toxicidade às operárias, foram adicionados a uma mistura de 84% de polpa cítrica, 8% de óleo de soja, 7,5% de farinha de trigo e 0,5% de aglomerante Carboxi Metil Celulose (CMC) na concentração de 4%. Posteriormente, essa mistura foi processada em uma peletizadora comercial de pequeno porte, obtendo-se pellets de 2 mm de diâmetro e 5 mm de comprimento. Após esse processo, as iscas foram resfriadas, embaladas em sacos plásticos e armazenadas em local seco até a realização dos bioensaios.

Os óleos não utilizados nos experimentos devem-se a ausência toxicidade sobre operárias de *A. sexdens rubropilosa* nos experimentos laboratórios ou a existência de bioensaios por outros pesquisadores do laboratório e estes serão publicados posteriormente.



**Figura 13:** Colônias incipientes mantidas em laboratório. 1: câmara de lixo, 2: câmara de fungo; 3: câmara de alimentação

### 5.5.2.2 Avaliação das iscas

Foram selecionadas 12 colônias incipientes de *A. sexdens rubropilosa* mantidas em laboratório, com 1000 mL de jardim de fungo, distribuídas em 4 colônias para cada um dos 3 tratamentos, além, do grupo testemunha que recebeu somente iscas sem ingrediente ativo.

Antes da realização dos testes, houve a limpeza das colônias, retirando todas as folhas e lixo. Em seguida, foram deixadas sem alimento por 24 horas e após esse período receberam 3g da isca (BUENO F.C., 2005). Depois de 24 horas do oferecimento da isca, a sobra do material foi retirada e pesada, estimando-se o carregamento da isca, além de observar a incorporação da isca no jardim de fungo e a ocorrência de devolução.

As colônias voltaram a receber folhas de eucalipto e flocos de aveia e, durante 60 dias, foram realizadas avaliações diárias dos seguintes itens: intoxicação das formigas, corte de folhas, mortalidade de formigas, mudança de panela, presença de fungo filamentosos, presença de pedaço de fungo no lixo, desorganização do fungo simbionte, mortalidade de rainha e condições da colônia (FORTI et al., 1993). Para cada item avaliado foram utilizadas as seguintes escalas de quantificação, segundo Bueno

F.C. (2005):

Carregamento de iscas: 0 – sem carregamento; 1 – 25% de carregamento; 2 – 50% de carregamento; 3 – 75% de carregamento; 4 – 100% de carregamento.

Incorporação da isca no jardim de fungo: 0 – sem incorporação; 1 – 25% de incorporação; 2 – 50% de incorporação; 3 – 75% de incorporação; 4 – 100% de incorporação.

Devolução da isca: 0 – sem devolução; 1 – 25% de devolução; 2 – 50% de devolução; 3 – 75% de devolução; 4 – 100% de devolução.

Sintomas de intoxicação (pernas paralisadas, movimentos lentos): 0 – sem sintomas de intoxicação; 1 – 25% das formigas com sintomas de intoxicação; 2 – 50% das formigas com sintomas de intoxicação; 3 – 75% das formigas com sintomas de intoxicação; 4 – 100% das formigas com sintomas de intoxicação.

Corte de folha (quantidade): 0 – 0% da folha cortada; 1 – 25% da folha cortada; 2 – 50% da folha cortada; 3 – 75% da folha cortada; 4 – 100% da folha cortada.

Mortalidade de formigas: 0 – 0% de mortalidade das formigas, 1 – 25% das formigas mortas; 2 – 50% das formigas mortas; 3 – 75% das formigas mortas; 4 – 100% das formigas mortas.

Fungo cortado no jardim de fungo ou câmara de lixo (quantidade): 0 – sem corte do fungo; 1 – 25% do fungo cortado; 2 – 50% do fungo cortado; 3 – 75% do fungo cortado; 4 – 100% do fungo cortado.

Colônia com mudança de panela: 0 – sem mudança de panela; 1- com mudança de panela.

Colônia com redução no jardim de fungo: 0 – sem redução; 1 – com redução.

Colônia com fungos filamentosos: 0 - Presente ou 1 – Ausente.

Rainha morta: 0 – rainha viva ou 1 – rainha morta.

Condição da colônia: 0 – Colônia completamente morta; 1 – regressão de 75% da colônia; 2 – regressão de 50% da colônia; 3 – regressão de 25% da colônia; 4 – colônia em perfeitas condições.

### 5.5.3 Nebulização

Para realização dos bioensaios de nebulização, foi simulado o método de termonebulização, sem aquecimento, através do desenvolvido um equipamento composto de um compressor portátil adaptado ao recipiente plástico descartável (unidade nebulizadora) do conjunto para inalação modelo I-205<sup>®</sup> (Figura 14).

Inicialmente foram realizados testes para padronização de bioensaios com o óleo mineral OPPA-BR-CE<sup>®</sup>, óleo vegetal Natur`L<sup>®</sup> e Liza<sup>®</sup>.

Na padronização foram selecionadas 26 colônias incipientes de *A. sexdens rubropilosa* com 1000 mL de jardim de fungo, distribuídas entre os tratamentos (Experimentos 1 a 3), inclusive o grupo testemunha que recebeu somente água. Todavia, optou-se por utilizar na maioria dos testes, o óleo de soja por ser facilmente encontrado no mercado.

Após a padronização de cada veículo foram adicionados a estes, em testes distintos, os óleos brutos de *C. guianensis* (andiroba), *E. guineensis* (dendê), *S. indicum* (gergelim), *R. communis* (mamona), *A. indica* (nim), *A. occidentale* (caju) e os extratos de *A. occidentale* (caju), na concentração de 30%. Para tanto, foram selecionadas 48 colônias de *A. sexdens rubropilosa* distribuídas em 12 tratamentos, com 4 repetições cada (Experimentos 4 a 6).

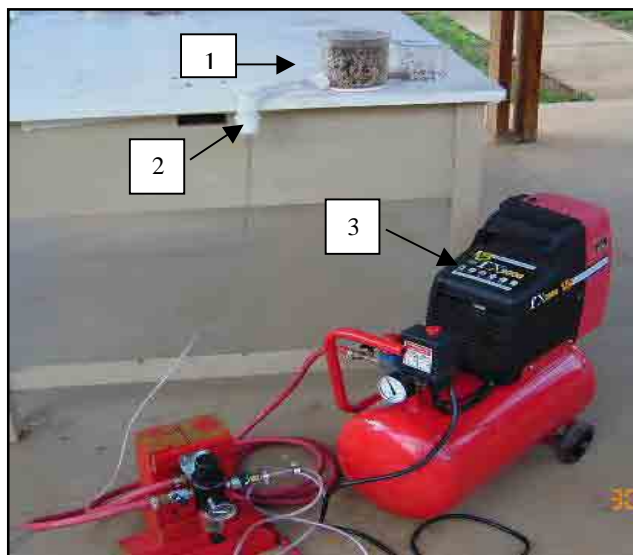
Os ingredientes foram homogeneizados manualmente de modo a formar uma calda e, posteriormente foram colocados no recipiente plástico descartável (unidade nebulizadora) do conjunto para nebulização I-205<sup>®</sup>. Para cada ninho contendo 1L de jardim de fungo utilizou-se 5mL de calda do produto, padrão utilizado comercialmente (LOECK et al., 2001). Assim, foram testados:

**Experimento 1:** Padronização do óleo OPPA-BR-CE<sup>®</sup> - 5 tratamentos com 2 repetições.

- a) Tratamento 1: água (100%) – Controle;
- b) Tratamento 2: água (20%) e 80% de óleo mineral;
- c) Tratamento 3: água (40%) e 60% de óleo mineral;
- d) Tratamento 4: água (60%) e 40% de óleo mineral;
- e) Tratamento 5: água (80%) e 20% de óleo mineral.

**Experimento 2:** Padronização do óleo vegetal Natur`L<sup>®</sup> óleo - 4 tratamentos com 2 repetições.

- a) Tratamento 1: água (100%) – Controle;
- b) Tratamento 2: água (70%) e 30% de óleo vegetal;
- c) Tratamento 3: água (50%) e 50% de óleo vegetal;
- d) Tratamento 4: 100% de óleo vegetal.



**Figura 14:** Equipamento desenvolvido para nebulização em ninhos artificiais. 1: ninho artificial de *Atta sexdens rubropilosa*; 2: recipiente plástico descartável do conjunto para nebulização individual I-205<sup>®</sup>; 3: compressor portátil.

**Experimento 3:** Padronização do óleo vegetal Liza<sup>®</sup> – 4 tratamentos com 2 repetições.

- a) Tratamento 1: água (100%) – Controle;
- b) Tratamento 2: água (70%) e 30% óleo de soja;
- c) Tratamento 3: água (50%) e 50% óleo de soja;
- d) Tratamento 4: 100% óleo soja.

**Experimento 4:** Teste utilizando óleos naturais - 6 tratamentos com 4 repetições.

- a) Tratamento 1: óleo de soja (100%) – Controle;
- b) Tratamento 2: *A. indica* (30%) e 70% de óleo de soja;
- c) Tratamento 3: *E. guineensis* (30%) e 70% de óleo de soja;

- d) Tratamento 4: *C. guianensis* (30%) e 70% de óleo de soja
- e) Tratamento 5: *S. indicum* (30%) e 70% de óleo de soja
- e) Tratamento 6: *R. communis* (30%) e 70% de óleo de soja

**Experimento 5:** Teste utilizando o óleo bruto e os extratos da casca da castanha de *A. occidentale* - 6 tratamentos com 4 repetições.

- a) Tratamento 1: óleo de soja (100%) – Controle;
- b) Tratamento 2: óleo bruto (30%) e 70% de óleo de soja;
- c) Tratamento 3: extrato hexânico (30%) e 70% de óleo de soja;
- d) Tratamento 4: extrato diclometano (30%) e 70% de óleo de soja;
- e) Tratamento 5: extrato acetato etílico (30%) e 70% de óleo de soja;
- f) Tratamento 6: extrato metanólico (30%) e 70% de óleo de soja;

#### **5.5.3.1 Avaliação da nebulização**

Todas as colônias selecionadas para os experimentos de nebulização foram submetidas aos mesmos procedimentos metodológicos descritos no item 5.5.2.2 e após 24 horas, cada colônia recebeu 5 mL do produto a ser testado.

As colônias voltaram a receber o suprimento usual após 24 horas da aplicação e durante 1, 2, 3, 7, 14, 28, 35, 42, 50 e 60 dias subsequentes a aplicação foram realizadas avaliações baseadas nas observações de: intoxicação das formigas, corte de folhas, mortalidade de formigas, mudança de panela, presença de fungo filamentosos, presença de pedaço de fungo no lixo, desorganização do fungo simbiote, mortalidade de rainha e condições da colônia (FORTI et al., 1993). Os itens foram avaliados de acordo com a metodologia utilizada por BUENO F.C (2005), exceto as avaliações de carregamento, incorporação e devolução de iscas.

## **5.6. Testes de nebulização em colônias de campo de *Atta sexdens rubropilosa***

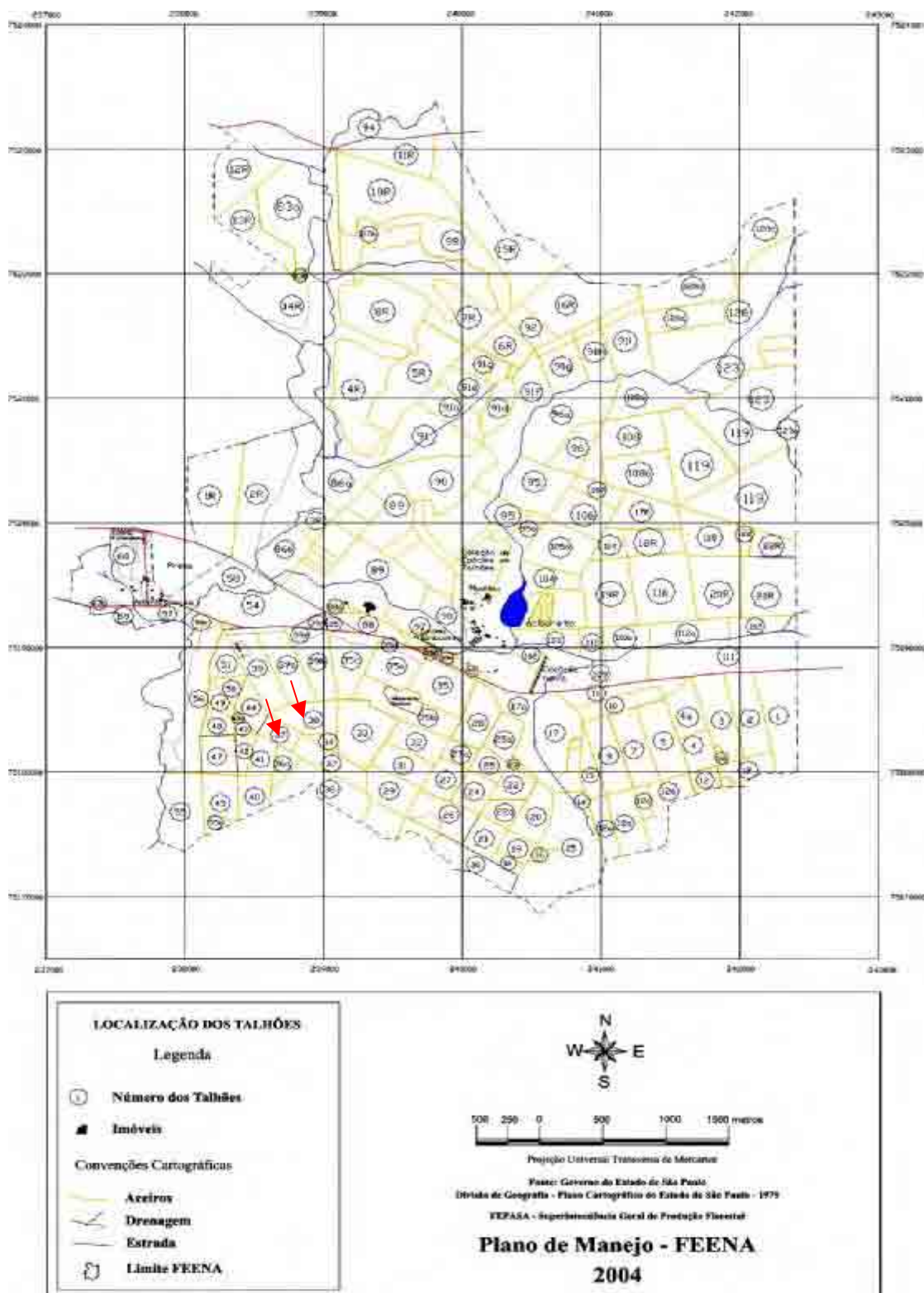
### **5.6.1 Área de estudo**

Os testes de nebulização foram desenvolvidos durante o ano de 2005 na Floresta Estadual Edmundo Navarro de Andrade (FEENA), localizada no Município de Rio Claro (22°25' S, 47°33' W), Estado de São Paulo, ocupando uma área total de 2.222,80 hectares, distribuídos em talhões de aproximadamente 36x40m com plantio de árvores exóticas, principalmente do gênero *Eucalyptus* (TOLEDO et al., 2003).

Para o desenvolvimento dos testes de nebulização foram utilizadas colônias, selecionadas nos talhões 37 e 38, os quais possuíam as espécies *Eucalyptus urophylla* e *Eucalyptus propinqua*, respectivamente (Figura 15).

### **5.6.2 Colônias utilizadas**

Após um censo da área, foram selecionadas 20 colônias ativas, que foram marcadas com estacas de madeira e identificadas por números. Depois, foram realizadas as medidas (maior comprimento e maior largura) para determinação da área do formigueiro e posterior dosagem do produto. Também, foi medida a altura do monte de terra solta (murundum) (Tabela 1), considerando que as colônias estavam localizadas em uma área sem atividade mecanizada e os murunduns estavam relativamente altos. Na aplicação da nebulização, com base na atividade forrageira, foram selecionados pelo menos dois orifícios de abastecimento por colônia.



**Figura 15:** Mapa da Floresta Estadual Edmundo Navarro de Andrade (FEENA), Rio Claro, São Paulo. → : Talhões utilizados no presente trabalho.

**Tabela 1:** Colônias de *Atta sexdens rubropilosa* submetidas ao tratamento de nebulização, localizadas na Floresta Estadual Edmundo Navarro de Andrade, com respectivas áreas de terra solta (murundum), tratamento recebido e dosagem do produto.

Tratamento	Estaca	Dimensão (m <sup>2</sup> )	Murundum (m)	Produto gasto (mL)
Controle (OPPA-BR- CE)	4	31,02	0,4	155,1
	6	39,0	0,5	594,0
	8	77,0	0,5	538,6
	9	89,76	0,5	462,0
	10	57,8	0,5	346,8
	11	35,1	0,5	210,6
	12	67,64	0,5	405,8
	13	76,9	0,2	384,0
	17	76,56	0,6	459,4
	20	12,0	0,42	60
<i>Anacardium occidentale</i>	1	98,4	0,35	492,0
	2	84	0,3	420,0
	3	44,25	0,45	221,3
	5	76,56	0,4	382,8
	7	20	0,5	120,0
	14	45,56	0,42	227,8
	15	68,58	0,5	411,1
	16	43,5	0,4	217,5
	18	29,82	0,4	149,1
19	40,87	0,4	204,4	

### 5.6.3 Dosagem dos óleos nebulizados

A dosagem da calda (óleo bruto + óleo mineral) foi calculada de modo que em cada colônia foram aplicados 5mL de calda para cada m<sup>2</sup> de murundum (LOECK et al., 2001).

### 5.6.4 Adaptação do equipamento

Para realização dos testes foi utilizado um equipamento de nebulização Multispray 2000 LD jacto<sup>®</sup>, conectado a uma lança ou haste para aplicação em formigueiros, especialmente desenvolvida para a realização dessa pesquisa. O equipamento foi adaptado de forma que possuía tanque cilíndrico de aço conectado a um tubo de descarga próprio para a injeção da névoa, em ambientes subterrâneos.

### 5.6.5 Avaliação das colônias submetidas aos óleos nebulizados

As colônias selecionadas foram divididas, por sorteio em dois grupos. O primeiro grupo foi utilizado como controle, recebendo apenas o óleo mineral OPPA-BR-CE e, o segundo grupo recebeu o óleo bruto da casca da castanha de *A. occidentale* na concentração de 30%.

Os óleos de *A. occidentale* e mineral foram homogeneizados manualmente e colocados no tanque cilíndrico do aparelho de nebulização. Após a formação da névoa, produzida pelo equipamento, esta foi colocada diretamente no saquinho através dos orifícios de abastecimentos das colônias, localizados nas extremidades da área de terra soltos e os demais orifícios foram vedados com a terra solta do próprio formigueiro, para que não houvesse perda do produto.

A atividade de cada colônia foi avaliada periodicamente (1, 2, 7, 14, 28, 42, 63 e 90 dias) através da observação de corte de folha; formigas forrageando e renovação da terra solta.

A análise gráfica foi realizada através das porcentagens acumuladas das 10

repetições (colônias) e as porcentagens de eficiência (%E) dos ingredientes nebulizados foram calculadas através da fórmula de Abbott, segundo Nakano et al. (1981):

$$\%E = \frac{C - T}{C} \times 100$$

onde % E = porcentagem de eficiência

C = n° de colônias ativas no controle

T = n° de colônias ativas no tratamento

## **5.7 Testes de termonebulização em colônias de campo de *Atta bisphaerica***

### **5.7.1 Área de estudo**

Os testes de termonebulização foram realizados no segundo semestre de 2005, na Fazenda Iracema (22°26' S, 47°31' W), localizada no Município de Santa Gertrudes, Estado de São Paulo. A fazenda era distribuída em talhões de 250m x 1000m, composta unicamente da monocultura da cana-de-açúcar. Sendo que para a realização dos testes de termonebulização foi selecionado o talhão 3595.

### **5.7.2 Colônias utilizadas**

Foram selecionadas 30 colônias adultas e ativas, marcadas com estacas de madeira e identificadas por números. A área selecionada possuía atividade mecanizada, não sendo verificada presença de monte de terra solta (murunduns). Todavia, a partir da atividade de forrageamento das formigas, pelo menos dois orifícios de abastecimento foram marcados por colônia e a determinação da área do formigueiro (maior comprimento e maior largura) foi realizada através da localização da névoa que saía dos orifícios de abastecimento marcados (Tabela 2).

**Tabela 2:** Colônias de *Atta bisphaerica* submetidas a termonebulização e localizadas na Fazenda Iracema, com respectivas áreas de terra solta, tratamento recebido e dosagem do produto.

Tratamentos	Estaca	Dimensão (m <sup>2</sup> )
Controle (OPPA-BR-CE)	1	0,55
	2	3,42
	3	19,5
	4	68,82
	5	284,97
	6	226,44
	7	56,26
	8	12,8
	9	17,2
	10	3,4
<i>Anacardium occidentale</i>	11	205,8
	12	116,28
	13	23,9
	14	78,85
	15	208,95
	16	18,48
	17	218,42
	18	16,4
	19	3,75
	20	6,72
Controle positivo Lakree	21	185,26
	22	37,74
	23	7,4
	24	70,47
	25	1,0
	26	100,04
	27	2,0
	28	16,48
	29	32,1
	30	56,0

### 5.7.3 Avaliação das colônias submetidas aos óleos termonebulizados

As 30 colônias selecionadas para os testes de termonebulização foram divididas, por sorteio, em três grupos. Além, do tratamento com o óleo bruto da casca da castanha de *A. occidentale* na concentração de 30%, utilizou-se um controle positivo com o inseticida LACREE<sup>®</sup> e um grupo testemunha, que recebeu apenas o óleo mineral OPPA-BR-CE<sup>®</sup>.

Nesses experimentos foi utilizado o termonebulizador portátil Pulsfog<sup>®</sup>. O termonebulizador devidamente limpo foi abastecido com o tratamento, aquecido e, posteriormente, a “fumaça” tóxica produzida foi colocada num dos orifícios de abastecimento das colônias, aguardando-se o refluxo da fumaça produzida pela atomização. Os demais orifícios foram vedados com a terra solta do próprio formigueiro, para que não houvesse perda do produto.

A metodologia de avaliação e as análises gráficas foram realizadas como descrito no item 5.6.5, para os testes de nebulização em colônias de *A. sexdens rubropilosa*.

## 6. RESULTADOS

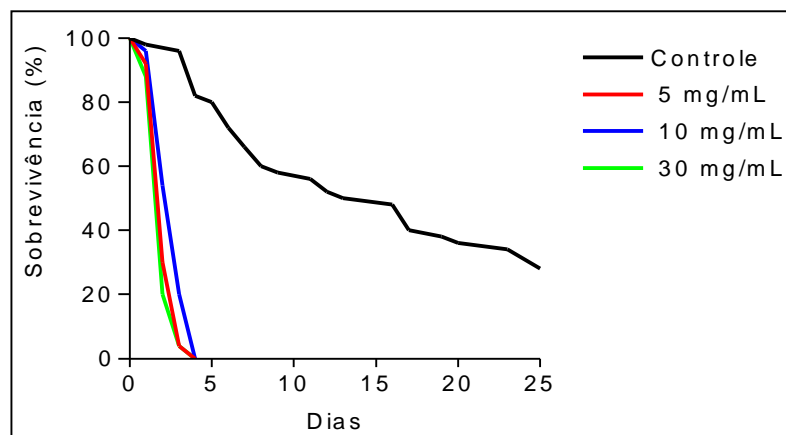
### 6.1 Bioensaios “in vitro” de toxicidade em operárias de *Atta sexdens rubropilosa*

Os resultados obtidos para cada bioensaio estão apresentados através das análises gráficas das curvas de sobrevivência e das tabelas que resumem as porcentagens acumuladas de mortalidade, o tempo de sobrevivência mediana ( $S_{50}$ ) e a interpretação do teste “Log Rank”.

#### 6.1.1. Ingestão

##### 6.1.1.1 *Anacardium occidentale* (caju)

O óleo bruto da casca da castanha de *A. occidentale* incorporado em dieta artificial provocou diminuição na sobrevivência das operárias de *A. sexdens rubropilosa* em todas as concentrações testadas (Figura 16). A análise estatística revelou que as concentrações 5 mg/mL, 10 mg/mL e 30 mg/mL apresentaram valores significativos, com mortalidade total no 6º dia e redução no tempo de sobrevivência mediana de 13 dias (controle dieta pura) para 2 (5 mg/mL e 30 mg/mL) e 3 dias (10 mg/mL) (Tabela 3).



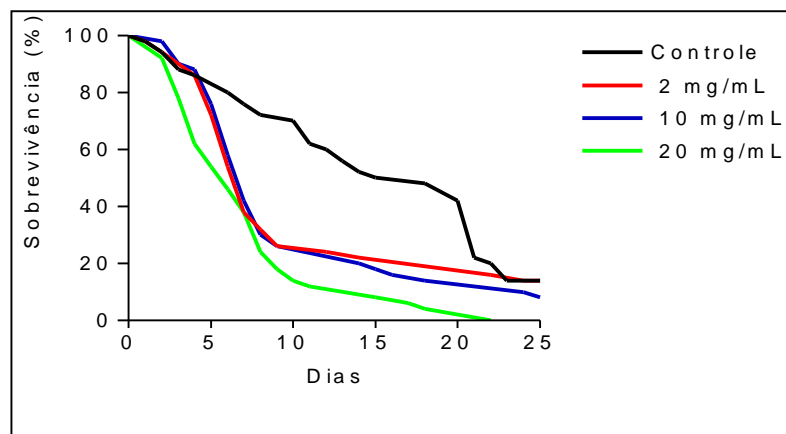
**Figura 16:** Curvas de sobrevivência de operárias de *Atta sexdens rubropilosa*, submetidas ao bioensaio de ingestão com o óleo bruto da casca da castanha de *Anacardium occidentale* em diferentes concentrações.

**Tabela 3.** Mortalidade acumulada e sobrevivência mediana ( $S_{50}$ ) de operárias de *Atta sexdens rubropilosa* submetidas ao bioensaio de ingestão com o óleo bruto da casca da castanha de *Anacardium occidentale* em diferentes concentrações

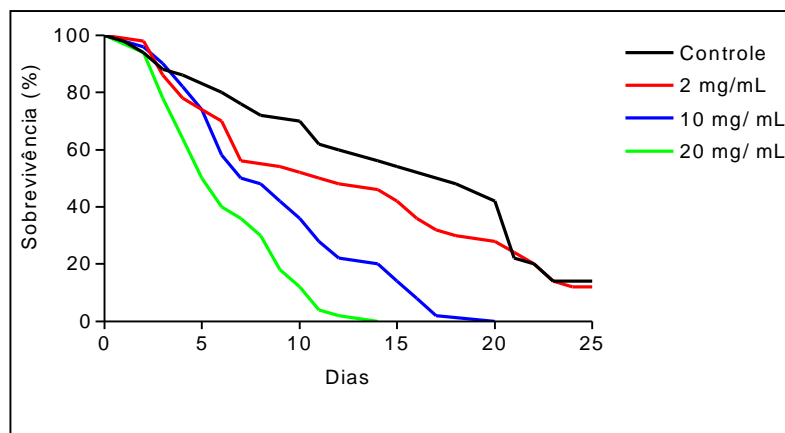
Tratamento	Concentrações (mg/mL)	% acumulada de mortalidade por dia										$S_{50}$ *
		1	2	3	6	8	10	14	17	21	25	
Controle		2	2	4	28	40	42	50	60	64	72	13a
Óleo bruto	5	8	70	96	100	--	--	--	--	--	--	2b
	10	4	48	80	100	--	--	--	--	--	--	3b
	30	12	80	96	100	--	--	--	--	--	--	2b

\* Letras distintas em relação ao controle indicam diferença significativa de acordo com o teste "Log Rank", com nível de significância de 5%.

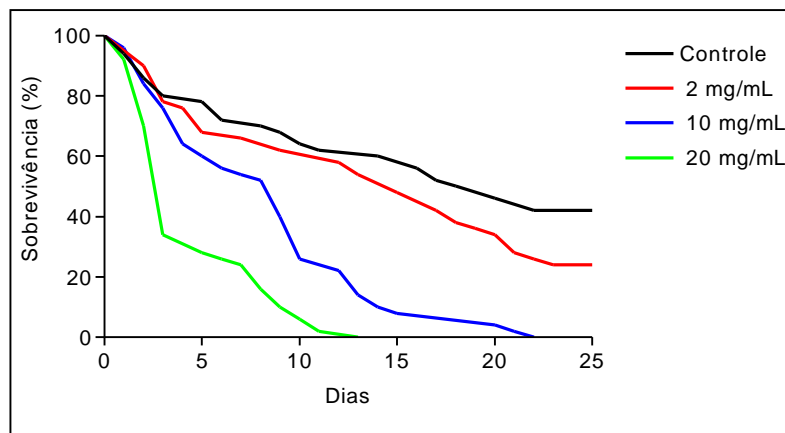
Os extratos da casca da castanha de *A. occidentale* também provocaram diminuição na sobrevivência das operárias de *A. sexdens rubropilosa* em todas as concentrações testadas para os extratos hexânico (Figura 17), diclorometano (Figura 18) e acetato de etila (Figura 19) e nas concentrações 10 mg/mL e 20 mg/mL para o extrato metanólico (Figura 20). A análise estatística revelou que as concentrações testadas, exceto a de 2 mg/mL, apresentaram valores significativos, porém, para a maioria dos tratamentos não ocorreu mortalidade total das operárias até o término dos bioensaios (25 dias) (Tabela 4).



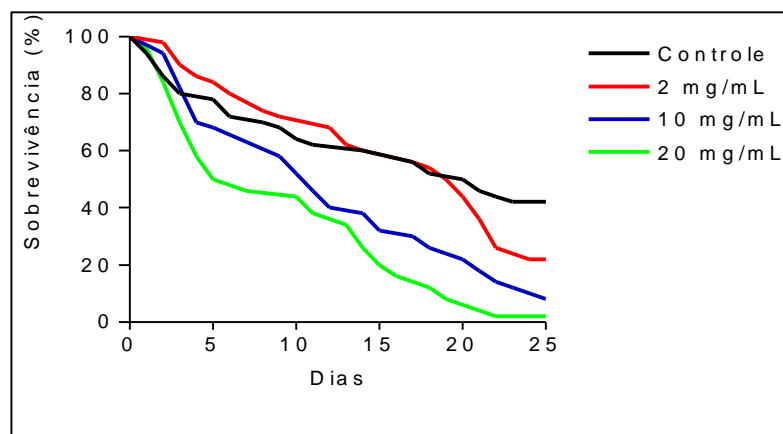
**Figura 17:** Curvas de sobrevivência de operárias de *Atta sexdens rubropilosa*, submetidas ao bioensaio de ingestão com o extrato hexânico da casca da castanha de *Anacardium occidentale* em diferentes concentrações.



**Figura 18:** Curvas de sobrevivência de operárias de *Atta sexdens rubropilosa*, submetidas ao bioensaio de ingestão com o extrato diclorometano da casca da castanha de *Anacardium occidentale* em diferentes concentrações.



**Figura 19:** Curvas de sobrevivência de operárias de *Atta sexdens rubropilosa*, submetidas ao bioensaio de ingestão com o extrato acetato de etila da casca da castanha de *Anacardium occidentale* em diferentes concentrações.



**Figura 20:** Curvas de sobrevivência de operárias de *Atta sexdens rubropilosa*, submetidas ao bioensaio de ingestão com o extrato metanólico da casca da castanha de *Anacardium occidentale* em diferentes concentrações.

**Tabela 4.** Mortalidade acumulada e sobrevivência mediana ( $S_{50}$ ) de operárias de *Atta sexdens rubropilosa* submetidas ao bioensaio de ingestão com extratos da casca da castanha de *Anacardium occidentale* em diferentes concentrações.

Tratamento	Concentrações (mg/mL)	% acumulada de mortalidade por dia										$S_{50}$ *
		1	2	3	6	8	10	14	17	21	25	
Controle (dieta) pura		2	6	12	20	28	30	48	50	78	86	15a
Extrato hexânico	2	2	6	6	46	68	74	78	78	78	86	7a
	10	0	2	10	42	70	74	80	84	86	92	7b
	20	0	8	22	54	78	88	90	96	98	100	6b
Controle (dieta pura)		2	6	12	20	28	30	44	46	78	86	18a
Extrato diclorometano	2	0	2	14	30	44	48	54	68	76	88	11a
	10	2	4	10	42	52	64	80	98	100	--	7b
	20	0	6	22	60	70	88	100	--	--	--	5b
Controle (dieta pura)		6	14	20	28	30	36	40	46	52	56	18a
Extrato acetato	2	0	8	20	30	32	36	44	56	70	76	15a
	10	4	16	24	44	48	74	84	92	98	100	9b
	20	8	30	66	74	84	94	--	--	--	--	3b
Controle (dieta pura)		6	14	20	28	30	36	40	46	52	56	20a
Extrato metanólico	2	0	2	10	20	26	28	40	44	64	78	19a
	10	0	6	18	32	32	48	62	70	82	92	11b
	20	4	16	30	52	54	56	74	86	96	98	5b

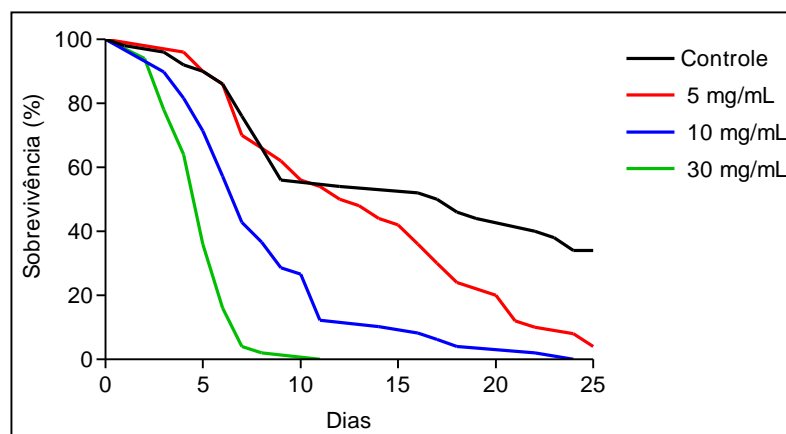
\* Letras distintas em relação ao controle indicam diferença significativa de acordo com o teste "Log Rank", com nível de significância de 5%.

### **6.1.1.2 *Azadirachta indica* (nim)**

O óleo bruto de *A. indica* quando incorporado em dieta artificial causou redução na sobrevivência das operárias de *A. sexdens rubropilosa*, em todas as concentrações testadas (Figura 21). A análise estatística revelou que as concentrações 5 mg/mL, 10 mg/mL e 30 mg/mL apresentaram valores significativos, com mortalidade total no 14º dia para a maior concentração 30 mg/mL e no 25º dia para a concentração 10 mg/mL. O tempo de sobrevivência mediana foi reduzido de 18 dias (controle dieta pura) para 12 (5 mg/mL), 7 (10 mg/mL) e 5 dias (30 mg/mL) (Tabela 5).

### **6.1.1.3 *Carapa guianensis* (andiroba)**

O óleo bruto de *C. guianensis* incorporado em dieta artificial provocou diminuição na sobrevivência das operárias de *A. sexdens rubropilosa* em todas as concentrações testadas (Figura 22). A análise estatística revelou que as concentrações 5 mg/mL, 10 mg/mL e 30 mg/mL apresentaram valores significativos, com mortalidade total no 17º dia para a concentração 10 mg/mL e no 25º dia para a concentração 5 mg/mL, todavia não foi verificada mortalidade total das operárias até o término dos bioensaios (25 dias) para a concentração 30 mg/mL. O tempo de sobrevivência mediana foi reduzido de 13 dias (controle dieta pura) para 7 (5 mg/mL), 5 (10 mg/mL) e 4 dias (30 mg/mL) (Tabela 6).

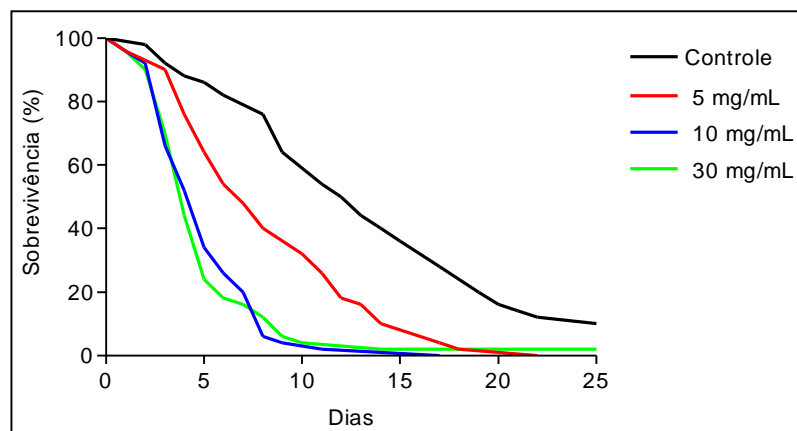


**Figura 21:** Curvas de sobrevivência de operárias de *Atta sexdens rubropilosa*, submetidas ao bioensaio de ingestão com o óleo bruto de *Azadirachta indica* em diferentes concentrações.

**Tabela 5.** Mortalidade acumulada e sobrevivência mediana ( $S_{50}$ ) de operárias de *Atta sexdens rubropilosa* submetidas ao bioensaio de ingestão com o óleo bruto de *Azadirachta indica* em diferentes concentrações

Tratamento	Concentrações (mg/mL)	% acumulada de mortalidade por dia										$S_{50}$ *
		1	2	3	6	8	10	14	17	21	25	
Controle		2	2	4	14	34	44	46	48	54	64	18a
Óleo	5	0	0	0	14	34	42	54	68	86	94	12b
	10	0	2	12	44	64	74	90	94	96	100	7b
	30	0	6	22	84	98	98	100	--	--	--	5b

\* Letras distintas em relação ao controle indicam diferença significativa de acordo com o teste "Log Rank", com nível de significância de 5%".



**Figura 22:** Curvas de sobrevivência de operárias de *Atta sexdens rubropilosa*, submetidas ao bioensaio de ingestão com o óleo bruto de *Carapa guianensis* em diferentes concentrações.

**Tabela 6.** Mortalidade acumulada e sobrevivência mediana ( $S_{50}$ ) de operárias de *Atta sexdens rubropilosa* submetidas ao bioensaio de ingestão com o óleo bruto de *Carapa guianensis* em diferentes concentrações

Tratamento	Concentrações (mg/mL)	% acumulada de mortalidade por dia										$S_{50}$ *
		1	2	3	6	8	10	14	17	21	25	
Controle		0	2	4	18	24	36	60	72	86	90	13a
Óleo	5	4	4	10	46	60	68	90	96	98	100	7b
	10	4	8	34	74	94	96	98	100	--	--	5b
	30	4	10	30	82	88	96	98	98	98	98	4b

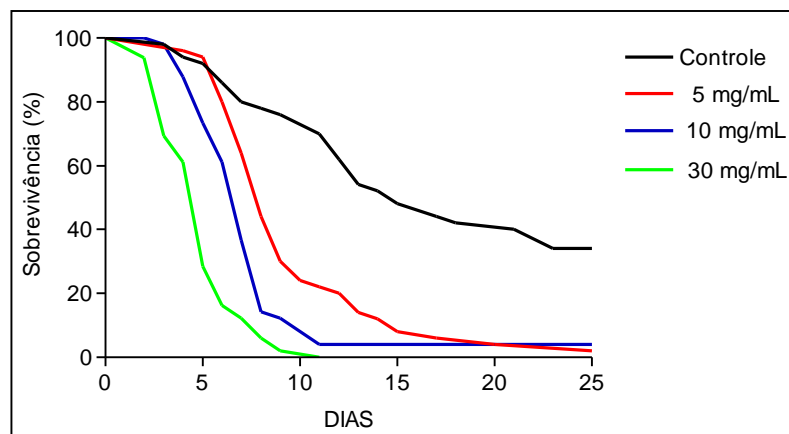
\* Letras distintas em relação ao controle indicam diferença significativa de acordo com o teste "Log Rank", com nível de significância de 5%.

#### **6.1.1.4 *Elaeis guineensis* (dendê)**

O óleo bruto de *E. guineensis* quando incorporado em dieta artificial causou redução na sobrevivência das operárias de *A. sexdens rubropilosa*, em todas as concentrações testadas (Figura 23). A análise estatística revelou que as concentrações 5 mg/mL, 10 mg/mL e 30 mg/mL apresentaram valores significativos, com mortalidade total no 14º dia para a maior concentração, porém, para as concentrações 5 mg/mL e 10 mg/mL não ocorreu mortalidade total das operárias até o término dos bioensaios (25 dias). O tempo de sobrevivência mediana foi reduzido de 15 dias (controle dieta pura) para 8 (5 mg/mL), 7 (10 mg/mL) e 5 dias (30 mg/mL) (Tabela 7).

#### **6.1.1.5 *Ricinus communis* (mamona)**

O óleo bruto de *R. communis* quando incorporado em dieta artificial causou redução na sobrevivência das operárias de *A. sexdens rubropilosa*, em todas as concentrações testadas (Figura 24). A análise estatística revelou que as concentrações 5 mg/mL, 10 mg/mL e 30 mg/mL apresentaram valores significativos, com mortalidade total no 21º dia para a maior concentração (30 mg/mL), no entanto, não foi verificada mortalidade total das operárias para as demais concentrações até o término dos bioensaios (25 dias). O tempo de sobrevivência mediana foi reduzido de 16 dias (controle dieta pura) para 8 (5 mg/mL), 5 (10 mg/mL) e 3 dias (30 mg/mL) (Tabela 8).

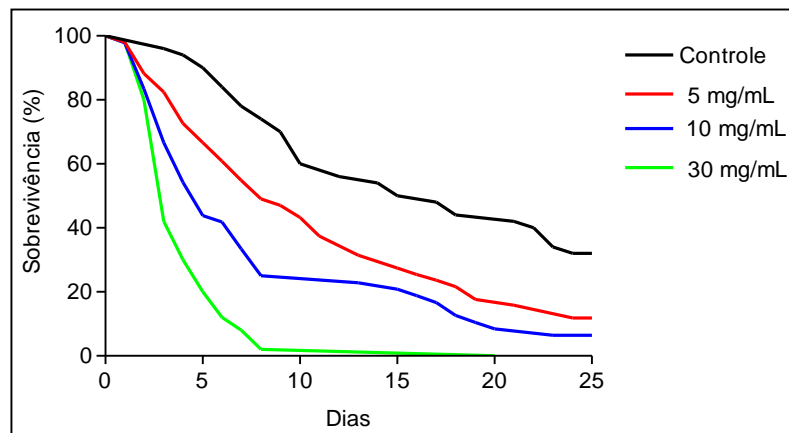


**Figura 23:** Curvas de sobrevivência de operárias de *Atta sexdens rubropilosa*, submetidas ao bioensaio de ingestão com o óleo bruto de *Elaeis guineensis* em diferentes concentrações.

**Tabela 7.** Mortalidade acumulada e sobrevivência mediana ( $S_{50}$ ) de operárias de *Atta sexdens rubropilosa* submetidas ao bioensaio de ingestão com o óleo bruto de *Elaeis guineensis* em diferentes concentrações

Tratamento	Concentrações (mg/mL)	Dias											$S_{50}$
		1	2	3	6	8	10	14	17	21	25		
Controle		0	0	2	14	22	24	48	56	60	66	15	
Óleo	5	0	0	0	20	56	76	88	94	96	98	8b	
	10	0	0	4	40	86	88	96	96	98	98	7b	
	30	0	8	32	84	94	98	100	--	--	--	5b	

\* Letras distintas em relação ao controle indicam diferença significativa de acordo com o teste "Log Rank", com nível de significância 5%.



**Figura 24:** Curvas de sobrevivência de operárias de *Atta sexdens rubropilosa*, submetidas ao bioensaio de ingestão com o óleo bruto de *Ricinus communis* em diferentes concentrações.

**Tabela 8.** Mortalidade acumulada e sobrevivência média ( $S_{50}$ ) de operárias de *Atta sexdens rubropilosa* submetidas ao bioensaio de ingestão com o óleo bruto de *Ricinus communis* em diferentes concentrações

Tratamento	Concentrações (mg/mL)	% acumulada de mortalidade por dia										$S_{50}$ *
		1	2	3	6	8	10	14	17	21	25	
Controle		0	0	4	16	26	40	46	52	58	68	16a
Óleo	5	2	12	18	40	52	58	70	78	86	90	8b
	10	2	16	34	60	76	76	78	84	92	94	5b
	30	2	20	58	88	98	98	98	98	100	--	3b

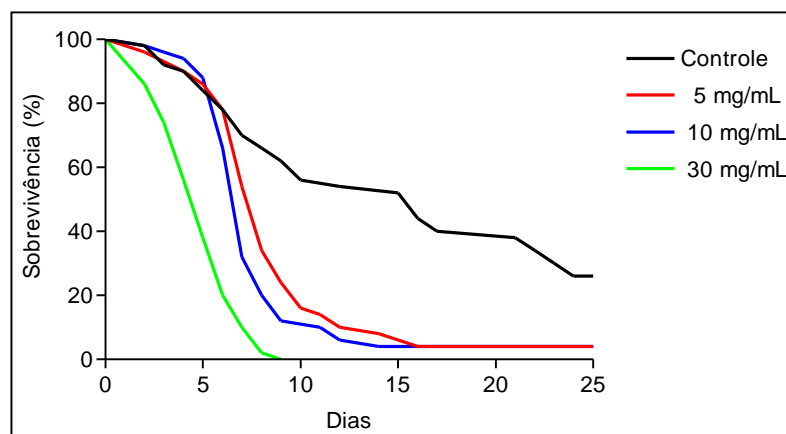
\* Letras distintas em relação ao controle indicam diferença significativa de acordo com o teste "Log Rank", com nível de significância de 5%.

#### **6.1.1.6 *Sesamum indicum* (gergelim)**

O óleo bruto de *S. indicum* quando incorporado em dieta artificial causou redução na sobrevivência das operárias de *A. sexdens rubropilosa*, em todas as concentrações testadas (Figura 25). A análise estatística revelou que as concentrações 5 mg/mL, 10 mg/mL e 30 mg/mL apresentaram valores significativos, com mortalidade total no 10º dia para a maior concentração, não sendo verificada mortalidade total das operárias até o término dos bioensaios (25 dias) para as demais concentrações (5 mg/mL e 10 mg/mL). O tempo de sobrevivência mediana foi reduzido de 16 dias (controle dieta pura) para 8 (5 mg/mL), 7 (10 mg/mL) e 5 dias (30 mg/mL) (Tabela 9).

#### **6.1.1.7 *Theobroma cacao* (cacau)**

A manteiga de *T. cacao* quando incorporada em dieta artificial não causou redução na sobrevivência das operárias de *A. sexdens rubropilosa*, em todas as concentrações testadas (Figura 26). A análise estatística revelou que as concentrações 5 mg/mL, 10 mg/mL e 30 mg/mL não apresentaram valores significativos (Tabela 10).

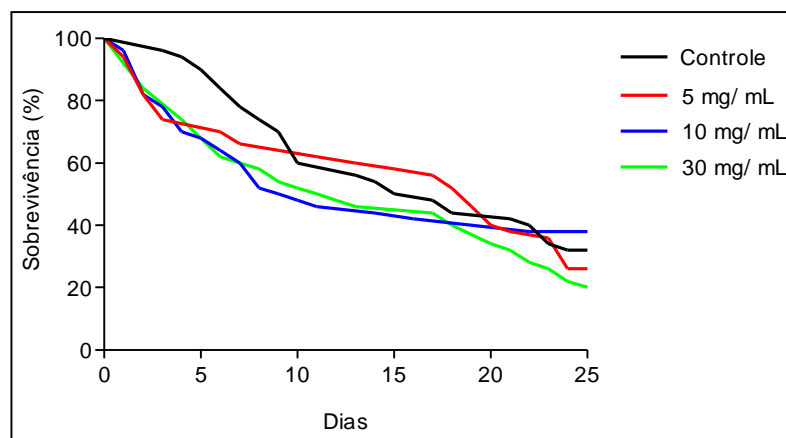


**Figura 25:** Curvas de sobrevivência de operárias de *Atta sexdens rubropilosa*, submetidas ao bioensaio de ingestão com o óleo bruto de *Sesamum indicum* em diferentes concentrações.

**Tabela 9.** Mortalidade acumulada e sobrevivência mediana ( $S_{50}$ ) de operárias de *Atta sexdens rubropilosa* submetidas ao bioensaio de ingestão com o óleo bruto de *Sesamum indicum* em diferentes concentrações

Tratamento	Concentrações (mg/mL)	% acumulada de mortalidade por dia										$S_{50}$ *
		1	2	3	6	8	10	14	17	21	25	
Controle		0	2	8	22	34	44	46	60	62	74	16a
Óleo	5	0	4	4	22	66	84	92	96	96	96	8b
	10	0	2	4	34	80	88	96	96	96	96	7b
	30	0	14	26	80	98	100	--	--	--	--	5b

\* Letras distintas em relação ao controle indicam diferença significativa de acordo com o teste "Log Rank", com nível de significância de 5%.



**Figura 26:** Curvas de sobrevivência de operárias de *Atta sexdens rubropilosa*, submetidas ao bioensaio de ingestão com o óleo bruto de *Theobroma cacao* em diferentes concentrações.

**Tabela 10.** Mortalidade acumulada e sobrevivência mediana ( $S_{50}$ ) de operárias de *A. sexdens rubropilosa* submetidas ao bioensaio de ingestão com o óleo bruto de *Theobroma cacao* em diferentes concentrações

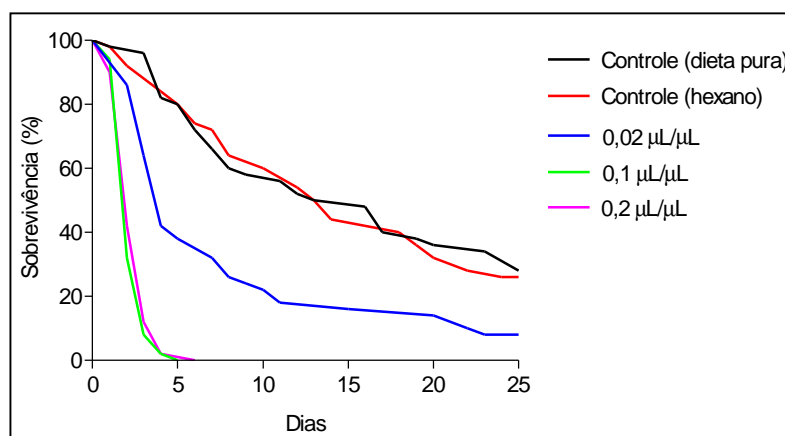
Tratamento	Concentrações (mg/mL)	% acumulada de mortalidade por dia										$S_{50}$ *
		1	2	3	6	8	10	14	17	21	25	
Controle		0	0	4	16	26	40	46	52	58	68	16a
Óleo	5	6	18	26	30	34	36	40	44	62	74	19a
	10	4	18	22	36	48	50	54	56	58	62	9a
	30	8	16	16	38	42	48	54	56	68	80	11a

\* Letras distintas em relação ao controle indicam diferença significativa de acordo com o teste "Log Rank", com nível de significância de 5%.

## 6.1.2 Aplicação tópica

### 6.1.2.1 *Anacardium occidentale* (caju)

O óleo bruto da casca da castanha de *A. occidentale* aplicado topicamente provocou diminuição na sobrevivência das operárias de *A. sexdens rubropilosa* em todas as concentrações testadas (Figura 27). A análise estatística revelou que as concentrações 0,02  $\mu\text{L}/\mu\text{L}$ , 0,1  $\mu\text{L}/\mu\text{L}$  e 0,2  $\mu\text{L}/\mu\text{L}$  apresentaram valores significativos, com mortalidade total no 6º dia para as concentrações 0,1  $\mu\text{L}/\mu\text{L}$  e 0,2  $\mu\text{L}/\mu\text{L}$ , não sendo verificada mortalidade total das operárias até o término dos bioensaios (25 dias) para a menor concentração (0,02  $\mu\text{L}/\mu\text{L}$ ). O tempo de sobrevivência mediana foi reduzido de 14 dias (controle dieta pura) para 4 (0,02  $\mu\text{L}/\mu\text{L}$ ) e 2 dias (0,1  $\mu\text{L}/\mu\text{L}$  e 0,2  $\mu\text{L}/\mu\text{L}$ ) (Tabela 11).



**Figura 27:** Curvas de sobrevivência de operárias de *Atta sexdens rubropilosa*, submetidas ao bioensaio de aplicação tópica com o óleo bruto da casca da castanha de *Anacardium occidentale* em diferentes concentrações.

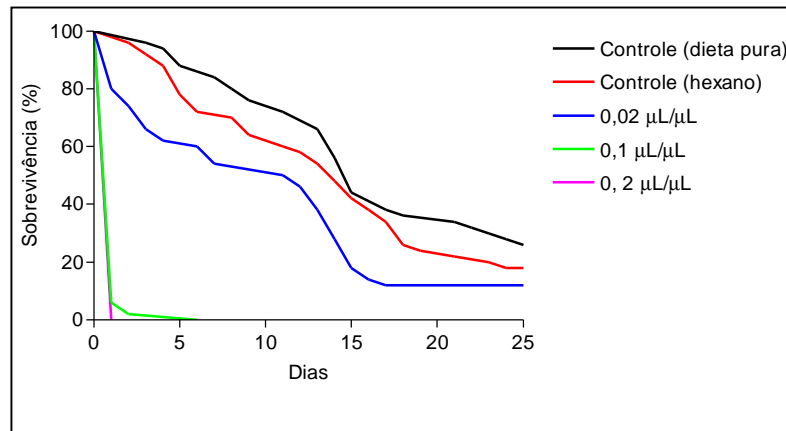
**Tabela 11.** Mortalidade acumulada e sobrevivência mediana ( $S_{50}$ ) de operárias de *Atta sexdens rubropilosa* submetidas ao bioensaio de aplicação tópica com o óleo bruto da casca da castanha de *Anacardium occidentale* em diferentes concentrações

Tratamento	Concentrações ( $\mu\text{L}/\mu\text{L}$ )	% acumulada de mortalidade por dia										$S_{50}$ *
		1	2	3	6	8	10	14	17	21	25	
Controle (dieta)		2	2	4	28	40	42	50	60	64	72	14a
Controle		2	8	8	26	36	40	56	58	68	74	14a
Óleo bruto	0,02	0	14	36	64	76	80	84	86	88	94	4b
	0,1	6	68	92	100	--	--	--	--	--	--	2b
	0,2	10	58	94	100	--	--	--	--	--	--	2b

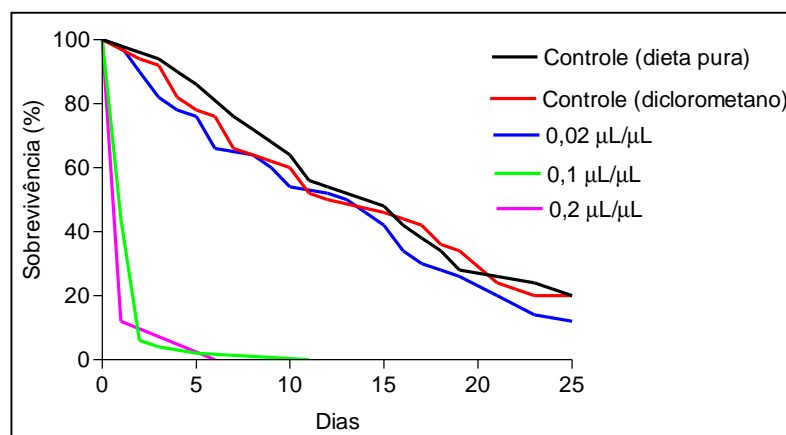
\* Letras distintas em relação ao controle indicam diferença significativa de acordo com o teste "Log Rank", com nível de significância de 5%.

Os extratos da casca da castanha de *A. occidentale* também provocaram diminuição na sobrevivência das operárias de *A. sexdens rubropilosa* em todas as concentrações testadas para os extratos hexânico (Figura 28) e acetato de etila (Figura 30) e nas concentrações 0,1  $\mu\text{L}/\mu\text{L}$  e 0,2  $\mu\text{L}/\mu\text{L}$  para os extratos diclorometano (Figura 29) e metanólico (Figura 31). A análise estatística revelou que todas as concentrações testadas apresentaram valores significativos para os extratos hexânico e acetato de etila e para os extratos diclorometano e metanólico apenas as concentrações acima de 0,02  $\mu\text{L}/\mu\text{L}$  (Tabela 12).

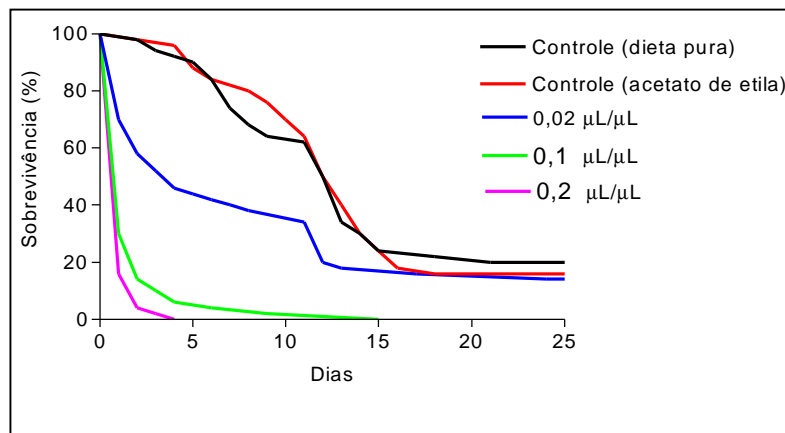
O tempo de sobrevivência mediana foi reduzido de 15 dias (controle dieta pura) para 12 (0,02  $\mu\text{L}/\mu\text{L}$ ) e 1 dia (0,1  $\mu\text{L}/\mu\text{L}$  e 0,2  $\mu\text{L}/\mu\text{L}$ ) no extrato hexânico, de 15 dias (controle dieta pura) para 1 dia (0,1  $\mu\text{L}/\mu\text{L}$  e 0,2  $\mu\text{L}/\mu\text{L}$ ) no extrato diclorometano; de 12 dias (controle dieta pura) para 4 (0,02  $\mu\text{L}/\mu\text{L}$ ) e 1 dias (0,1  $\mu\text{L}/\mu\text{L}$  e 0,2  $\mu\text{L}/\mu\text{L}$ ) no extrato metanólico e de 15 dias (controle dieta pura) para 2 (0,1  $\mu\text{L}/\mu\text{L}$ ) e 1 dias (0,2  $\mu\text{L}/\mu\text{L}$ ) no extrato metanólico (Tabela 12).



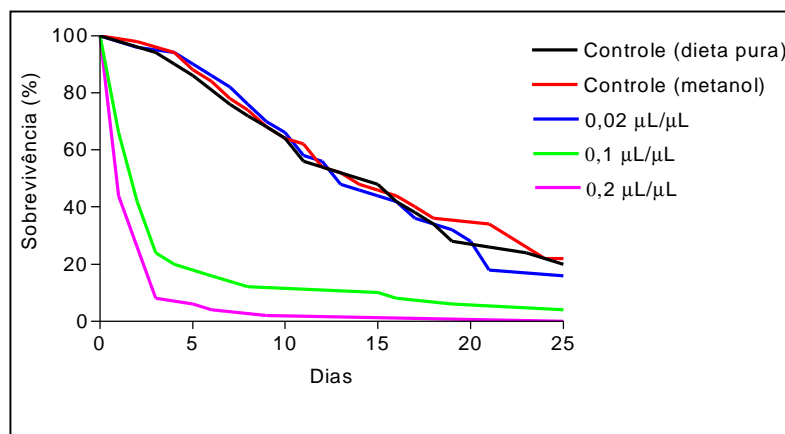
**Figuras 28:** Curvas de sobrevivência de operárias de *Atta sexdens rubropilosa*, submetidas ao bioensaio de aplicação tópica com o extrato hexânico da casca da castanha de *Anacardium occidentale* em diferentes concentrações.



**Figura 29:** Curvas de sobrevivência de operárias de *Atta sexdens rubropilosa*, submetidas ao bioensaio de aplicação tópica com o extrato diclorometano da casca da castanha de *Anacardium occidentale* em diferentes concentrações.



**Figura 30:** Curvas de sobrevivência de operárias de *Atta sexdens rubropilosa*, submetidas ao bioensaio de aplicação tópica com o extrato acetato de etila da casca da castanha de *Anacardium occidentale* em diferentes concentrações.



**Figuras 31:** Curvas de sobrevivência de operárias de *Atta sexdens rubropilosa*, submetidas ao bioensaio de aplicação tópica com o extrato metanólico da casca da castanha de *Anacardium occidentale* em diferentes concentrações.

**Tabela 12.** Mortalidade acumulada e sobrevivência mediana ( $S_{50}$ ) de operárias de *Atta sexdens rubropilosa* submetidas ao bioensaio de aplicação tópica com extratos da casca da castanha de *Anacardium occidentale* em diferentes concentrações

Tratamento	Concentrações ( $\mu\text{L}/\mu\text{L}$ )	% acumulada de mortalidade por dia										$S_{50}^*$
		1	2	3	6	8	10	14	17	21	25	$S_{50}$
Controle (dieta pura)		0	0	4	14	10	24	44	56	66	74	15a
Controle hexânico		2	4	8	28	30	36	54	68	80	84	14a
Extrato hexânico	0,02	20	26	34	40	46	46	72	88	88	88	12b
	0,1	94	98	98	100	--	--	--	--	--	--	1b
	0,2	100	--	--	--	--	--	--	--	--	--	1b
Controle (dieta pura)		0	0	6	14	28	36	46	62	74	80	15
Controle		0	6	8	24	36	40	50	58	76	80	12
Extrato	0,02	2	10	18	34	38	46	54	70	80	88	13a
	0,1	56	94	96	98	98	98	100	--	--	--	1b
	0,2	88	100	--	--	--	--	--	--	--	--	1b
Controle (dieta pura)		0	0	6	14	28	36	46	62	74	80	12a
Controle ac. de etila		0	2	2	16	20	70	70	82	84	84	12a
Extrato ac. de etila	0,02	30	42	48	58	62	62	82	84	84	86	4b
	0,1	70	86	90	96	96	98	98	100	--	--	1b
	0,2	84	96	98	100	--	--	--	--	--	--	1b
Controle (dieta pura)		0	0	4	16	32	36	70	76	80	80	15a
Controle metanólico		0	2	2	16	26	36	52	60	66	78	14a
Extrato metanólico	0,02	0	4	4	14	24	34	54	64	82	84	13a
	0,1	34	58	76	84	88	88	90	92	94	96	2b
	0,2	56	74	92	96	96	98	98	98	98	100	1b

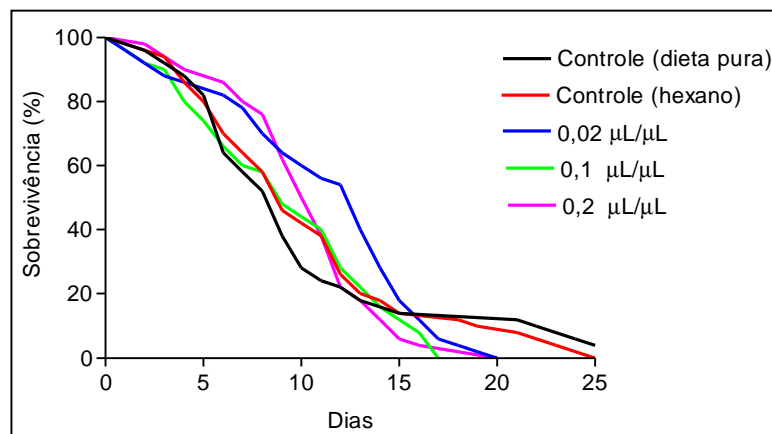
\* Letras distintas em relação ao controle indicam diferença significativa de acordo com o teste "Log Rank", com nível de significância de 5%.

### 6.1.2.2 *Azadirachta indica* (nim)

O óleo bruto de *A. indica* quando aplicado topicamente não causou redução significativa na sobrevivência das operárias em todas as concentrações testadas (Figura 32). A análise estatística revelou que as concentrações 0,02  $\mu\text{L}/\mu\text{L}$ , 0,1  $\mu\text{L}/\mu\text{L}$  e 0,2  $\mu\text{L}/\mu\text{L}$  não apresentaram valores significativos (Tabela 13). O tempo de sobrevivência mediana foi de 9 dias para o controle dieta pura, 13 dias para a concentração 0,02  $\mu\text{L}/\mu\text{L}$ , 9 dias para a concentração 0,1  $\mu\text{L}/\mu\text{L}$  e 10 dias para a concentração 0,2  $\mu\text{L}/\mu\text{L}$  (Tabela 13).

### 6.1.2.3 *Carapa guianensis* (andiroba)

O óleo bruto de *C. guianensis* quando aplicado topicamente causou redução significativa na sobrevivência das operárias somente na concentração 0,2  $\mu\text{L}/\mu\text{L}$  (Figura 33). A análise estatística revelou valores significativos apenas para a concentração 0,2  $\mu\text{L}/\mu\text{L}$ . Todavia, não houve mortalidade total das operárias até o término dos bioensaios (25 dias) para todas as concentrações testadas. O tempo de sobrevivência mediana foi de 18 dias para o controle dieta pura, 21 dias para a concentração 0,02  $\mu\text{L}/\mu\text{L}$ , 16 dias para a concentração 0,1  $\mu\text{L}/\mu\text{L}$  e 5 dias para a concentração 0,2  $\mu\text{L}/\mu\text{L}$  (Tabela 14).

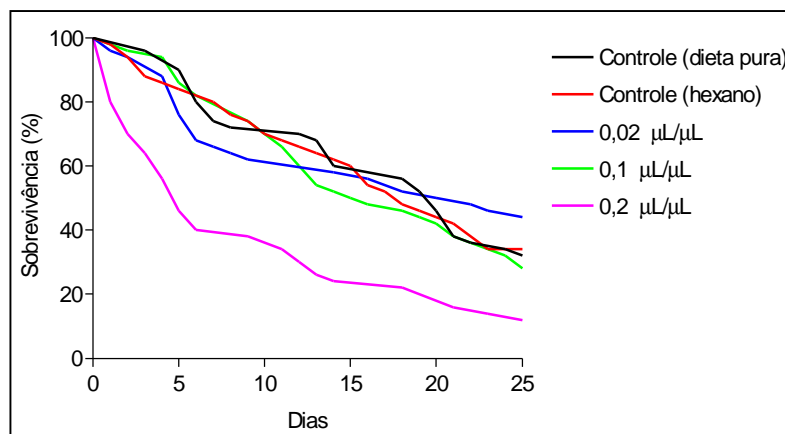


**Figura 32:** Curvas de sobrevivência de operárias de *Atta sexdens rubropilosa*, submetidas ao tratamento tópico com o óleo bruto de *Azadirachta indica* em diferentes concentrações.

**Tabela 13.** Mortalidade acumulada e sobrevivência mediana ( $S_{50}$ ) de operárias de *Atta sexdens rubropilosa* submetidas ao bioensaio de aplicação tópica com o óleo bruto de *Azadirachta indica* em diferentes concentrações

Tratamento	Concentrações ( $\mu\text{L}/\mu\text{L}$ )	% acumulada de mortalidade por dia										$S_{50}^*$
		1	2	3	6	8	10	14	17	21	25	
Controle (dieta)		0	4	8	36	48	72	84	86	88	96	9a
Controle (hexano)		2	2	6	30	42	58	82	86	92	100	9a
Óleo bruto	0,02	4	6	12	18	30	40	72	94	100	--	13a
	0,1	4	8	10	34	42	56	84	100	--	--	9a
	0,2	0	2	6	14	24	50	88	96	100	--	10a

\* Letras distintas em relação ao controle indicam diferença significativa de acordo com o teste "Log Rank", com nível de significância de 5%.



**Figura 33:** Curvas de sobrevivência de operárias de *Atta sexdens rubropilosa*, submetidas ao bioensaio de aplicação tópica com o óleo bruto *Carapa guianensis* em diferentes concentrações.

**Tabela 14.** Mortalidade acumulada e sobrevivência média ( $S_{50}$ ) de operárias de *Atta sexdens rubropilosa* submetidas ao bioensaio de aplicação tópica com o óleo bruto de *Carapa guianensis* em diferentes concentrações

Tratamento	Concentrações ( $\mu\text{L}/\mu\text{L}$ )	% acumulada de mortalidade por dia										$S_{50}$ *
		1	2	3	6	8	10	14	17	21	25	
Controle (dieta)		0	0	4	20	28	28	40	40	62	68	20
Controle (hexano)		2	6	12	18	24	30	38	48	58	72	18a
Óleo bruto	0,02	4	6	6	32	36	38	42	44	50	56	21a
	0,1	2	4	4	16	22	34	52	56	66	76	16a
	0,2	20	30	36	58	58	60	74	74	82	86	5b

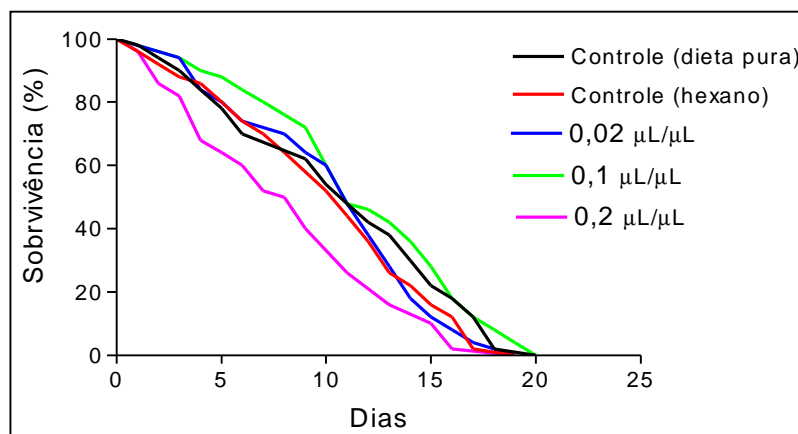
\* Letras distintas em relação ao controle indicam diferença significativa de acordo com o teste "Log Rank", com nível de significância de 5%.

#### **6.1.2.4 *Elaeis guineensis* (dendê)**

O óleo bruto de *E. guineensis* quando aplicado topicamente não causou redução significativa na sobrevivência das operárias em todas as concentrações testadas (0,02  $\mu\text{L}/\mu\text{L}$ ; 0,1  $\mu\text{L}/\mu$  e 0,2  $\mu\text{L}/\mu\text{L}$ ) (Figura 34). A análise estatística revelou que todas as concentrações testadas não apresentaram valores significativos. O tempo de sobrevivência mediana foi de 11 dias para o controle dieta pura e para as concentrações 0,02 e 0,1  $\mu\text{L}/\mu\text{L}$  e de 9 dias para a concentração 0,2  $\mu\text{L}/\mu\text{L}$  (Tabela 15).

#### **6.1.2.5 *Ricinus communis* (mamona)**

O óleo bruto de *R. communis* quando aplicado topicamente não causou redução significativa na sobrevivência de *A. sexdens rubropilosa* em todas as concentrações testadas (Figura 35). A análise estatística revelou que todas as concentrações não apresentaram valores significativos, não havendo mortalidade total das operárias até o término dos bioensaios (25 dias). O tempo de sobrevivência mediana foi de 12 dias para o controle dieta pura, 10 dias para a concentração 0,02  $\mu\text{L}/\mu\text{L}$ , 14 dias para a concentração 0,1  $\mu\text{L}/\mu\text{L}$  e 8 dias para a concentração 0,2  $\mu\text{L}/\mu\text{L}$  (Tabela 16).

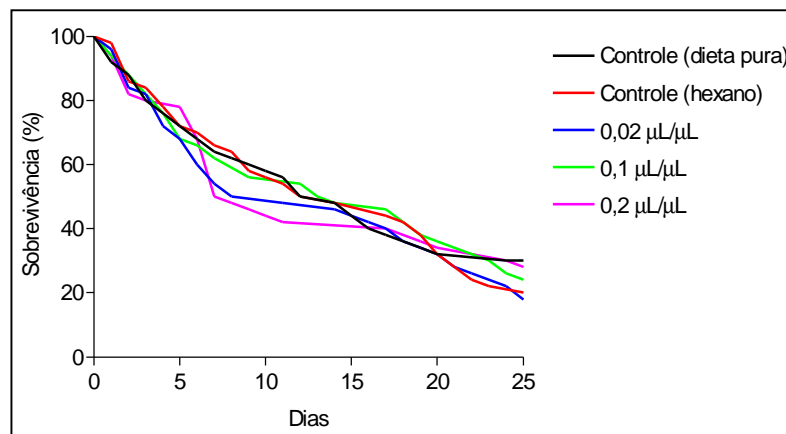


**Figura 34:** Curvas de sobrevivência de operárias de *Atta sexdens rubropilosa*, submetidas ao bioensaio de aplicação tópica com o óleo bruto *Elaeis guineensis* em diferentes concentrações.

**Tabela 15.** Mortalidade acumulada e sobrevivência mediana ( $S_{50}$ ) de operárias de *Atta sexdens rubropilosa* submetidas ao bioensaio de aplicação tópica com o óleo bruto de *Elaeis guineensis* em diferentes concentrações

Tratamento	Concentrações ( $\mu\text{L}/\mu\text{L}$ )	% acumulada de mortalidade por dia										$S_{50}$ *
		1	2	3	6	8	10	14	17	21	25	
Controle (dieta)		2	6	10	30	30	46	70	88	100	--	11a
Controle (hexano)		4	8	12	26	36	48	78	98	100	--	11a
Óleo bruto	0,02	0	0	6	26	30	40	82	96	100	--	11a
	0,1	0	0	6	16	24	40	64	88	100	--	11a
	0,2	4	14	18	40	50	60	84	98	100	--	9a

\* Letras distintas em relação ao controle indicam diferença significativa de acordo com o teste "Log Rank", com nível de significância de 5%.



**Figura 35:** Curvas de sobrevivência de operárias de *Atta sexdens rubropilosa*, submetidas ao bioensaio de aplicação tópica com o óleo bruto *Ricinus communis* em diferentes concentrações.

**Tabela 16.** Mortalidade acumulada e sobrevivência mediana ( $S_{50}$ ) de operárias de *Atta sexdens rubropilosa* submetidas ao bioensaio de aplicação tópica com o óleo bruto de *Ricinus communis* em diferentes concentrações

Tratamento	Concentrações ( $\mu\text{L}/\mu\text{L}$ )	% acumulada de mortalidade por dia										$S_{50}$ *
		1	2	3	6	8	10	14	17	21	25	
Controle (dieta)		8	12	20	32	38	42	52	62	68	70	13a
Controle (hexano)		2	14	16	30	36	42	52	56	72	80	12a
Óleo bruto	0,02	4	16	18	40	50	50	54	60	72	82	10a
	0,1	6	12	18	34	38	44	52	54	64	76	14a
	0,2	6	18	20	32	52	56	58	60	66	72	8a

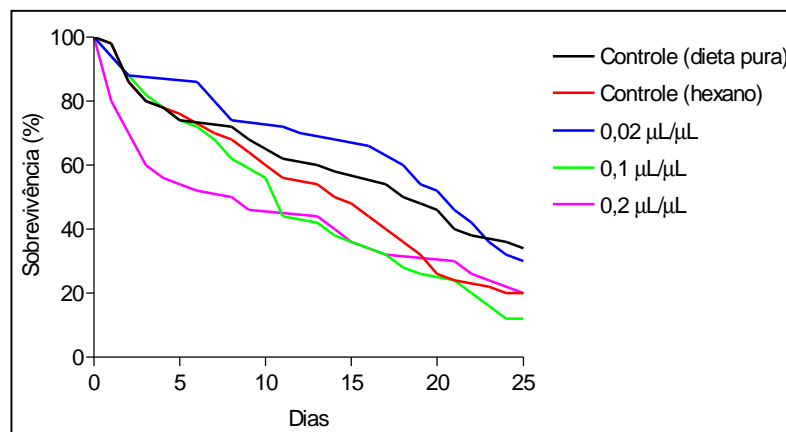
\* Letras distintas em relação ao controle indicam diferença significativa de acordo com o teste "Log Rank", com nível de significância de 5%.

#### **6.1.2.6 *Sesamum indicum* (gergelim)**

O óleo bruto de *S. indicum* quando aplicado topicamente não causou redução significativa na sobrevivência das operárias de *A. sexdens rubropilosa* em todas as concentrações testadas (Figura 36). A análise estatística revelou que todas as concentrações não apresentaram valores significativos, não havendo mortalidade total das operárias até o término dos bioensaios (25 dias). O tempo de sobrevivência mediana foi de 14 dias para o controle dieta pura, 21 dias para a concentração 0,02  $\mu\text{L}/\mu\text{L}$ , 11 dias para a concentração 0,1  $\mu\text{L}/\mu\text{L}$  e 9 dias para a concentração 0,2  $\mu\text{L}/\mu\text{L}$  (Tabela 17).

#### **6.1.2.7 *Theobroma cacao* (cacau)**

A manteiga de *T. cacao* quando aplicado topicamente não causou redução significativa na sobrevivência das operárias de *A. sexdens rubropilosa* em todas as concentrações testadas (Figura 37). A análise estatística revelou que todas as concentrações não apresentaram valores significativos, não havendo mortalidade total das operárias até o término dos bioensaios (25 dias). O tempo de sobrevivência mediana foi de 11 dias para o controle dieta pura, 10 dias para as concentrações 0,02  $\mu\text{L}/\mu\text{L}$  e 0,1  $\mu\text{L}/\mu\text{L}$  e 10 dias para a concentração 0,2  $\mu\text{L}/\mu\text{L}$  (Tabela 18).

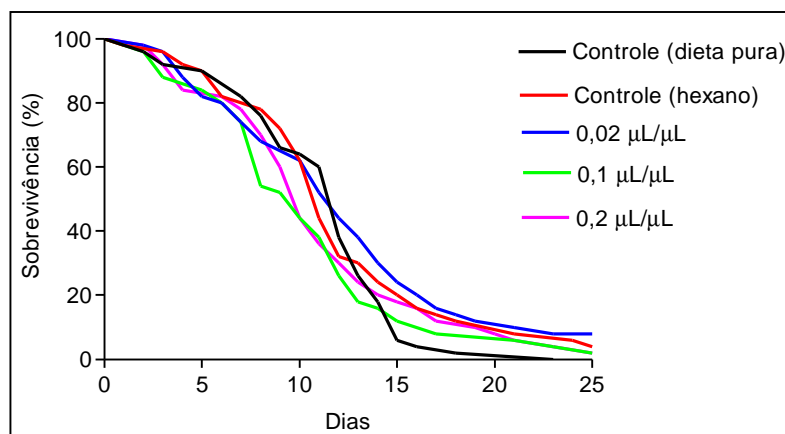


**Figura 36:** Curvas de sobrevivência de operárias de *Atta sexdens rubropilosa*, submetidas ao bioensaio de aplicação tópica com o óleo bruto *Sesamum indicum* em diferentes concentrações.

**Tabela 17.** Mortalidade acumulada e sobrevivência mediana ( $S_{50}$ ) de operárias de *Atta sexdens rubropilosa* submetidas ao bioensaio de aplicação tópica com o óleo bruto de *Sesamum indicum* em diferentes concentrações

Tratamento	Concentrações ( $\mu\text{L}/\mu\text{L}$ )	% acumulada de mortalidade por dia										$S_{50}$ *
		1	2	3	6	8	10	14	17	21	25	
Controle (dieta pura)		2	14	20	26	28	36	42	46	60	64	18a
Controle (hexano)		2	14	20	24	32	40	50	60	76	80	14a
Óleo bruto	0,02	6	12	12	14	26	26	32	34	54	70	21a
	0,1	6	12	18	28	38	44	62	68	76	88	11a
	0,2	20	30	40	48	50	54	60	68	70	80	9a

\* Letras distintas em relação ao controle indicam diferença significativa de acordo com o teste "Log Rank", com nível de significância de 5%.



**Figura 37:** Curvas de sobrevivência de operárias de *Atta sexdens rubropilosa*, submetidas ao bioensaio de aplicação tópica com o óleo bruto *Theobroma cacao* em diferentes concentrações.

**Tabela 18.** Mortalidade acumulada e sobrevivência mediana ( $S_{50}$ ) de operárias de *Atta sexdens rubropilosa* submetidas ao bioensaio de aplicação tópica com o óleo bruto de *Theobroma cacao* em diferentes concentrações

Tratamento	Concentrações ( $\mu\text{L}/\mu\text{L}$ )	% acumulada de mortalidade por dia										$S_{50}$ *
		1	2	3	6	8	10	14	17	21	25	
Controle (dieta)		0	4	8	10	24	26	82	96	98	100	12a
Controle (hexano)		2	2	4	18	22	38	76	86	92	96	11a
Óleo bruto	0,02	0	2	4	20	32	38	70	84	90	94	12a
	0,1	0	4	12	20	46	56	84	92	94	98	10a
	0,2	0	2	4	18	30	56	80	88	94	98	10a

\* Letras distintas em relação ao controle indicam diferença significativa de acordo com o teste "Log Rank", com nível de significância de 5%.

### 6.1.2.8 Tabela comparativa

A tabela 19 mostra os resultados de toxicidade dos óleos brutos e extratos em operárias de *A. sexdens rubropilosa* nos bioensaios de ingestão e aplicação tópica.

**Tabela 19.** Comparação dos resultados dos bioensaios de ingestão e aplicação tópica com produtos naturais, utilizando operárias de *Atta sexdens rubropilosa* isoladas de formigueiros.

Tratamento	Bioensaio					
	Ingestão			Tópico		
	Concentrações			Concentrações		
	5 mg/mL	10 mg/mL	30 mg/mL	0,02 μL/μL	0,1 μL/μL	0,2 μL/μL
Controle	...	...	...	...	...	...
Óleo bruto de <i>A. indica</i>	+	+	+	-	-	-
Óleo bruto de <i>C. guianensis</i>	+	+	+	-	-	+
Óleo bruto de <i>E. guineensis</i>	+	+	+	-	-	-
Óleo bruto de <i>R. communis</i>	+	+	+	-	-	-
Óleo bruto de <i>S. indicum</i>	+	+	+	-	-	-
Óleo bruto de <i>T. cacao</i>	-	-	-	-	-	-
Óleo bruto de <i>A. occidentale</i>	+	+	+	+	+	+
Extrato hexânico de <i>A. occidentale</i>	-	+	+	+	+	+
Extrato diclorometano de <i>A. occidentale</i>	-	+	+	-	+	+
Extrato metanólico de <i>A. occidentale</i>	-	+	+	-	+	+
Extrato acetato de etila de <i>A. occidentale</i>	-	+	+	+	+	+

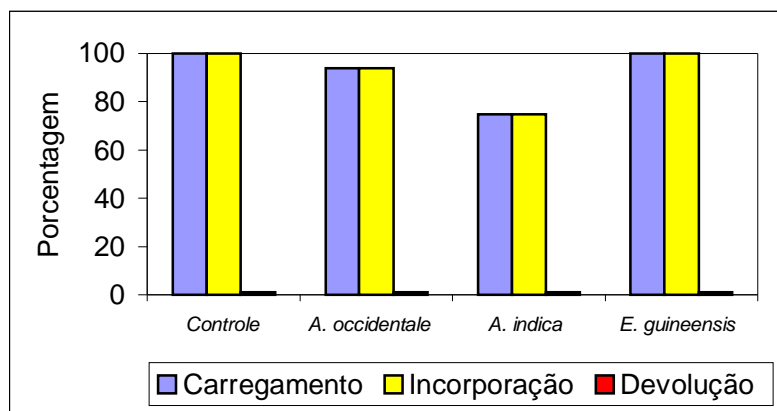
(+) presença de toxicidade às operárias de *Atta sexdens rubropilosa*; (-) ausência de toxicidade às operárias de *A. sexdens rubropilosa* de acordo com o teste “log rank”, com nível de significância de 5%.

### 6.1.3 Bioensaios com iscas granuladas em colônias de *Atta sexdens rubropilosa* mantidas em laboratório

#### 6.1.3.1 Aceitação das iscas.

Na Figura 38 está representada a aceitação das iscas contendo óleos brutos de *A. occidentale* (caju), *A. indica* (nim) e *E. guineensis* (dendê) em colônias de *A. sexdens rubropilosa* através da porcentagem de carregamento, incorporação no jardim de fungo e devolução.

O carregamento das iscas foi de 75% para *A. indica*, 94 % para *A. occidentale* e 100% para *E. guineensis*, sendo que toda isca carregada foi incorporada, não havendo nenhuma devolução.



**Figura 38:** Carregamento, incorporação e devolução de iscas granuladas após 24 horas do oferecimento em colônias de *A. sexdens rubropilosa* mantidas em laboratório.

#### 6.1.3.2 Intoxicação das formigas.

As formigas tratadas com iscas contendo óleos brutos não apresentaram sintomas de intoxicação, comportando-se semelhante às aquelas tratadas com iscas sem ingrediente ativo (controle) (Tabela 20).

### **6.1.3.3 Corte de folhas**

Não foi observada redução no corte de folhas pelas formigas tratadas com iscas contendo óleos brutos de *A. occidentale*, *A. indica* e *E. guineensis* (Tabela 20).

### **6.1.3.4 Mortalidade de formigas**

Nas colônias que receberam iscas contendo os óleos brutos de *A. occidentale*, *A. indica* e *E. guineensis* ocorreu uma mortalidade em torno de 20% das formigas no decorrer do experimento, semelhante ao grupo controle (Tabela 20).

### **6.1.3.5 Corte de fungo**

A quantidade de fungo cortado pelas operárias de *A. sexdens rubropilosa*, submetidas aos tratamentos com iscas contendo óleos brutos de *A. occidentale*, *A. indica* e *E. guineensis* foi semelhante ao verificado nas colônias do grupo controle (Tabela 20).

### **6.1.3.6 Mudança de panela**

Tanto nas colônias que receberam iscas sem ingrediente ativo (controle) como naquelas tratadas com iscas contendo os óleos brutos de *A. occidentale*, *A. indica* e *E. guineensis* as formigas não mudaram o jardim de fungo e nem as formas imaturas de panela (Tabela 20).

### **6.1.3.7 Colônia com redução no jardim de fungo**

Não foi observada redução no jardim de fungo em colônias tratadas com iscas contendo óleos brutos de *A. occidentale*, *A. indica* e *E. guineensis* (Tabela 20).

### **6.1.3.8 Presença de fungos filamentosos**

Nenhuma colônia tratada com iscas contendo os óleos brutos de *A. occidentale*, *A. indica* e *E. guineensis* apresentou fungos filamentosos (Tabela 20).



### 6.1.3.10 Condições das colônias

As colônias tratadas com iscas contendo os óleos brutos de *A. occidentale*, *A. indica* e *E. guineensis* apresentaram-se inicialmente com uma pequena parcela do fungo amarelo. Essa condição permaneceu até o 14º dia de experimento, a partir do qual houve a recuperação, não apresentando nenhum efeito de intoxicação nas colônias tratadas (Tabela 21).

**Tabela 21.** Condições das colônias de *Atta sexdens rubropilosa* submetidas ao tratamento com iscas granuladas confeccionadas a partir dos óleos brutos de *Anacardium occidentale*, *Azadirachta indica*, *Elaeis guineensis* e o controle

Tratamentos	Repetição	Avaliações (dias)										
		1	2	3	7	14	28	35	42	49	56	60
Controle	1	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A
	2	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A
	3	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A
	4	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A
<i>A. occidentale</i>	1	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A
	2	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A
	3	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A
	4	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A
<i>A. indica</i>	1	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A
	2	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A
	3	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A
	4	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A
<i>E. guineensis</i>	1	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A
	2	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A
	3	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A
	4	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A

A = colônia ativa.

#### **6.1.4 Testes de nebulização em colônias de *Atta sexdens rubropilosa*, mantidas em laboratório.**

##### **6.1.4.1 Padronização dos adjuvantes**

O óleo mineral OPPA-BR-CE<sup>®</sup> e os óleos vegetal Natur`L<sup>®</sup> e Liza<sup>®</sup> foram utilizados como adjuvantes e não causaram mortalidade nas colônias de *A. sexdens rubropilosa*. Diante disso, optou-se por utilizar na maioria dos testes, o óleo de soja por ser facilmente encontrado no mercado.

Durante a aplicação dos óleos (mineral e soja) e do controle (água) foi verificado que as operárias de *A. sexdens rubropilosa* ficaram agitadas, mas não apresentaram sintomas de intoxicação e nem ocorreu mortalidade. Entretanto, após 24 horas da aplicação, o controle e os demais tratamentos apresentaram mortalidade de algumas operárias e o fungo ficou amarelado na base, com pequena quantidade de fungo cortado na câmara de fungo (aproximadamente 20%). Essa situação ocorreu até o 5º dia do experimento e, após esse período, as colônias se recuperaram.

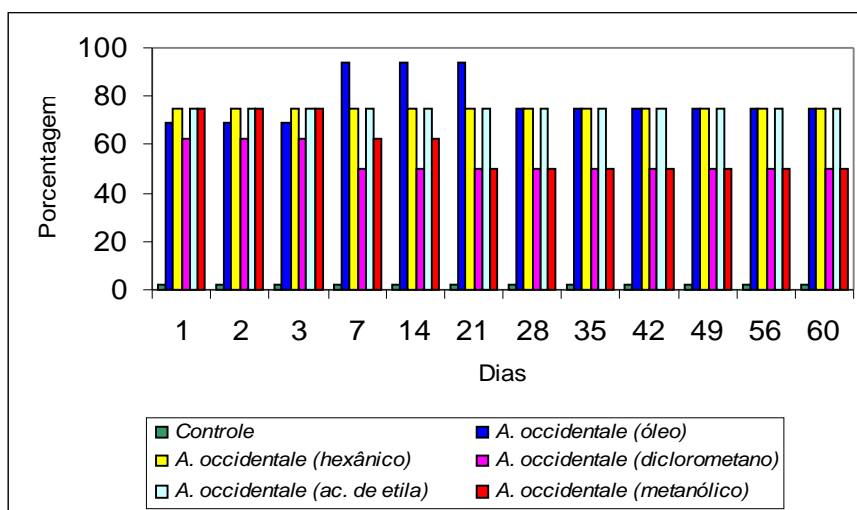
A nebulização utilizando o óleo vegetal Natur`L<sup>®</sup> nas concentrações 30% e 50% causou mortalidade inicial de cerca de 25% das formigas e paralisia no corte de folhas até o terceiro dia de experimento. Nas colônias que receberam óleo vegetal na concentração 100%, as operárias retiraram as crias da câmara de fungo e as colocaram na câmara de lixo, ocorrendo mortalidade de aproximadamente 25% das operárias nas primeiras 48 horas. No entanto, após esse período as atividades normais das colônias (corte, carregamento e incorporação das folhas) foram restabelecidas e não foi mais verificada a presença de cria no lixo.

### 6.1.4.2 Óleos brutos e extratos

#### 6.1.4.2.1 Intoxicação das formigas

Nos bioensaios de nebulização com os óleos brutos de *R. communis*, *A. indica*, *C. guianensis*, *S. indicum* e *E. guineensis* não foram verificados sintomas de intoxicação nas operárias. As operárias ficaram agitadas durante a aplicação e transportaram as crias para outros locais do jardim de fungo, porém, após 24 horas da aplicação esse comportamento havia desaparecido.

Nas colônias nebulizadas com óleo bruto e extratos de *A. occidentale* as operárias apresentaram sintomas de intoxicação, caracterizados pela dificuldade de locomoção após 24 horas da aplicação (Figura 39).



**Figura 39:** Porcentagem de operárias intoxicada em colônias de *Atta sexdens rubropilosa* mantidas em laboratório e submetidas a nebulização com óleo bruto e extratos da casca da castanha de *Anacardium occidentale*.

#### 6.1.4.2.2 Corte de folhas

A redução do corte de folhas pelas formigas nas colônias nebulizadas com os óleos brutos de *A. indica* (nim), *C. guianensis* (andiroba), *E. guineensis* (dendê), *R. communis* (mamona) e *S. indicum* (gergelim) foi semelhante ao grupo controle (Tabela 22).

Foi verificado que a paralisação do corte de folhas nas colônias submetidas ao tratamento de nebulização com o óleo bruto e os extratos hexânico e acetato de etila ocorreu somente até o sétimo dia. Nas colônias submetidas ao tratamento com o extrato metanólico ocorreram até o terceiro dia e para o extrato diclorometano não houve a paralisação das atividades de corte (Tabela 23).

**Tabela 22.** Porcentagem de folhas cortadas nas colônias de *Atta sexdens rubropilosa* submetidas ao tratamento de nebulização com os óleos brutos de *Azadirachta indica*, *Carapa guianensis*, *Elaeis guineensis*, *Ricinus communis* e *Sesamum indicum*.

Tratamentos	Avaliações (dias)										
	1	2	3	7	14	28	35	42	49	56	60
Controle	81,3	81,3	100	100	100	100	100	100	100	100	100
<i>A. indica</i>	93,8	93,8	100	100	100	100	100	100	100	100	100
<i>E. guineensis</i>	75	75	75	100	75	75	100	100	100	100	100
<i>C. guianensis</i>	75	75	75	100	87,5	81,3	100	93,8	100	100	100
<i>R. communis</i>	93,8	100	100	93,8	100	75	100	100	100	100	100
<i>S. indicum</i>	93,8	93,8	93,8	100	100	100	100	100	100	100	100
<i>A. occidentale</i>	0	0	0	0	25	25	25	25	25	25	25

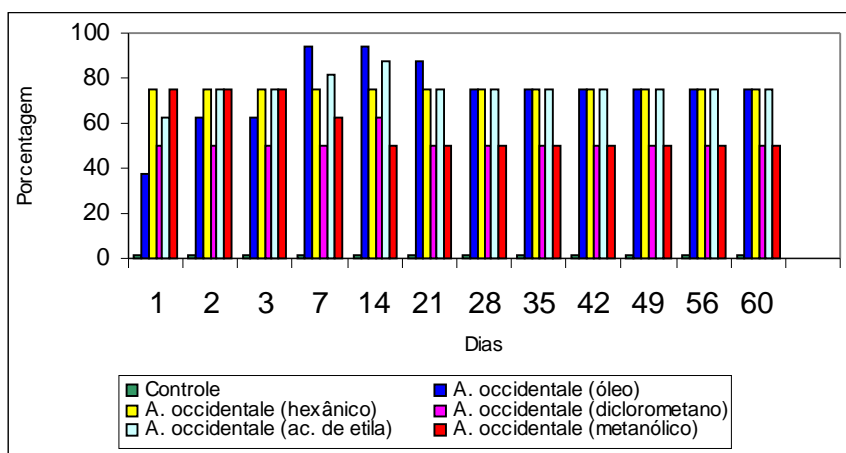
**Tabela 23.** Porcentagem de folhas cortadas nas colônias de colônias de *Atta sexdens rubropilosa* submetidas ao tratamento de nebulização com o óleo bruto e extratos de *Anacardium occidentale*.

Tratamentos	Avaliações (dias)										
	1	2	3	7	14	28	35	42	49	56	60
Controle	81,3	81,3	100	100	100	100	100	100	100	100	100
Extrato hexânico	0	0	0	0	25	25	25	25	25	25	25
Extrato diclorometano	25	25	25	50	50	50	50	50	50	50	50
Extrato ac. de etila	0	0	0	0	25	25	25	25	25	25	25
Extrato metanólico	0	0	0	12,5	50	50	50	50	50	50	50

### 6.1.4.2.3 Mortalidade das formigas

Nas colônias que receberam os óleos brutos de *R. communis*, *A indica*, *C. guianensis*, *S. indicum* e *E. guineensis* ocorreu mortalidade das operárias em torno de 20%, valor próximo do controle.

O óleo da castanha de *A. occidentale* provocou mortalidade inicial das operárias em torno de 40%, 75% no 3º dia e 85% entre o 7º e 14º dia. Todavia, a partir do 21º dia houve a recuperação de 25% das colônias, permanecendo a mortalidade das operárias em 75% até o final do experimento. Já nas colônias que foram tratadas com os extratos hexânico, acetato de etila e metanólico da castanha de *A. occidentale* ocorreu mortalidade inicial de 75% das operárias. Foi observado que a maior mortalidade ocorreu entre o 7º e o 21º dia de realização dos testes em todos os tratamentos. Após esse período houve a recuperação de 25% das colônias de cada experimento e a mortalidade das operárias foi de 75% até o final do experimento (Figura 40).

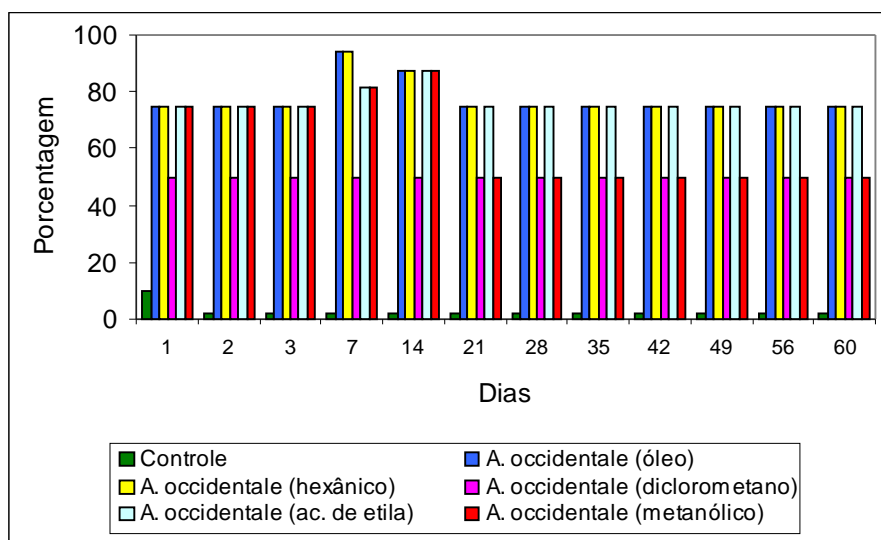


**Figura 40:** Mortalidade de operárias em colônias de *Atta sexdens rubropilosa* mantidas em laboratório e submetidas a nebulização com óleo bruto e extratos da castanha de *Anacardium occidentale*.

#### 6.1.4.2.4 Corte de fungo

A quantidade de fungo cortado pelas operárias nas colônias que foram submetidas ao tratamento de nebulização com óleos brutos de *R. communis*, *A. indica*, *C. guianensis*, *S. indicum* e *E. guineensis* foi semelhante ao controle (cerca de 20%).

Nas colônias que foram nebulizadas com o óleo bruto e extratos da castanha de *A. occidentale* observou-se que, inicialmente, as operárias cortavam pedaços do fungo e colocavam na panela de lixo. Decorridas 24 horas após a aplicação foi constatado fungo cortado na câmara de fungo e lixo, fungo amarelado e ainda crias no lixo. Nas colônias que receberam o extrato diclorometano, as operárias de *A. sexdens rubropilosa* cortaram cerca de 50% do fungo até o terceiro dia e nas demais colônias que receberam os extratos hexânico, acetato de etila e metanólico da castanha de *A. occidentale*, o corte do fungo simbiote foi de aproximadamente 75%, sendo que a maior quantidade de fungo foi cortada entre o 7° e 14° dias do desenvolvimento (Figura 41).



**Figura 41:** Porcentagem de fungo cortado pelas operárias em colônias de *A. sexdens rubropilosa* mantidas em laboratório e submetidas a nebulização com óleo bruto e extratos da castanha de *A. occidentale* e o controle.

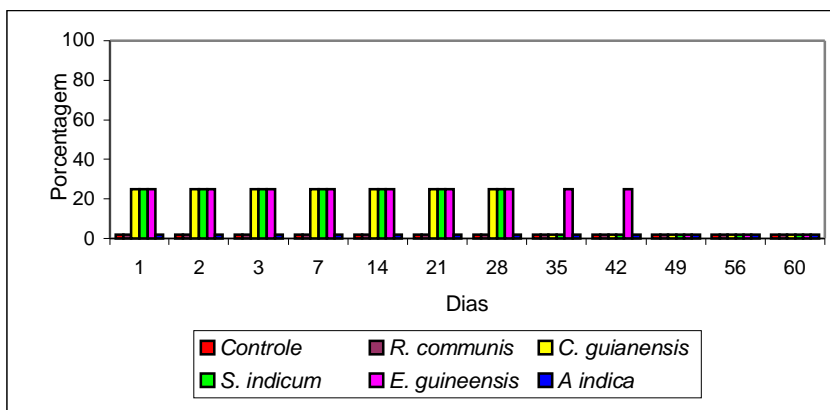
#### 6.1.4.2.5 Mudança de panela

Tanto nas colônias que foram nebulizadas com o óleo bruto de *R. communis*, *A indica*, *C. guianensis*, *E. guineensis* e *S. indicum* como naquelas tratadas com os extratos de *A. occidentale* as formigas não mudaram crias e nem jardim de fungo, de panela.

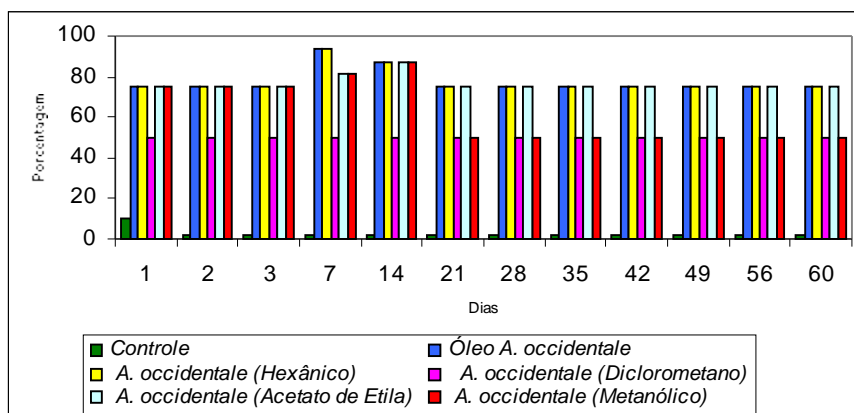
#### 6.1.4.2.6 Colônia com redução no jardim de fungo

Não foi observado redução no jardim de fungo em colônias tratadas com os óleos brutos de *R. communis* e *A indica*. As colônias tratadas com os óleos brutos de *C. guianensis* e *S. indicum* apresentaram redução de 25% por um período de aproximadamente 30 dias e *E. guineensis* de 45 dias (Figura 42).

Nas colônias que receberam óleo bruto e extratos hexânico, acetato de etila e metanólico ocorreu redução de 75% do jardim de fungo até o 3º dia. A partir do 21º dia o fungo se recuperou totalmente em 25% das colônias tratadas com óleo bruto e extratos hexânico e acetato de etila e em 50% nas colônias tratadas com o extrato metanólico. As colônias tratadas com o extrato diclorometano apresentaram 50% de redução no jardim de fungo do início até o término dos bioensaios (Figura 43).



**Figura 42:** Percentagem de colônias de *A. sexdens rubropilosa* mantidas em laboratório e nebulizadas com óleos brutos *C. guianensis* e *S. indicum* e *E. guineensis* que apresentaram redução no jardim de fungo.



**Figura 43:** Porcentagem de colônias de *Atta sexdens rubropilosa* mantidas em laboratório e nebulizadas com óleo bruto e extratos da casca de *Anacardium occidentale* que apresentaram redução no jardim de fungo.

#### 6.1.4.2.7 Presença de fungos filamentosos

As colônias que foram tratadas com óleos brutos de *R. communis*, *A. indica*, *C. guianensis* e *E. guineensis* não apresentaram contaminação por fungos filamentosos. No entanto, no tratamento com *S. indicum* observou-se a presença desses fungos em 75% das colônias a partir do 5º dia de experimento, mas no 7º dia as colônias se recuperaram e o fungo filamentoso foi controlado.

Nas colônias em que foram aplicadas nebulização com o óleo bruto de *A. occidentale* foi observado a presença de fungos filamentosos no 2º dia de experimento em 75% das colônias (Figura 44).

Nos testes com os extratos hexânico e diclorometano de *A. occidentale* não foi observada a presença de fungos filamentosos e nas colônias nebulizadas com extrato metanólico ocorreu a presença de fungos filamentosos, em 50% das repetições. As colônias tratadas com o extrato acetato de etila apresentaram fungos filamentosos a partir do segundo dia do experimento. Após esse período, as formigas juntamente com o seu fungo simbionte conseguiram, através de suas estratégias de defesas mecânicas e/ou bioquímicas controlar esses microorganismos.



**Figura 44:** Presença de fungos filamentosos em colônias de *Atta sexdens rubropilosa* mantidas em laboratório e submetidas a nebulização com o óleo bruto da casca da castanha de *Anacardium occidentale*.

#### 6.1.4.2.8 Presença de rainha morta

Nos tratamentos de nebulização com os óleos brutos de *Ricinus communis* (mamona), *Azadirachta indica* (nim), *Carapa guianensis* (andiroba) e *Elaeis guineensis* (dendê), *Sesamum indicum* (gergelim) e o óleo bruto e os extratos da castanha de *Anacardium occidentale* (caju) não foi constatado a mortalidade da rainha.

#### 6.1.4.2.9 Condições das colônias

A nebulização utilizando os óleos brutos de *C. guianensis* e *A. indica* causaram inicialmente aumento de umidade nas câmaras de fungo e lixo até o 14º dia de experimento. No entanto, nas colônias que receberam o óleo bruto de *E. guineensis*, essa condição permaneceu até 28º dia dos bioensaios. Nas colônias onde foi aplicado o óleo bruto de *E. guineensis* não houve sintomas de intoxicação nas operárias, mas foram observados sinais de agressividade como abertura das mandíbulas na direção das operárias da mesma colônia e operárias mortas pelas companheiras do ninho. Contudo, apesar das condições apresentadas inicialmente pelos formigueiros, 100% das colônias tratadas com os óleos brutos de *C. guianensis*, *A. indica* e *E. guineensis* recuperaram-se, não havendo mortalidade dessas colônias.

Nas colônias submetidas à nebulização com o óleo e extratos hexânico e acetato de etila da casca da castanha de *A. occidentale* o fungo simbionte apresentava-se amarelado e as colônias estavam com muita umidade após 24 horas. Após três dias de experimento foram observados fungos filamentosos, além de crias no lixo e uma elevada quantidade de fungo simbionte cortado na câmara de lixo. Dessa forma, ocorreu mortalidade de 75% das colônias de cada tratamento. Para as colônias que receberam extratos diclorometano e metanólico da casca da castanha de *A. occidentale* ocorreram os mesmos sintomas mencionados, contudo, houve a recuperação de 50% das colônias durante o decorrer dos experimentos.

Nas tabelas 24 e 25 está o resumo das condições (ativos e inativos) das colônias durante o período do experimento.

**Tabela 24.** Condições das colônias incipientes de *Atta sexdens rubropilosa* submetidas ao tratamento de nebulização com os óleos brutos de *Azadirachta indica*, *Elaeis guineensis*, *Carapa guianensis*, *Ricinus communis*, *Sesamum indicum*

Tratamentos	Colônia	Avaliações (dias)										
		1	2	3	7	14	28	35	42	49	56	60
Controle	1	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A
	2	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A
	3	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A
	4	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A
<i>A. indica</i>	1	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A
	2	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A
	3	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A
	4	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A
<i>E. guineensis</i>	1	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A
	2	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A
	3	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A
	4	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A
<i>C. guianensis</i>	1	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A
	2	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A
	3	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A
	4	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A
<i>R. communis</i>	1	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A
	2	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A
	3	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A
	4	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A
<i>S. indicum</i>	1	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A
	2	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A
	3	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A
	4	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A

A = colônia ativa; I = Colônia inativa.

**Tabela 25.** Condições das colônias incipientes de *Atta sexdens rubropilosa* submetidas ao tratamento de nebulização com o óleo bruto de e os extratos da casca da castanha de *Anacardium occidentale*

Tratamentos	Colônia	Avaliações (dias)										
		1	2	3	7	14	28	35	42	49	56	60
Controle	1	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A
	2	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A
	3	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A
	4	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A
Óleo bruto de <i>A. occidentale</i>	1	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A
	2	A	A	A	I	I	I	I	I	I	I	I
	3	A	A	A	I	I	I	I	I	I	I	I
	4	A	A	A	I	I	I	I	I	I	I	I
Extrato hexânico <i>A. occidentale</i>	1	A	A	A	I	I	I	I	I	I	I	I
	2	A	A	A	I	I	I	I	I	I	I	I
	3	A	A	A	I	I	I	I	I	I	I	I
	4	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A
Extrato diclorometano <i>A. occidentale</i>	1	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A
	2	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A
	3	A	A	A	A	I	I	I	I	I	I	I
	4	A	A	A	A	I	I	I	I	I	I	I
Extrato acetato de etila <i>A. occidentale</i>	1	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A
	2	A	A	A	A	I	I	I	I	I	I	I
	3	A	A	A		I	I	I	I	I	I	I
	4	A	A		I	I	I	I	I	I	I	I
Extrato metanólico de <i>A. occidentale</i>	1	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A
	2	A	A	A	I	I	I	I	I	I	I	I
	3	A	A	A	I	I	I	I	I	I	I	I
	4	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A

A = colônia ativa; I = Colônia inativa.

## 6.2 Testes em colônias de campo

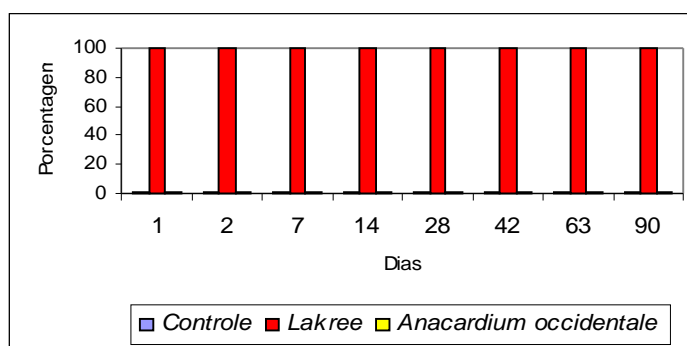
### 6.2.2 Teste de nebulização em colônias de *Atta sexdens rubropilosa*

O óleo bruto de *A. occidentale* quando aplicado através da nebulização em colônias de campo de *A. sexdens rubropilosa* não apresentou resultado satisfatório, ou seja, não foi verificada a mortalidade dos saúveiros durante os 90 dias do desenvolvimento dos experimentos. Tanto as colônias do grupo controle como aquelas tratadas com o óleo bruto de *A. occidentale* mostraram-se ativas durante todo o período observado, renovando continuamente a terra depositada nos muruduns, forrageando e cortando folhas.

### 6.2.3 Testes de termonebulização em colônias de *Atta bisphaerica*

A aplicação do óleo bruto de *A. occidentale* e do grupo controle não causaram inatividade nas colônias de *A. bisphaerica*, sendo observado durante todo o período dos testes que havia corte de folhas, atividade de forrageamento das operárias e devolução da terra solta em cima do murudum pelas operárias das colônias (Figura 45).

Os testes de termonebulização com o inseticida Lakree (controle positivo) apresentaram 100% de eficiência no controle das colônias de campo de *A. bisphaerica*, havendo a paralisação imediata no corte de folhas e atividades de forrageamento pelas operárias, sendo observado a mesma situação até o término do experimento (90 dias).



**Figura 45** – Eficiência de nebulização com o óleo bruto de *Anacardium occidentale* no controle de colônias de campo de *Atta bisphaerica*.

## 7. DISCUSSÃO

As formigas cortadeiras são comparadas aos grandes herbívoros devido a enorme quantidade de vegetais que cortam (HOWARD, 1988; FOWLER et al., 1991). Todavia, elas são seletivas e exibem preferência por determinadas espécies de plantas (HOWARD, 1988). Essa preferência deve-se, principalmente, aos fatores químicos, como os terpenóides e alcalóides presentes nos vegetais (HUBBELL et al., 1984). Dessa forma, existe uma complexa inter-relação entre insetos fitófagos e as plantas, resultando num complexo processo evolutivo que envolve o desenvolvimento de mecanismos de defesa pelas plantas e os mecanismos adaptativos das formigas cortadeiras (FEBVAY & KERMARREC, 1986).

O modo de ação dos óleos vegetais sobre os insetos ainda não está totalmente elucidado. Segundo Davidson et al. (1991) o óleo atinge principalmente o sistema respiratório dos insetos, interferindo na respiração e causando sufocamento que, conseqüentemente, causa a morte do animal. No entanto, Taverner et al. (2001) sugeriram que o óleo pode agir diretamente no sistema nervoso dos insetos, causando o aumento da permeabilidade da membrana do neurônio para troca de íons e, conseqüentemente, elevada excitabilidade das células nervosas.

Nos bioensaios de toxicidade com operárias de *A. sexdens rubropilosa* isoladas do formigueiro, os óleos brutos de *A. indica* (nim), *A. occidentale* (caju), *C. guianensis* (andiroba), *E. guineensis* (dendê), *R. communis* (mamna), *S. indicum* (gergelim) e os extratos da casca da castanha de *A. occidentale* (caju) apresentaram toxicidade para as formigas (Tabela 24) e por isso foram selecionados para serem testados em colônias de laboratório pelo método de nebulização ou por incorporação em iscas. Como

alternativas para a mistura base usada com líquidos nebulizáveis, foram testados também o óleo mineral OPPA-BR-CE<sup>®</sup> e os óleos vegetais Natur`L<sup>®</sup> e Liza<sup>®</sup> não apresentaram alterações significativas nas colônias, as quais tiveram recuperação das atividades após 48 horas.

O óleo bruto da semente de *A. indica* causou alta mortalidade, com redução significativa na sobrevivência das operárias de *A. sexdens rubropilosa* no bioensaio de ingestão. A mortalidade foi crescente de acordo com aumento da concentração, sendo verificado que na maior concentração a sobrevivência mediana foi de apenas 5 dias e que até o 14º dia todas as formigas estavam mortas, porém, quando aplicado topicamente o nim não apresentou efeito tóxico às formigas. Essa ausência de toxicidade pode estar relacionada a utilização do óleo na forma bruta, pois Santos-Oliveira et al. (2006) verificaram que topicamente o nim só apresentou toxicidade às operárias após a obtenção de extratos orgânicos. Sendo assim, é provável que os efeitos ocorridos nas formigas sejam devido à presença dos compostos químicos secundários presentes no nim e estes foram concentrados na obtenção dos extratos.

A ação tóxica do óleo do nim também foi verificada por Prates et al. (2003) que utilizaram extratos aquosos das folhas do nim para controlar *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae) confirmando o seu potencial como inseticida natural no controle desse inseto. Weathersbee & Tang (2002), trabalhando com *Diaprepes abbreviatus* (Coleoptera: Curculionidae), também constataram a redução na sobrevivência de indivíduos expostos ao alimento que continha extrato da semente do nim. Trindade et al. (2000) analisou o extrato metanólico da amêndoa da semente do nim sobre a traça-do-tomateiro, *Tuta absoluta* (Lepidoptera: Gelechiidae), verificando elevada mortalidade em lagartas dessa espécie. Já Salles & Rech (1999) trabalhando com mosca-da-fruta, *Anastrepha fraterculus* (Diptera: Tephritidae), verificaram a ação tóxica do extrato do nim, principalmente na redução da postura e na interferência do desenvolvimento larval e pupal desse inseto.

O óleo bruto de *A. indica* não apresentou resultado satisfatório nos bioensaios de nebulização e iscas granuladas, em colônias de laboratório. Foi observado que houve carregamento e incorporação das iscas granuladas no jardim de fungo, porém, não houve sinais de intoxicação nas operárias, nem alteração nas colônias, indicando uma boa atratividade das mesmas. Nesse sentido, Lima et al. (1999) analisaram os efeitos

das folhas do nim sobre colônias de *Acromyrmex subterraneus subterraneus*, mantidas em laboratório e verificaram que após 8 semanas de tratamento não houve nenhum efeito sobre as formigas. A parte experimental, entretanto, compreendeu o oferecimento das folhas da planta para a manutenção do saúveiro e isto pôde ter facilitado a ação do fungo simbionte em desempenhar o seu papel detoxificador (NORTH et al., 1997).

O óleo bruto de *C. guianensis* causou ação tóxica sobre as operárias de *A. sexdens rubropilosa*, ocasionando a redução significativa na sobrevivência das operárias nos bioensaios de ingestão. A mortalidade das operárias foi dependente diretamente da concentração utilizada. Esse óleo, na aplicação tópica, também apresentou toxicidade às operárias de *A. sexdens rubropilosa*, porém, somente em concentrações superiores a 0,2 µL/mL. Todavia, o óleo bruto de *C. guianensis* quando nebulizado, em colônias de laboratório não apresentou resultado satisfatório de controle. Neste caso, é provável que aumentando a concentração do óleo bruto de *C. guianensis*, ocorra resultado diferente na nebulização.

Os óleos brutos de *E. guineensis*, *R. communis* e *S. indicum* só apresentaram atividade biológica sobre as operárias de *A. sexdens rubropilosa* através dos bioensaios de ingestão. Nos bioensaios de nebulização em colônias de *A. sexdens rubropilosa* mantidas em laboratório, esses óleos também não apresentaram resultados satisfatórios. Todavia, na nebulização com o óleo de *E. guineensis* foi verificado a ocorrência de alterações comportamentais entre as operárias, caracterizadas principalmente, pela abertura das mandíbulas na direção das operárias da mesma colônia, além operárias mortas pelas companheiras do ninho.

Em relação à toxicidade apresentada pelo óleo bruto de *E. guineensis* nos bioensaios de ingestão, segundo Hill & Schoonhoven (1981) apud Obeng-Ofori (1995) o efeito inseticida desse óleo pode ser devido a frações de triglicerídeos presentes nesse vegetal.

Acácio-Bigi (1997) e Acácio-Bigi et al. (1998) realizaram testes de toxicidade para o as operárias de *A. sexdens rubropilosa*, identificando o alcalóide ricinina nos extratos foliares da mamona como princípio ativo. Posteriormente, Kitamura et al. (1999) indicaram que a menor concentração de ricinina em dieta artificial, significativamente tóxica para operárias de *A. sexdens rubropilosa* foi de 50 µg/mL.

Morini (1995) realizou bioensaio com extratos orgânicos brutos, frações e

subfrações da semente de gergelim em operárias de *A. sexdens rubropilosa* isoladas do formigueiro e tratadas por aplicação tópica. Os resultados obtidos mostraram que a subfração tóxica (D/A 94-2) era constituída de 97% de triglicerídeos, compostos pelos ácidos graxos oléico, palmítico, esteárico e linoléico. A subfração D/A 94-5, composta por diglicerídeos e 3 lignanas diferentes da sesamina, apresentou efeito sinérgico para os triglicerídeos isolados, mas não apresentou atividade tóxica. A sesamina, isolada da subfração D/A 94-6, não apresentou atividade tóxica para as formigas e nem efeito sinérgico quando adicionada aos triglicerídeos.

Morini et al. (1997) testaram alguns ácidos graxos comerciais presentes no óleo da pasta de gergelim e verificaram que os ácidos palmítico, esteárico, oléico e tricosenóico puros provocaram queda significativa na sobrevivência de operárias de *A. sexdens rubropilosa*. Segundo esses autores, os ácidos graxos palmítico e esteárico fazem parte da composição das folhas de *S. indicum*, que é o material cortado e levado ao ninho pelas formigas.

Outros autores mostraram que os ácidos graxos de origem vegetal não só apresentam atividade biológica para as formigas cortadeiras, mas também para o fungo simbiote. Estudos evidenciaram que extratos foliares de algumas espécies vegetais, como *Canavalia ensiformis* (fava-branca) e *S. indicum* (gergelim), inibiram o desenvolvimento do fungo simbiote de *A. sexdens rubropilosa* e que essa inibição poderia estar relacionada com a presença de ácidos graxos (MONTEIRO et al., 1998; RIBEIRO et al., 1998). Fernandes J.B. et al. (2002) verificaram a ação inibitória do extrato hexânico das sementes de limão, constituído principalmente de ácido linolênico, para o fungo simbiote e ação inseticida, por aplicação tópica, dos óleos de laranja, limão e tangerina para as saúvas.

O óleo bruto de *E. guineensis* quando incorporado nas iscas granuladas, não apresentam alterações nas colônias de *A. sexdens rubropilosa*. Entretanto, foi verificado carregamento e incorporação de 100% das iscas 2 horas após o oferecimento, indicando uma boa atratividade das mesmas. Peres Filho & Dorval (2003) avaliaram a eficiência de diferentes iscas formicidas comercializadas e de outras à base de *Sesamum indicum* (gergelim), no controle de formigueiros adultos de *A. sexdens rubropilosa*, em uma área de reflorestamento de *Eucalyptus camaldulensis*. Verificaram que a isca contendo gergelim (15%) apresentou controle satisfatório somente a partir da terceira semana de

avaliação (90 dias). Contudo, os autores enfatizam a necessidade de estudos posteriores com o objetivo de aumentar a eficiência do produto e diminuir o tempo necessário para atingir o nível máximo de controle. Dessa forma, esses resultados indicam que os métodos utilizados para teste das substâncias em laboratórios estão compatíveis com os métodos utilizados no campo. Novos testes serão realizados aumentando-se as concentrações desses óleos e/ou adequando a metodologia de aplicação.

O óleo de *T. cacao* não causou toxicidade para as operárias de *A. sexdens rubropilosa*, tanto nos bioensaios de ingestão como nos de aplicação tópica. Contudo, esses resultados podem ser decorrentes da dificuldade na homogeneização desse óleo na dieta artificial, pois, ocorria solidificação e separação do óleo na superfície da dieta. Isto pode ter levado às formigas selecionar o material a ser ingerido.

Com o objetivo de homogeneizar a mistura de ácidos graxos na dieta artificial Morini (1998) utilizou o triolin (um triglicerídeo inerte), porém, não foi possível a incorporação do ácido palmítico (C<sub>16</sub>). Takahashi-Del-Bianco (2002) para melhorar a diluição do ácido graxo na dieta artificial, utilizou o solvente diclorometano na incorporação de misturas de ácidos graxos na dieta, porém não obteve sucesso.

O óleo bruto da casca da castanha de *A. occidentale* apresentou resultado significativo quando incorporado em dieta artificial em todas as concentrações testadas. Os extratos da castanha foram tóxicos somente em concentrações superiores a 10 mg/mL, destacando-se o extrato acetato de etila na concentração 20 mg/mL, que provocou mortalidade de 50% das operárias em apenas 3 dias de experimento. Nos bioensaios por aplicação tópica, o óleo bruto e os extratos de *A. occidentale* também causaram toxicidade às operárias de *A. sexdens rubropilosa* provocando redução na sobrevivência dessas formigas.

O óleo de *A. occidentale* quando incorporado em iscas granuladas não apresentaram toxicidade às colônias de *A. sexdens rubropilosa*. Foi observado que houve carregamento e incorporação das iscas no jardim de fungo, mas não foram verificados sinais de intoxicação nas operárias e nem alterações nas condições gerais das colônias. Todavia, a nebulização com o óleo bruto e com os extratos da casca da castanha de *A. occidentale* causaram sintomas de intoxicação nas operárias de *A. sexdens rubropilosa* e depois a mortalidade de operárias. Também, foi constatada a contaminação por fungos filamentosos nas colônias.

O desequilíbrio provocado pelo tratamento com o óleo bruto e os extratos de *A. occidentale* pode ter levado os microorganismos associados a sobrepujarem o fungo deixando por isso, o ninho debilitado e promovendo a inatividade de 75% das colônias para o óleo bruto e os extratos hexânico e acetato de etila e de 50% para os extratos diclorometano e metanólico. Dessa forma, o óleo bruto de *A. occidentale* quando nebulizado em colônias de laboratório apresentou resultados satisfatórios no controle, sendo por isso selecionado para testes de nebulização e termonebulização em colônias de campo.

A toxicidade do óleo e dos extratos da castanha de *A. occidentale* foi relatado por Mendonça et al. (2005) em estudo com larvas do 4º ínstar do mosquito *Aedes aegypti*, sendo verificado alta mortalidade para as larvas desse inseto. Já Akinpelu (2001) verificou que extrato metanólico de *A. occidentale* em concentrações acima de 20 mg/mL apresenta atividade antibacteriana.

Cerca de 70% dos constituintes presentes na casca da castanha de caju são os ácidos anacárdicos, compostos fenólicos biosintetizados a partir de ácidos graxos (AGOSTINI-COSTA et al., 2005). Segundo Lima et al. (2000) os ácidos anacárdicos obtidos dos extratos etílicos do óleo da casca da castanha de *A. occidentale* apresentaram atividade inibitória sobre os microrganismos da cavidade bucal *Streptococcus mutans*, *Staphylococcus aureus*, *Candida albicans* e *Candida utilis*.

Vitor (2001) verificou a atividade de ácidos graxos sintéticos sobre o desenvolvimento do fungo simbiote *Leucoagaricus gongylophorus*. Segundo a autora, os ácidos graxos saturados com 6 a 12 carbonos na cadeia, somente na concentração de 100 µL/mL, inibiram o desenvolvimento do fungo em 100%. Os ácidos graxos insaturados também apresentaram atividade biológica.

A ocorrência de fungos filamentosos nos bioensaios com o óleo e os extratos de *A. occidentale* deve-se provavelmente ao enfraquecimento das barreiras de defesa impostas pelas formigas e à debilitações ocasionadas nas colônias provocadas pela aplicação desses tratamentos. Além disso, fungos filamentosos entre eles o *Escovopsis* são parasitas antagonistas de ocorrência comum nas colônias das formigas cortadeiras, sendo considerado causador de impacto significativo à saúde e a sobrevivência dos ninhos, diminuindo a taxa de crescimento do fungo e reduzindo a sobrevivência da formigas (CURRIE, 2001a; 2001b).

Hebling et al. (2000b) em estudos realizados com colônias de *A. sexdens rubropilosa*, alimentadas diariamente com folhas de *Ipoema batatas* verificaram interferência no metabolismo respiratório com o aumento da taxa respiratória sugerindo a ocorrência de efeitos fisiológicos nos adultos dessas formigas além da existência de uma relação negativa entre *I. batatas* e a inibição do crescimento do fungo. Segundo Leite et al. (2005) extratos orgânicos dos frutos, galhos e folhas de *Cipadessa fruticosa* causaram toxicidade para operárias de *A. sexdens rubropilosa* isoladas de formigueiros adultos além de inibir em 80% o desenvolvimento do fungo simbiote de *A. sexdens rubropilosa*.

A nebulização e a termonebulização com o óleo bruto da casca da castanha de *A. occidentale* não apresentaram resultados satisfatórios no controle de colônias de campo de *A. sexdens rubropilosa* e *A. bisphaerica*, respectivamente. Durante os testes de temonebulização foi possível verificar que o óleo de *A. occidentale* quando aquecido ocasionou a aglutinação das moléculas provocando entupimento na válvula por onde sai a calda, dificultando a aplicação. Dessa forma, é provável que esses resultados tenham ocorrido pela dificuldade de homogeneização na formulação de aplicação e pela falta da distribuição do produto no interior do ninho devido a sua complexibilidade estrutural.

Os ninhos das espécies do gênero *Atta* possuem uma maior complexidade estrutural dentre os Attini, chegando a apresentar mais de 7 mil câmaras (MOREIRA, 1996). Internamente encontram-se diferenças na forma das câmaras de lixo e fungo e na sua localização em relação a área externa. Em ninhos de *A. sexdens* as câmaras de fungo e lixo possuem forma semi-elipsoide, tendo as de lixo prolongamentos semelhantes a braços e localizam-se ambas abaixo do monte de terra solta (PRETTO, 1996). Além disso, dentre os problemas relacionados à aplicação de produtos químicos para o controle de formigas cortadeiras, tem-se observado que, produtos com alta eficiência em testes de laboratório, quando levados ao campo, apresentam, algumas vezes, um controle inadequado (MOREIRA et al., 2002).

Provavelmente os efeitos tóxicos dos óleos de *C. guianensis*, *E. guineensis*, *S. indicum*, *R. communis*, *A. indica* e os óleo e extratos da castanha de *A. occidentale* observados sobre as formigas cortadeiras *A. sexdens rubropilosa* estejam relacionados à composição química dos óleos desses vegetais nos bioensaios de laboratório. Morini et al. (2005) avaliando a toxicidade de *S. indicum* observaram que os fatores responsáveis

pelo efeito tóxico foram as frações compostas de triglicérides associadas a monoglicérides, diglicérides e sesamina. Estes ácidos graxos podem ser à base da toxicidade para as formigas cortadeiras de *A. sexdens rubropilosa* presenciada nesses estudos, também com sinergismo de composto secundário.

As toxinas presentes nas plantas podem causar efeitos deletérios sobre outras plantas ou animais, através da inalação ou ingestão de produtos voláteis. São distribuídas uniformemente no vegetal, como por exemplo, nas folhas, frutos, raízes e caule, ou então, se localizam em órgãos específicos (BUENO et al., 1990). Dessa forma, a maior parte produtos naturais presentes nos vegetais superiores fundamentalmente os metabólitos secundários como glicosídeo, alcalóides, fenóis e óleos essenciais, têm sido identificados como tóxicos, inibidores de crescimento e reprodução, repelentes e deterrentes para insetos (REMBOLD, 1987; JACOBSON, 1989; SAXENA, 1989).

A comparação entre os testes realizados por aplicação tópica e ingestão. O primeiro método permite a penetração da substância diretamente na hemolinfa do inseto, enquanto que pelo segundo ocorre a absorção através do tubo digestório, podendo sofrer ação de enzimas digestivas comprometendo a atuação da substância (STEVENSON, 1968). Segundo Blum (1983), ocorre um mecanismo de eliminação de toxinas, ainda pouco conhecido, desde a entrada do composto no organismo até sua absorção no intestino.

Pesquisas com óleos têm focado os seguintes aspectos: utilização de óleos minerais e vegetais como veículos de inseticida; como sinergista de inseticida e como inseticida propriamente dito (CHAPMAN, 1967). Dessa forma, a toxicidade do inseticida é acentuada quando o produto químico é aplicado com o óleo, devido a três fatores: 1. o óleo aumenta o contato do inseticida com a cutícula; 2. o óleo dissolve a cera epicular e com isso facilita a passagem do inseticida e 3. o óleo promove a desorganização da proteína interna da cutícula (MATSUMURA, 1975).

Os óleos em sua grande maioria têm sido usados com sinergista de inseticidas (HESLER & PLAPP, 1986) e os mecanismos de atuação ainda não estão bem esclarecidos. Os óleos com poucos componentes não-polares são mais ativos como inseticidas, quando misturados a produtos cujas propriedades de solubilidade são semelhantes (UCHOU et al., 1986).

O emprego de óleo para o controle de insetos tem inúmeras vantagens quando

comparada ao emprego de sintéticos uma vez que são obtidos de recursos naturais renováveis, não persistem no ambiente, não deixam resíduos em alimentos e possuem baixo custo financeiro. Em relação às formigas cortadeiras, a utilização de produtos naturais originários de plantas potencialmente tóxicas ao fungo e/ou a formiga, estão abrindo perspectivas na busca de novos métodos de controle.

Esses resultados indicam que os métodos utilizados para teste das substâncias em laboratórios estão compatíveis com os métodos utilizados no campo. Podendo, também ser utilizado no controle de formigas cortadeiras na agricultura orgânica. No entanto, para garantir o sucesso do emprego destes inseticidas orgânicos novos testes deverão ser realizados aumentando-se e/ou adequando as concentrações de alguns produtos naturais. Além, do desenvolvendo um novo equipamento de nebulização sem que ocorra o aquecimento, condições fundamentais para não alterar os produtos naturais.

Diante disso, os óleos vegetais podem ser considerados uma alternativa promissora no controle da formiga cortadeira *A. sexdens rubropilosa* e os seu uso deve ser incentivado. Contudo, existe necessidade de novos estudos a fim de elucidar os efeitos tóxicos e os compostos que apresentam toxicidade aos insetos, pois, um determinado composto químico dentro da planta, organismo vivo, está interagindo com outros compostos num sistema de equilíbrio, mas quando ele é isolado, suas propriedades não são as mesmas, passando a serem desconhecidas.

## 8. CONCLUSÕES

- Os óleos brutos de *Carapa guianensis* (andiroba), *Elaeis guineensis* (dendê), *Sesamum indicum* (gergelim), *Ricinus communis* (mamona), *Anacardium occidentale* (caju), *Azadirachta indica* (nim) e o óleo e extratos da castanha de *Anacardium occidentale* (caju) apresentaram toxicidade para as operárias de *Atta sexdens rubropilosa* isoladas do formigueiro.
- Os óleos brutos de *Azadirachta indica*, *Elaeis guineensis* e *Anacardium occidentale* quando incorporado em iscas granuladas não foram eficientes no controle colônias de *Atta sexdens rubropilosa*, mantidas em laboratório.
- A nebulização com o óleo bruto e os extratos hexânico e acetato de etila da casca da castanha de *Anacardium occidentale* causaram inatividade de 75% dos formigueiros de *Atta sexdens rubropilosa*, enquanto que os extratos diclorometano e metanólico de *Anacardium occidentale* causaram inatividade de apenas 50% das colônias incipientes.
- A nebulização em testes de campo se mostrou inviável no controle de colônias de *Atta sexdens rubropilosa*, no entanto, após algumas adaptações poderá ser viável.
- A termonebulização com o óleo bruto da casca da castanha de *Anacardium occidentale* não apresentou resultados satisfatórios no controle de colônias de campo de *Atta bisphaerica*.

- Os óleos vegetais podem ser considerados uma alternativa promissora no controle da formiga cortadeira *Atta sexdens rubropilosa*. Contudo, existe necessidade de ampliar os estudos sobre a toxicidade e as formas de intoxicação a fim de elucidar os efeitos tóxicos e os compostos que apresentam toxicidade aos insetos e assim, contribuir para elaboração de metodologias adequadas para o controle das formigas cortadeiras.

## 9. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABREU, J.M.; DELABIE, J.H.C. Controle de formigas cortadeiras em plantio de cacau. **Revista Theobroma**, Ilhéus, Bahia, v.16, p.199-211, 1986.

ACÁCIO-BIGI, M.F. **Efeitos de extratos orgânicos foliares de *Ricinus communis* L. sobre operárias de *Atta sexdens rubropilosa*, Forel, 1908 (Hymenoptera: Formicidae)**. 1994. 147. Dissertação (Mestrado em Ciências Biológicas) – Instituto de Biociências, Universidade Estadual Paulista, Rio Claro, 1994.

ACÁCIO-BIGI, M.F. **Efeito tóxico de extratos foliares e derivados químicos de *Ricinus communis* L. para operárias de *Atta sexdens* L. (Hymenoptera: Formicidae)**. 1997. 134f. Tese (Doutorado em Ciências Biológicas) – Instituto de Biociências, Universidade Estadual Paulista, Rio Claro, 1997.

ACÁCIO-BIGI, M.F. et al. Toxicidade de extratos foliares de *Ricinus communis* L. para operárias de *Atta sexdens rubropilosa* Forel, 1908 (Hymenoptera, Formicidae). **Revista Brasileira de Entomologia**, Sao Paulo, v.41, p.239-243, 1998.

ACÁCIO-BIGI, M.F. et al. Activity of *Ricinus communis* (Euphorbiaceae) and ricinine against the leaf-cutting ant *Atta sexdens rubropilosa* (Hymenoptera: Formicidae) and the symbiotic fungus *Leucoagaricus gongylophorus*. **Pest Management Science**, Sussex, v.60, p.933 – 938, 2004.

ADDOR, R.W. Inseticides. In: C.R.A. GODFREY (Ed.). **Agrochemicals from natural products**. New York: Marcle Dekker, 1994. p.1-62.

AGOSTINI-COSTA, T.S. et al. **Determinação espectrofotométrica de ácidos anacárdicos em amêndoas de castanha de caju**. Brasília: Ministério da Agricultura, pecuária e abastecimento, 2005.10p. (Comunicado Técnico).

AKINPELU, D.A. Antimicrobial activity of *Anacardium occidentale* bark. **Fitoterapia**. Nigéria,v.72, p. 286 – 287, 2001.

AMBROZIN, A. R.P. **Química e atividade inseticida do óleo de *Carapa guianensis* e folhas de *Canavalia ensiformis***. 2000. 152f. Tese (Doutorado em química) - Centro de Ciências e de Tecnologia, Universidade Federal de São Carlos, 2000.

AMANTE, E. A formiga saúva *Atta capiguara*, praga das pastagens. **O Biológico**, São Paulo, v.33, p.113-120, 1967.

AMANTE, E. **Influência de alguns fatores microclimáticos sobre a formiga saúva *Attalaevigata* (F. Smith, 1858), *Atta sexdens rubropilosa* Forel, 1908, *Atta bisphaerica* Forel, 1908 e *Atta capiguara* Gonçalves, 1944 (Hymenoptera, Formicidae), em formigueiros localizados no estado de São Paulo**. 1972. 175f. Tese (Doutorado em Agronomia) – Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 1972.

ANJOS, N.; MOREIRA, D.D.O.; DELLA-LUCIA, T.M.C. Manejo integrado de formigas cortadeiras em reflorestamentos. In: DELLA-LUCIA, T.M.C. (Ed.). **As formigas cortadeiras**. Viçosa: Editora Folha de Viçosa, 1993. p.212 -226.

ANJOS, N.; DELLA LUCIA, T.M.C.; MAYHÉ-NUNES, A. J. **Guia prático sobre formigas cortadeiras em reflorestamento**, Ponte nova, MG: Graff Cor, 1998. 100p.

ALZUGARAY, D.; ALZUGARAY, C. **Enciclopédia da flora brasileira**. Três Livros e Fascículos Ltda, 1984. v.3, p.304 - 305.

BAHIA. Secretaria de Agricultura, Irrigação e Reforma Agrária - SEAGR. **Cultura – Caju**. Disponível em: <<http://www.seagri.ba.gov.br/Caju.htm>> Acesso em: 14 de fev. 2006a.

BAHIA. Secretaria de Agricultura, Irrigação e Reforma Agrária - SEAGRI. **Cultura – dendê**. Disponível em: <<http://www.seagri.ba.gov.br/Dende.htm>>. Acesso em: 10 de jan. 2006b.

BAHIA. Secretaria de Agricultura, Irrigação e Reforma Agrária - SEAGRI. **Cultura – gergelim**. Disponível em: < [www.bahia.ba.gov.br/seagri/gergelim.htm](http://www.bahia.ba.gov.br/seagri/gergelim.htm) >. Acesso em: 10 de jan. 2006c.

BERENBAUM, M.R. North American ethnobotanicals as sources of novel plant-based insecticides. In: ARNASON, J.T.; PHILOGENE, B.J.R.; MORAND, P. (Ed.). **Inseticides of plant origin**. Washington: ACS, 1989. p.11-24.

BEZERRA, M.J.G; BRITO, M.F. Intoxicação experimental pelas folhas de *Ricinus communis* (Euphorbiaceae) em ovinos e caprinos. **Pesquisa Veterinária Brasileira**. Rio de Janeiro, v.15, n.1, p.27 – 34, 1995.

BIBLIOTECA Virtual do Estudante Brasileiro. 2006. Disponível em: <[www.bibvirt.futuro.usp.br/especiais/frutasnobrasil/dende.html](http://www.bibvirt.futuro.usp.br/especiais/frutasnobrasil/dende.html)>. Acesso: 10 de jan. 2006.

BLUM, M.S. Detoxication, deactivation and utilization of plant compounds by insects. In: HEDIN, P.A. (Ed.). **Plant resistance to insects**. Symposium series. American Chemical Society – Washington, DC, 1983, 375p.

BOARETTO, M.A.C; FORTI, L.C. Perspectivas no controle de formigas cortadeiras. **Série Técnica IPEF**, São Paulo, v.11, n.30, p. 1-46, 1997.

BOTANIC Spice. Disponível em: <[www.uni-graz.at/katzer/pictures/sesa.htm](http://www.uni-graz.at/katzer/pictures/sesa.htm) >. Acesso em: 20 de fev. 2006.

BRANDÃO, C.R.F.; MAYHÉ-NUNES. A new fungus-growing ant genus, *Mycetagroicus* gen. N., with the description of three new species and comments on the monophyly of the Attini (Hymenoptera: Formicidae). **Sociobiology**, California, v.38. n.3, p.639 – 665, 2001.

BRAGANÇA, M.A.L.; ONHASCA JR., A.; MORERIRA, D.D.O. Parasitism characteristics of two Phoridae fly species in relation to their host, the leaf-cutting ant *Atta laevigata* (Smith) (Hymenoptera: Formicidae). **Neotropical Entomology**, Londrina, v.31, n.2, p.241 – 244, 2002.

BUENO, O.C. et al. Toxic effect of plants on leaf-cutting ants and their symbiotic fungus. In: R.K. VANDER MEER, K. JAFFE; A. CEDENO (Ed.). **Applied myrmecology: a world perspective**. Boulder: São Francisco & Oxford Westview Press, 1990. p.420-426.

BUENO, O.C. et al. Effect of sesame (*Sesamum indicum*) on nest development of *Atta sexdens rubropilosa* Forel (Hymenoptera: Formicidae). **Journal of Applied Entomology**, Berlin, v. 119, p.341-343, 1995.

BUENO, O.C. et al. Sobrevivência de operárias de *Atta sexdens rubropilosa* Forel (Hymenoptera, Formicidae) isoladas do formigueiro e alimentadas com dietas artificiais. **Anais da Sociedade Entomológica do Brasil**, Jaboticabal, v.26, n.1, p.107 – 113, 1997.

BUENO, O.C. et al. Activity of sesame leaf extracts to the leaf-cutting ant *Atta sexdens rubropilosa* (Hymenoptera: Formicidae). **Sociobiology**, Califórnia, v.44, n.3, p.511-518, 2004a.

BUENO, O.C. et al. Toxicity of sesame extracts to leaf-cutting ant *Atta sexdens rubropilosa* (Hymenoptera: Formicidae). **Sociobiology**, Califórnia, v.44, n.3, p.599-606, 2004b.

BUENO, O.C. Plantas inseticidas no controle de formigas cortadeiras. **Agroecologia**, Botucatu, n.28, 2005.

BUENO, F.C. et al. Toxicity of *Cedrela fissilis* to *Atta sexdens rubropilosa* (Hymenoptera: Formicidae) and its symbiotic fungus. **Sociobiology**, Califórnia, v.45, n.2, p.389-399. 2005.

BUENO, F.C. **Seleção de ingredientes ativos para uso em iscas no controle de formigas cortadeiras (Hymenoptera:Formicidae)**. 2005. 98f. Dissertação (Mestrado em Ciências Biológicas) - Universidade Estadual Paulista, Botucatu, S.P, 2005.

CARRIÓN, G.; QUIROZ, L.; VALENZUELA, J. Hongos entomopatógenos de las hormigas arrieras *Atta mexicana* en México. **Revista Mexicana de Micología**, México, v.12, p.41-48, 1996.

CHAPMAN, P.J. Petroleum oils for control of orchard pests. **N.Y. Agric. Exp. Sta. Bull.**, n. 814, 1967.

CHERRET, J. M. The economic importance of leaf-cutting ants. In: M. D. BREED; C. D. MICHENER; H. C. EVANS (Ed). **The Biology of Soc. Insect**. Westview Press, Boulder: 1982.

CHERRET, J. M. History of the leaf-cutting ant problems. In: LOFGREN, C.S. & VANDER MEER, R.K. (Ed.) **Fire ants and leaf cutting ants: biology and management**. Boulder, Westview Press: 1986, p.10 – 17.

CURRIE, C.R.. A community of ants, fungi, and bacteria: A multilateral approach to studying symbiosis. **Annual Review of Microbiology**, Palo Alto, v.55, p.357–380, 2001a.

CURRIE, C.R. Prevalence and impact of a virulent parasite on a tripartite mutualism. **Oecologia**, Berlin, v.128, p.99–106, 2001b.

CURRIE, C.R.; STUART, A.E. Weeding and grooming of pathogens in agriculture by ants. **The Royal Society**, v. 268, p. 1033-1039, 2001.

CURRIE, C.R.; SCOTT, J.A.; SUMMERBELL, R.C.; MALLOCH, D. Fungus-growing ants use antibiotic-producing bacteria to control garden parasites. **Nature**, London, v.398, p.701-704, 1999.

DA SILVA, M.E.; DIEHL-FLEIG, E. Avaliação de diferentes fungos entomopatogênicos para controle da formiga *Atta sexdens piriventris* (SCINTSCHL,

1919) (Hymenoptera: Formicidae). **Anais da Sociedade Entomológica do Brasil**, Jaboticabal, v.17, p.263 – 269, 1988.

DASHAK, D.A.; FALI, C.N. Chemical composition of four varieties of Nigerian benniseed ( *Sesamum indicum*). **Food Chemistry**, London v.47, p.253-255, 1993.

DAVIDSON, N.A. et al. Managing insects and mites with spray oils. **Special Publication**. Californian: University of Californian. p.3347, 1991.

DELABIE, J.H.C., DELLA-LUCIA, T.M.C., PATRE, L. Protocolo de Experimentação para avaliar a atratividade de novas formulações de iscas granuladas utilizadas no controle das formigas cortadeiras *Acromyrmex* spp. e *Atta* spp (Hymenoptera: Formicidae: Myrmicinae: Attini) no campo. **Anais da Sociedade Entomológica do Brasil**, Jaboticabal, v.29, p.1-6, 2000.

DELABIE, J.H.C. *Atta silvai* Gonçalves, sinônimo júnior de *Atta laevigata* (Fred. Smith) (Hymenoptera: Formicidae). **Revista Brasileira de Entomologia**, São Paulo, v.41, n. 2-4, p.339-341, 1998.

DELLA-LUCIA, T.M.C., FOWLER, H. G. As formigas cortadeiras. In: As formigas cortadeiras. In: DELLA-LUCIA, T.M.C. (Ed.). **As formigas cortadeiras**. Viçosa: Editora Folha de Viçosa, 1993. p.01 – 03.

DELLA-LUCIA, T.M.C.; ARAÚJO, M.S. Fundação e estabelecimento de formigueiros. In: DELLA-LUCIA, T.M.C. (Ed.). **As formigas cortadeiras**. Viçosa: Editora Folha de Viçosa, 1993. p.60 – 73.

DELLA-LUCIA, T.M.C., FOWLER, H.G., ARAÚJO, M.S. Castas de formigas cortadeiras. In: DELLA-LUCIA, T.M.C. (Ed.). **As formigas cortadeiras**. Viçosa: Editora Folha de Viçosa, 1993a. p.43 – 48.

DELLA-LUCIA, T.M.C., FOWLER, H.G., MOREIRA, D.D.O. Espécies de formigas cortadeiras no Brasil In: DELLA-LUCIA, T.M.C. (Ed.). **As formigas cortadeiras**. Viçosa: Editora Folha de Viçosa, 1993b. p.26 – 31.

DELLA-LUCIA, T.M.C.; VILELA, E.F. Métodos atuais de controle e perspectiva. In: **As formigas cortadeiras**. DELLA-LUCIA, T.M.C. (ed.). Viçosa: Editora Folha de Viçosa, 1993. p.163 – 176.

DFT DIGITAL LIBRARY - **Vascular Plant Images**. 2006. Disponível em: <<http://www.csdl.tamu.edu/FLORA/gallery.htm>>. Acesso em: 20 de fev. 2006.

DIEHL-FLEIG, E. **Formigas**: organização social e ecologia comportamental. São Leopoldo: Ed. Unisinos, 1995. 168p.

ELANDT-JOHNSON, R.; JOHNSON, N. L. **Survival models and data analysis**. New York: John Wiley and Sons, 1980.

EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA- EMBRAPA, 2006. Disponível em: <[www.sct.embrapa.br/diacampo/2004/releases.htm](http://www.sct.embrapa.br/diacampo/2004/releases.htm)> Acesso em: 10 de janeiro de 2006.

FEBVAY, G., KERMARREC, A. Prevention of feeding by *Acromyrmex octopinosus* with antifeedants from yams. In: LOFGREN, C.S; VANDER MEER, R.K. (Ed.). **Fire ants and leaf-cutting ants**: biology and management. Boulder, Westview Press, 1986. p. 247-259.

FERNANDES, W. R. et al. Intoxicação em equino por *Ricinus communis*: relato de caso. **Revista Brasileira Saúde Produção Animal**, São Paulo, v.3, n.1, p. 26-31, 2002.

FERNANDES, J.B. et al. Extrações de óleos de sementes de citros e suas atividades sobre a formiga cortadeira *Atta sexdens* e seu fungo simbiote. **Química Nova**, São Paulo, v. 25, n.6, p.1091-1095, 2002.

FERRAZ, I. D. K.; CAMARGO, J. L.C.; SAMPAIO, P.T.B. Sementes e plântulas de andiroba (*Carapa guianensis* AUBL. e *Carapa procera* D. C.): aspectos botânicos, ecológicos e tecnológicos. **Acta Amazônica**, Manaus, v.32, n.4, p. 647-661, 2002.

FORTI, L.C., BOARETTO, M.Ap.C. **Formigas cortadeiras**: Biologia, ecologia, danos e controle. Botucatu: Universidade Estadual Paulista, 1997. 61p.

FORTI, L.C. et al. Metodologias para experimentos com iscas granuladas para formigas cortadeiras. In: DELLA-LUCIA, T.M.C. (Ed.). **As formigas cortadeiras**. Viçosa: Editora Folha de Viçosa, 1993. p.191 – 205.

FORNAZIERI Jr., A. **Mamona uma rica fonte de óleo e de divisas**. São Paulo: Ícone, 1986. 71p. (Coleção Brasil Agrícola).

FOWLER, H.G.; PERREIRA-DA-SILVA, V.; FORTI, L.C.; SAES, N.B. 1986. Population dynamics of leaf-cutting ants: a brief review. In: LOFGREN, C.S; VANDER MEER, R.K. (Ed.). **Fire ants and leaf-cutting ants**: biology and management. Boulder: São Francisco & Oxford Westview Press, 1986. p. 123 -145.

FOWLER, H.G. et al. Ecologia nutricional de formigas. In: PANIZZI, A.P.; PARRA, J.R.P. (Ed.). **Ecologia nutricional de insetos**. São Paulo: Manole. 1991. p. 131-223.

FUNDAÇÃO CPE. **Pólo oleoquímico do dendê**: uma proposta de desenvolvimento para o litoral Sul da Bahia. Salvador, 1993. 27 p.

GODFREY, C.R.A Fungicides and bactericides. In: C.R.A. GODFREY (Ed.). **Agrochemicals from natural products**. New York: Marcle Dekker, 1994. p. 311– 339.

GONÇALVES. C.R. O gergelim no combate à saúva. **Boletim Fitossanitário**, São Paulo, v.1, n.1-4, p.19- 27, 1944.

HEBLING–BERALDO, M.J.A. et al. Relação entre o consumo foliar e crescimento do fungo em formigueiros iniciais de *Atta sexdens rubropilosa* Forel, 1908 (Hymenoptera: Formicidae). **Revista Brasileira de Entomologia**, São Paulo, v. 29, p. 449-452, 1984.

HEBLING–BERALDO, M.J.A. et al. Influência do tratamento com folhas de *Sesamum indicum* sobre o metabolismo respiratório de *Atta sexdens rubropilosa* Forel, 1908 (Hymenoptera: Formicidae). **Anais da Sociedade Entomológica do Brasil**, Jaboticabal, v. 20, p. 27-33, 1991.

HEBLING, M.J.A. et al. Toxic effects of *Ricinus communis* (Euphorbiaceae) to laboratory nests of *Atta sexdens rubropilosa* (Hymenoptera: Formicidae) **Bulletin of Entomological Research**, Farnham Royal, v. 86, p. 253-256, 1996.

HEBLING, M.J.A. et al. Toxic effects of *Canavalia ensiformis* L. (Leguminosae) on laboratory colonies of *Atta sexdens* L. (Hym., Formicidae). **Journal Applied Entomology**, Berlin, 124: 33-35, 2000a.

HEBLING, M.J.A. et al. Effects of leaves of *Ipomoea batatas* (Convolvulaceae) on nest development and on respiratory metabolism of leaf-cutting ants *Atta sexdens* L. (Hym., Formicidae). **Journal Applied Entomology**, Berlin, 124: 249-252, 2000b.

HESLER, L.S.; PLAPP, F.W., Jr. Uses of oils in insect control. **The Southwestern Entomologist**, v.11, p.1-8, 1986.

HÖLLDOBLER B.; WILSON, E.O. **The ants**. Cambridge, Massachuset: Springer-Verlag, 1990. 732 p.

HOWARD, J. J. 1988. Leaf-cutting ant diet selection: relative influence of leaf chemistry and physical features. **Ecology**, Ariz ,69 (1), 250 – 260.

HOWARD, J.J.; CAZIN Jr., J., WIEMER, D.F. Toxicity of terpenoid deterrents to the leafcutting ant *Atta cephalotes* ant its mutualistic fungus. **Journal of Chemical Ecology**, New York, v.14, p. 59-68, 1988.

HILL, J.; SCHOONVEN, A.V. Effectiveness of vegetable oil fractions in controlling the Mexican bean weevil on stored beans. **Journal of Economic Entomology**, Lanhan, v.74, p.478 –479, 1981.

HUBBELL, S.P.; WIEMER, D.F. Host plant selection by an Attini ant. In: JAISSON, P. (Ed.) **Social insects in the tropical**. Paris: University of Paris Presse. 1983. v. 2, p.133 –134.

HUBBELL, S.P.; HOWARD, J.J.; WIEMER, D.F. Chemical leaf repellency to an attini ant: seasonal distribution among potential host plant species. **Ecology**, Ariz, v.65, n.4,

p.1067-1076, 1984.

ISMAN, M.B. Insecticidal and antifeedant bioactive of neem oils and their relationship to azadirachtin content. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Easton, v.38, p.1406-1411, 1990.

ISMAN, M.B. Plant essential oils for pest and disease management. **Crop Protection**, Guildford, v.19. p. 603 – 608, 2000.

IVBIJARO, M.F. The efficacy of seed oils of *Azadirachta indica* A. Juss and *Piper guinenses* Schum and thonn on the control of *Callosobruchus maculatus* F. **Insect Science and its Application**, Elmsford, v.11, n.2, p.149 –152, 1990.

JACOBSON, M. Botanical pesticides: Present, and future. In: ARNASON, J.T.; PHILOGENE, B.J.R.; MORAND, P. (Ed.) **Inseticides of plant origin**. Washington: ACS, 1989. p.1-9.

KITAMURA, A.E. et al. Determinação da toxicidade da ricina para operárias de *Atta sexdens* L. (Hymenoptera: Formicidae), em Laboratório. **Naturalia**. São Paulo, v. 24, n. especial, p.307-309, 1999.

LEITE, A.C. et al. Toxicity of *Cipadessa fruticosa* to the leaf-cutting ants *Atta sexdens rubropilosa* (Hymenoptera: Formicidae) and their symbiotic fungus. **Sociobiology**, California, v.46, n.1, p. 17-26, 2005.

LIMA, C. A. et al. Efeito das folhas de *Azadirachta indica* em colônias de *Acromyrmex subterraneus subterraneus* em Laboratório. **Naturalia**, São Paulo, v. 24, n. Especial. p. 319- 321, 1999.

LIMA, C.A.; PASTORE, G.M.; LIMA, E.D.P. A., Estudo da atividade antimicrobiana dos ácidos anacárdicos do óleo da casca da castanha de caju (cnsl) dos clones de cajueiro-anão-precoce ccp-76 e ccp-09 em cinco estágios de maturação sobre microrganismos da cavidade bucal. **Ciências Tecnologia e Alimento**, Campinas, v.20, n.3. p.1- 16, 2000.

LIMA, R.S.N. et al. Utilização Biotecnológica da resina do exsudado de cajueiro. **Anima**: Revista da Faculdade Integrada do Ceará, Ceará, v.1 n.2, p.9-16, 2001.

LITTLEDYKE, M.; CHERRET, J.M. Defense mechanisms in young and old leaves against cutting by the leaf-cutting ants *Atta cephalotes* (L.) and *Acromyrmex octospinosus* (Reich) (Hymenoptera: Formicidae). **Bulletin of Entomological Research**, Inglaterra, v.68, p.263 – 270, 1978.

LOECK, A. E.; GRÜTZMACHER, D. D.; STORCH, G. Distribuição geográfica de *Atta sexdens piriventris* Santschi, 1919, nas principais regiões agropecuárias do estado do rio grande do sul. **Revista Brasileira de Agrociência**, Pelotas, v.7 n.1, p.54-57, 2001.

LORENZI, H. **Árvores brasileiras**: manual de identificação e cultivo de plantas arbóreas do Brasil. 4. ed. Nova Odessa, S.P.: Instituto Plantarum, 2002. v.1, p.17.

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

MARTINEZ, S. S. **O nim - *Azadirachta indica***: natureza, usos múltiplo, produção. Paraná, Instituto Agrônômico do Paraná IAPAR, 2002. 142p.

MATSUMURA, F. **Toxicology of insecticides**. Plenum Press: New York, 1975, 503p.

MESQUITA, A.S. Do azeite de dendê de Ogum ao palm oil commodity: uma oportunidade que a Bahia não pode perder. **Bahia Agrícola**, Salvador, v.5, n°1, p. 22-27, 2002.

MENDONÇA, F.A.C. et al. Activities of some Brazilian plants against larvae of the mosquito *Aedes aegypti*. **Fitoterapia**, Nigéria, 76: 629– 636, 2005.

MONTEIRO, M.R. et al. Activity of extracts and fatty acids of *Canavalia ensiformis* (Leguminosae) against the symbiotic fungus of the leaf-cutting *Atta sexdens*. **Anais da Academia Nacional de Ciências**, v.70. n.4. p.733 – 736, 1998.

MOREIRA, A.A. **Arquitetura das colônias de *Atta laevigata* (F. Smith, 1858) (Hymenoptera: Formicidae) e distribuição de substratos nas câmaras de fungo.** 1996, 96p. Dissertação (Mestrado em Proteção de Plantas), FCA-Universidade Estadual Paulista, Botucatu, 1996.

MOREIRA, A.A. et al. Comparação entre parâmetros externos e internos de ninhos de *Atta bisphaerica* Forel (Hymenoptera: Formicidae). **Acta Scientiarum**, Maringá, v.24, n.2, p. 369-373, 2002.

MORINI, M.S.C. **Toxicidade de extratos orgânicos da semente do gergelim (*Sesamum indicum* DC.) sobre operárias de *Atta sexdens rubropilosa* Forel, 1908. (Hymenoptera: Formicidae).** 1995. 117f. Tese (Doutorado em Ciências Biológicas) – Instituto de Biociências, Universidade Estadual Paulista, Rio Claro, 1995.

MORINI, M.S.C. 1998. **Toxicidade de lipídeos para operárias de *Atta sexdens* L. (Hymenoptera: Formicidae).** Metabolismo respiratório de operárias sob a ação de ácidos graxos. Rio Claro: Universidade Estadual Paulista/ Instituto de Biociências/ Centro de Estudos de Insetos Sociais, 1998. Relatório Bolsa de recém-doutor (Processo nº 30 1034/95-8).

MORINI, M.S.C. et al. Efeitos tóxicos de ácidos graxos para operárias de *Atta sexdens* Forel (Hymenoptera: Formicidae). In: Anais do VI International Pest Ant Symposium & XIII Encontro de Mirmecologia. Ilhéus. **Anais...Ilhéus**, BA: Universidade Estadual de Santa Cruz, 1997. 1997. p.137.

MORINI, M.S.C. et al. 1999. Ação tóxica de ácidos graxos misturados a um triglicerídeo sobre operárias de *Atta sexdens* L. (Hymenoptera: Formicidae). **Naturalia**, São Paulo. v. 24, n. especial, p.327-330, 1999.

MORINI, M.S.C. et al. Toxicity of sesame seed to leaf-cutting ant *Atta sexdens rubropilosa* (Hymenoptera: Formicidae). **Sociobiology**, California, v.45, n.1, p.195-204, 2005.

MUELLER, U.G.; REHNER, S.A.; SCHULTZ, T.R. The evolution of agriculture in ants. **Science**. v.281, p.2034-2038, 1998.

MUELLER U.G. et al. The origin of the attine ant-fungus mutualism. **Quarterly Review of Biology**. New York, v.76, p. 169-197, 2001.

MUELLER, U.G. Ant versus fungus versus mutualism: Ant-cultivar conflict and the deconstruction of the attine ant-fungus symbiosis. **American Naturalist**, Chicago v. 160. p. 67-98, 2002.

MULLENAX, C.H. The use of jackbean (*Canavalia ensiformis*) as a biological control for leaf-cutting ants (*Atta* spp). **Biotropical**, Washington v.11, n.4, p.313 – 314, 1979

NAKAYAMA, L.H.I.; SOARES, M.K.M. APPEZZATO-DA-GLÓRIA<sup>2</sup> B. Contribuição ao estudo anatômico da folha e do caule do cacauzeiro (*Theobroma cacao* L.). **Science Agriculture**, Piracicaba, v.53, n.1, p.73-79, 1996.

NAKANO, O; SILVEIRA NETO, S.; ZUCCHI, R.A. **Entomologia econômica**. Piracicaba: FEALQ, 1981.

NORTH, R.D.; JACKSON, C.W.; HOWSE, P.E. Evolutionary aspects of ant-fungus interactions in leaf-cutting ants. **Tree**, Canberra, v. 12, n.10, p.386 – 389, 1997.

NORTH, R.D.; JACKSON, C.W. HOWSE, P.E. Communication between the fungus garden and workers of the leaf-cutting ant, *Atta sexdens rubropilosa*, regarding choice of substrate for the fungus. **Physiological Entomology**. Oxford, v.24, p.127 – 133, 1999.

NIBER, B.T.; HELENIUS, J.; VERRIS, A.L. Toxicity of plant extracts to three storage beetle (Coleoptera). **Journal of Applied Entomology**, Berlin, v.113, n.2, p.202 –208, 1992.

OBENG-OFORI, D. Plant oils as grain protectants against infestations of *Cryptolestes pusilus* and *Rhyzopertha dominica* in stored grain. **Entomologia experimentalis et applicata**, v.77, p. 133 – 139, 1995.

OLIVEIRA, M.A.; DELLA LUCIA, T.M.C.; ANJOS, N. Ocorrência e densidade de ninhos de formigas cortadeiras em plantios de eucalipto no sul da Bahia. **Revista Brasileira de Entomologia**, Dordrecht, Holanda, v.2, n.1/2, p.17 – 21, 1998.

PAGNOCCA, F.C. et al. Toxicity of sesame extracts to the symbiotic of leaf-cutting ants. **Bulletin Entomology Research**, Farnham Royal, v. 80, p. 349-352, 1990.

PAGNOCCA, F.C. Toxicity of lignans to symbiotic fungus of leaf-cutting ants. **Journal of Chemical Ecology**, New York, v.22, p.1325-30, 1996.

PERES, J.R.R.; FREITAS JUNIOR, E.; GAZZONI, D.L. 2005. **Biocombustíveis**: uma oportunidade para o agronegócio brasileiro. n 1 - 2005.

PERES FILHO, O.; DORVAL, A. Efeito de formulações granuladas de diferentes produtos químicos e aa base de folhas e de sementes de gergelim, *Sesamum indicum*, no controle de formigueiros de *Atta sexdens rubropilosa* Forel, 1908 (Hymenoptera: Formicidae). **Ciência Florestal**, v.13, n.2, p 67-70, 2003.

PERREIRA, R.C.; DELLA LUCIA, T.M.C.; MAYHÉ-NUNES, A.J. Levantamento de Attini (Hymenoptera: Formicidae) em povoamentos de *Eucalyptus grandis* W Hill ex Maiden em Minas Gerais. **Revista Árvore**, Viçosa, v.23, n.3, p.341 – 349, 1999.

PINTO, P.G. **Características Físico-Químicas e Outras Informações Sobre as Principais Oleaginosas do Brasil**. Recife: Ministério da Agricultura, 18p,1963. (Boletim Técnico).

PRACETTI, A. C.M. et al. **Perdas de produção em cana-de-açúcar, causadas pela saúva-mata-pasto, *Atta bisphaerica***. Parte I. São Paulo, v.42/88, p.25-30, 1998. (Boletim Técnico Copersucar).

PRATES, H.T.; VIANA, P.A.; WAQUIL, J.M. Atividade de extrato aquoso de folhas de nim (*Azadiractha indica*) sobre *Spodoptera frugiperda*. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v.38, n.3, p. 437-439, 2003.

PRETTO, D.R. **Arquitetura dos túneis de forrageamento e do ninho de *Atta sexdens rubropilosa* Forel, 1908 (Hymenoptera - Formicidae), dispersão de substrato e dinâmica do inseto na colônia.** 1996. 110p. Dissertação (Mestrado em Proteção de Plantas) - Faculdade de Ciências Agrônômicas, Universidade Estadual Paulista, Botucatu, 1996.

PURDUE UNIVERSITY - CENTER FOR NEW CROPS & PLANT PRODUCTS. <[www.hort.purdue.edu/.../lecture\\_24/lec\\_24.html](http://www.hort.purdue.edu/.../lecture_24/lec_24.html)>. 2006. Acesso em: 10 de jan. 2006.

QUINLAN, R.J.; CHERRETT, J.M. The role of fungus in the diet of the leaf-cutting ant *Atta cephalotes* (L.). **Ecological Entomology**, London, v. 4, p.151-169, 1979.

RAMOS, L.S. et al. Impacto das capinas mecânica e química do sub-bosque de *Eucalyptus grandis* sobre a comunidade de formigas (Hymenoptera: Formicidae). **Revista Árvore**. Viçosa, v.28, n.1, p. 139 – 146, 2003.

RIBEIRO, S.B. et al. 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.

RIBEIRO, J.L.; RIBEIRO. H.A.M. **Desempenho produtivo de oito clones de cajueiro-anão precoce cultivados sob regime de sequeiro no cerrado sul maranhense.** EMBRAPA. n.153. 2003. (Comunicado Técnico)

REMBOLD, H. The Azadirachtins – potent insect growth inhibitors. **International Symposium on Insect**, v.82, p.61-66, 1987.

ROEL, A.R. Utilização de plantas com propriedades inseticidas: uma contribuição para o desenvolvimento rural sustentável. **Revista internacional de desenvolvimento local**, v.1, n.2, p.43 – 50, 2001.

RODRIGUES, R.F.O.; OLIVEIRA, F.; FONSECA, A.M. As folhas de Palma Christi – *Ricinus communis* L. Euphorbiaceae Jussieu: Revisão de conhecimentos. **Revista Lecta**, Bragança Paulista, v. 20, n. 2, p. 183-194, 2002.

SALLAS, J.; HERNÁNDEZ, G. Protección de semillas de quinchoncho (*Cajanus cajan*) contra el ataque de *Acanthoscelides obtectus* y *Callosobruchus maculatus* a través del uso de aceites vegetales. **Agronomía Tropical**, Maracay, v.35, n.4-6, p.19-27, 1985.

SANTOS-OLIVEIRA, M.F.S. et al. Toxicity of *Azadirachta indica* to Leaf-cutting Ant *Atta sexdens rubropilosa* (Hymenoptera: Formicidae). **Sociobiology**, Califórnia, v.47, n.2, p. 1-9, 2006.

SALLES, L. A.; RECH, N.L. Efeito de extratos de nim (*Azadirachta indica*) e Cinamomo (*Melia azedaach*) sobre *Anastrepha fraterculus* (WIED.) (Diptera: Tephritidae). **Revista Brasileira de Agrociências**, Pelotas, v.5, n.3, p.225 – 227, 1999.

SAVY FILHO, A. Mamoneira: técnicas de cultivo. **O Agrônomo**, Campinas, v.53, n. 1, p., 2001. (Circular Técnico).

SAXENA, R.C. Insecticides from nim. In: ARNASON, J.T.; PHILOGENE, B.J.R.; MORAND, P. (Ed.) **Insecticides of plant origin**. Washington: ACS, 1989. p.110-129.

SCHMUTTERER, H. Potential of Azadirachtin-containing pesticides for integrated pest control in developing and industrialized countries. **Journal Insect Physiology**, v.34, p. 713-719, 1988.

SCHMUTTERER, H. Properties and potential of natural pesticides from the neem tree, *Azadirachta indica*. **Annual Review of Entomology**, Palo Alto, v. 35, p. 271-297, 1990.

SCHMUTTERER, H. **The neem tree: *Azadirachta indica*** A. Juss and other Meliaceous plants. 2nd ed. Mumbai: Neem fundation, 2002. 893p.

SCHULTZ, T. R. Ants, plants and antibiotics. **Nature**, London, v.398, n° 29, p.747-748, 1999.

SCHULTZ, T.R et al. Reciprocal illumination: A comparison of agriculture of humans and in fungus-growing ants. In: VEGA, F.; BLACKWELL, M. (Ed). **Insect-Fungal Association: Ecology and Evolution**. New York: Oxford University Press, 2005. p.149-190.

SILVA, J.M.M. et al. Germinação e crescimento de mudas de andiroba (*Carapa* sp) em função do tamanho da semente e tempo de imersão em água. **Revista Ciência Agronômica**, v.35, n.2, p. 366 – 370, 2004.

SUPERINTENDÊNCIA DA ZONA FRANCA DE MANAUS – SUFRAMA. **Projeto potencialidades regionais - estudo de viabilidade econômica do dendê**. 2003a. Disponível em: <[http://www.suframa.gov.br/publicacoes/proj\\_pot\\_regionais/sumario/dende.pdf](http://www.suframa.gov.br/publicacoes/proj_pot_regionais/sumario/dende.pdf)>. Acesso em: 10 de jan. 2006.

SUPERINTENDÊNCIA DA ZONA FRANCA DE MANAUS – SUFRAMA. **Projeto potencialidades regionais - estudo de viabilidade econômica do cacau**. 2003b. Disponível em: <[http://www.suframa.gov.br/publicacoes/proj\\_pot\\_regionais/sumario/dende.pdf](http://www.suframa.gov.br/publicacoes/proj_pot_regionais/sumario/dende.pdf)>. Acesso em: 10 de jan. 2006.

STRADLING, D.J.; POWELL, R.J. Fungiculture and the choice of substrates by attini ants. In: BILLEN, J. (Ed). **Biology and evolution of social insects**, Belgium: Leuven University Press, 1992. p. 133 –143.

STEVENSON, J.H. Laboratory studies on the aceite contact and oral toxicities of insecticides to honeybees. **Annals of Applied Biology**, v.61, p.467-472,1968

TAKAHASHI-DEL-BIANCO, M. **Toxicidade de extratos orgânicos foliares de *Canavalia ensiformis* L. e de alguns princípios ativos de inseticidas comerciais para operárias de *Atta sexdens* L., 1758 (Hymenoptera: Formicidae), isoladas do formicidae**. 2002. 174f. Tese (Doutorado em Ciências Biológicas) – Instituto de Biociências, Universidade Estadual Paulista, Rio Claro, 2002.

TAVERNER P.D. et al. Evidence for direct neural toxicity of a “light” oil on the peripheral nerves of Lightbrown Apple Moth. **Pesticide Biochemistry and Physiology**. San Diego, v.69, p.153-165, 2001

TOLEDO, L. F.; ZINA, J.; HADDAD, C. F. B. Distribuição Espacial e Temporal de uma Comunidade de Anfíbios Anuros do Município de Rio Claro, São Paulo, Brasil. **Holos Environment**, Rio Claro, v.3, n.2, p. 136-149, 2003.

TRINIDADE, R.C.P. et al. Extrato metanólico da amêndoa da semente de nim e a mortalidade de ovos e lagartas da traça-do-tomateiro. **Scientia Agrícola**, Piracicaba, v. 57, p.407-413, 2000.

UCHOU, G.; HESLER, L.; PLAPP Jr., F.W. Plant and mineral oils: effects as insecticide additives and direct toxicity to tobacco budworm – larvae and house fly adults. **The Southwestern Entomologist**, n.11, p.63-69, 1986.

VENDRAMIM, J. D. Plantas inseticidas e controle de pragas. **Informativo da Sociedade Entomológica do Brasil**, Jaboticabal, v.25, n.2, p.1, 2000.

VIANA, P.A.; PRATES,H.T. Desenvolvimento e mortalidade larval de *Spodoptera frugiperda* em folhas de milho tratadas com extrato aquoso de folhas de *Azadirachta indica*. **Bragantia**, Campinas, v.62, n.1, p. 69-74, 2003.

VIEGAS Jr., C.V. Terpenos com atividade inseticida: uma alternativa para o controle químico de insetos. **Química Nova**, São Paulo,v.26. n.3. p.390 – 400, 2003.

VILELA, E.F. Status of leaf-cutting ant control in forest plantations in Brazil. In: LOFGREN, C.S; VANDER MEER, R.K. (Ed.). **Fire ants and leaf-cutting ants: biology and management**. Boulder, Westview Press, 1986. p. 399-408.

VITOR, S.G. **Efeito de extratos vegetais de espécies de Rutaceae, Pricramniaceae, Meliaceae e Covulaceae e de produtos sintéticos sobre o fungo simbiote de *Atta sexdens* L.** 2001. 169f. Tese (Doutorado em Ciências Biológicas) – Instituto de Biociências, Universidade Estadual Paulista, Rio Claro, 2001.

WEATHERSBEE, A. A.; TANG, Y. Q. Effect of neem seed extract on feeding, growth, survival, and reproduction of *Diaprepes abbreviatus* (Coleoptera: Curculionidae). **Jornal of Economic Entomology**, Lanham, v. 95 n.4, p.661 – 667, 2002.

WEBER, N. A. Gardening ants: the attines. **The American Philosophical Society**, Philadelphia, v. 92, p. 1-146, 1972.

WETTERER, J.K.; SCHUTZ, T.R ; MEIER, R. Phylogeny of fungus-growing ants (Tribe Attini) based on mtDNA sequence and morphology. **Molecular Phylogenetics and Evolution**, Orlando, v.9, n.1. p.42-47, 1998.

WILSON, E.O. Caste and division of labor in Leaf-cutter ants (Hymenoptera: Formicidae: *Atta*). **Behavioral Ecology and Sociobiology**, New York, v.7, p.143-156, 1980.

ZANETTI, R. Et al. Level of economic damage for leaf-cutting ants (Hymenoptera: Formicidae) in *Eucalyptus* Plantations in Brazil. **Sociobiology**, Califórnia, v.42, n.2, p. 433– 442, 2003.