

TAINARA DA SILVA CARVALHO

Efeitos do óleo essencial de *Croton grewoides* na sobrevivência e no comportamento em operárias de *Atta sexdens*

São Cristóvão – SE

Abril – 2025



UNIVERSIDADE FEDERAL DE SERGIPE – UFS
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS APLICADAS – CCAA
DEPARTAMENTO DE ENGENHARIA AGRONÔMICA – DEA

**EFEITOS DO ÓLEO ESSENCIAL DE *Croton grewii* NA SOBREVIVÊNCIA E NO
COMPORTAMENTO EM OPERÁRIAS DE *Atta sexdens***

**Monografia apresentada ao Departamento de
Engenharia Agrônoma – Universidade
Federal de Sergipe, como requisito parcial
para obtenção do título de Engenheira
Agrônoma.**

APROVADO em: 04/04/2025

ORIENTADO:

Prof. Dr. Leandro Bacci

(Orientador)

Prof. Dra. Virginia E. Masiulionis

(Banca examinadora)

Dra. Jaciele O. Dantas

(Banca examinadora)

Aos meus pais e avós maternos

Dedico

AGRADECIMENTOS

A Deus, pela força e coragem para concluir esse ciclo.

"Entrega o teu caminho ao Senhor, confia Nele, e Ele tudo fará".

À toda minha família, por todo carinho e apoio, especialmente ao meu primo Roniere por todo o incentivo nos estudos.

Aos meus pais e minha irmã pelo amor, cuidado, dedicação, apoio, por nunca medirem esforços para tornar meus sonhos realidade e entenderem as minhas ausências.

Agradeço meu namorado Gustavo, por todo amor, por acreditar em mim e trazer leveza para minha trajetória. Obrigada por me fazer feliz todos os dias.

Aos meus amigos/irmãos Mariana, Gabriela e Matheus por todo apoio, companheirismo e incentivo para alcançar meus objetivos.

Ao meu orientador Dr. Leandro Bacci pela orientação, por todos os ensinamentos passados e pelo exemplo de profissional. A minha coorientadora Heloísa Safira, por todo cuidado, zelo e paciência. Sua colaboração foi imprescindível em todas as etapas do trabalho e da minha formação acadêmica.

À banca examinadora, pela colaboração imprescindível.

Aos professores Aline Vasconcelos, Pedro Viegas, Maria Aparecida e Jailson Lara Fagundes, por todos os ensinamentos passados e pelo exemplo de profissionais.

A todos do Laboratório de Entomologia Agrícola (UFS), por todo auxílio durante esses anos. Muito obrigada Swamy, Heloísa, Valfran, Jeovana, Sandy, Mikaele, Jamile, Aline Marques.

Aos meus amigos Camilla e Lucas, pelo companheirismo e amizade durante todos os cinco anos da graduação. E aos amigos que fiz ao longo do curso: Ari, Thomaz, Rômulo, Ellen, Isabela, Guiomar e Diego. Muito Obrigada a todos!

À Universidade Federal de Sergipe (UFS), ao Conselho Nacional de Pesquisa (CNPq) e a Coordenação de pesquisa (COPES) pelos auxílios financeiros.

SUMÁRIO

LISTA DE FIGURA	i
LISTA DE TABELA.....	iii
RESUMO.....	iv
1. Introdução.....	1
2. Revisão Bibliográfica	2
2.1. Características gerais das formigas cortadeiras	2
2.2. Bioecologia das formigas cortadeiras.....	3
2.3. Importância econômica.....	5
2.4. Estratégias de controle.....	5
2.4.1. Controle Químico	6
2.4.1.1. Sulfluramida e fipronil.....	7
2.4.1.2. Derrogação.....	10
2.4.2. Controle biológico	10
2.4.3. Controle comportamental	11
2.4.4. Controle mecânico e físico	11
2.4.5. Controles alternativos de insetos praga	12
2.5. Potencial inseticida dos Óleos essenciais	12
2.5.1. Óleos essenciais de <i>Croton grewoides</i>	12
3. Material e métodos	14
3.1. Obtenção do óleo essencial e seu composto majoritário	14
3.2. Obtenção dos insetos	14
3.3. Bioensaios.....	14
3.3.1. Dose Letal.....	15
3.3.2. Curvas de sobrevivência.....	15
3.3.3. Comportamento individual e coletivo	16
3.3.4. Caminhamento individual.....	18

3.3.5.	Irritabilidade	19
3.3.6.	Transferência Horizontal	19
4.	Análises estatísticas	20
5.	Resultados e discussão.....	20
6.	Conclusão	32
7.	Referências	33

LISTA DE FIGURA

Figura 1: Curvas de sobrevivência e tempos letais (TL ₅₀) das operárias de <i>Atta sexdens</i> expostas a DL ₉₀ do óleo essencial de <i>Croton grewioides</i> (CGR 107) (a), seu composto majoritário eugenol (c) e a deltametrina (b). TL ₅₀ = tempo letal necessário para matar 50% da população. As curvas de sobrevivência foram comparadas pelo método de Holm-Sidak com nível de significância de 0,05.....	21
Figura 2: Comportamento de autolimpeza de <i>Atta sexdens</i> expostas por contato a DL ₃₀ dos compostos. Os círculos representam os percentis 5 e 95, as linhas de erro os percentis 10 e 90 e as bordas da caixa os percentis 25 e 75. As medianas (linhas pretas dentro dos boxplots) seguidas de um asterisco diferem do controle pelo teste de Dunn em $p < 0,05$	22
Figura 3: Comportamento coletivo de antenação em operárias de <i>Atta sexdens</i> expostas por contato a DL ₃₀ dos compostos. Os círculos representam os percentis 5 e 95, as linhas de erro os percentis 10 e 90 e as bordas da caixa os percentis 25 e 75. As medianas (linhas pretas dentro dos boxplots) seguidas de um asterisco diferem do controle pelo teste de Dunn em $p < 0,05$	23
Figura 4: Comportamento coletivo de evitação em operárias de <i>Atta sexdens</i> expostas por contato a DL ₃₀ dos compostos. Os círculos representam os percentis 5 e 95, as linhas de erro os percentis 10 e 90 e as bordas da caixa os percentis 25 e 75. As medianas (linhas pretas dentro dos boxplots) seguidas de um asterisco diferem do controle pelo teste de Dunn em $p < 0,05$	24
Figura 5: Comportamento coletivo de atração em operárias de <i>Atta sexdens</i> expostas por contato a DL ₃₀ dos compostos. Os círculos representam os percentis 5 e 95, as linhas de erro os percentis 10 e 90 e as bordas da caixa os percentis 25 e 75. As medianas (linhas pretas dentro dos boxplots) seguidas de um asterisco diferem do controle pelo teste de Dunn em $p < 0,05$	25
Figura 6: Comportamento de caminhada individual das operárias <i>Atta sexdens</i> expostas a DL ₃₀ do óleo essencial de <i>Croton grewioides</i> (CGR 107), seu composto majoritário eugenol e a deltametrina. Os círculos representam os percentis 5 e 95, as linhas de erro os percentis 10 e 90 e as bordas da caixa os percentis 25 e 75. As medianas (linhas pretas dentro dos boxplots) seguidas de um asterisco diferem do controle pelo teste de Dunn em $p < 0,05$	26
Figura 7: Mapas das trilhas de caminhada individual de <i>Atta sexdens</i> expostas por 600s a DL ₃₀ do óleo essencial de <i>Croton grewioides</i> (CGR 107) (B), seu composto majoritário eugenol (C) e a deltametrina (D).....	26
Figura 8: Tempo médio de permanência das operárias de <i>Atta sexdens</i> em cada lado da arena parcialmente tratadas com a concentração de 0,1% do óleo essencial	

de *Croton grewoides* (CGR 107), seu composto majoritário eugenol e a deltametrina. Histogramas seguidos por asterisco indicam que houve diferença no tempo de permanência das operárias entre o lado tratado e o não tratado por um período de 600s, pelo teste de Dunn ($p < 0,05$)..... 27

Figura 9: Curvas de sobrevivência e tempos letais (TL_{50}) de *Atta sexdens* expostas a cadáveres das operárias expostas DL_{90} do óleo essencial de *Croton grewoides* (CGR 107), seu composto majoritário eugenol e a deltametrina, em duas proporções [1:20] e [1:5], um cadáver para 20 operárias vivas e cinco cadáveres para 20 operárias vivas, respectivamente. As curvas de sobrevivência foram feitas pelo método de Holm-Sidak com nível de significância de 0,05..... 29

LISTA DE TABELA

Tabela 1: Ingredientes, ação e estrutura molecular da sulfluramida e do fipronil.....	9
Tabela 2: Definição dos comportamentos das operárias de <i>Atta sexdens</i>	15,16
Tabela 3: Toxicidade por aplicação tópica do óleo essencial de <i>Croton grewoides</i> e seu composto majoritário sobre operárias de <i>Atta sexdens</i> após 72h.....	19

RESUMO

O grupo das formigas cortadeiras é um dos grupos mais estudados devido aos impactos na agricultura e ecossistemas naturais, pelo seu hábito de cortar folhas frescas que servem de substrato para seu fungo simbiote, *Leucoagaricus gongylophorus*. Atualmente, o controle químico é o mais utilizado e eficaz, no entanto, por ser nocivo ao meio ambiente sofre restrições de uso. Dessa forma, o uso de óleos essenciais com propriedades bioativas estão se tornando alternativas promissoras no controle de pragas. Nesse contexto, o presente trabalho teve como objetivo avaliar os efeitos do óleo essencial de *Croton grewoides* e seu composto majoritário eugenol sobre a sobrevivência e o comportamento das operárias de *Atta sexdens*. Foram realizados bioensaios para determinar a toxicidade dos compostos, o tempo letal, bioensaios comportamentais de autolimpeza, antenação, evitação e atração, bioensaio de caminamento individual e de transferência horizontal de compostos avaliada através da exposição de operárias vivas a cadáveres de indivíduos expostos a DL₉₀ dos tratamentos. O óleo essencial de *C. grewoides* e seu composto majoritário eugenol apresentaram toxicidade significativa contra operárias de *A. sexdens*. O eugenol foi o composto mais tóxico, necessitando de uma dose menor para causar mortalidade em 50% da população. Além disso, os compostos alteraram significativamente os comportamentos de evitação e atração, interferindo nas interações das operárias. A transferência horizontal apresentou redução da sobrevivência de operárias não tratadas expostas a cadáveres contaminados, principalmente na proporção 1:5 dos compostos deltametrina e eugenol, indicando a dispersão dos compostos através das interações sociais. Esses resultados demonstram o potencial dos compostos botânicos como alternativas viáveis no controle das FCs, com a vantagem de causarem menos impactos ambientais do que os inseticidas sintéticos tradicionais.

PALAVRAS-CHAVE: Formigas cortadeiras; interações sociais; eugenol; bioinseticidas; toxicidade, Attini

1. Introdução

O grupo das formigas cortadeiras (FCs) é um dos grupos de insetos mais estudados devido ao seu impacto ecológico, tanto em ecossistemas naturais quanto na agricultura (Vasconcelos e Cherrett, 1997; Della Lucia *et al.*, 2014; Zanetti *et al.*, 2014). Esses indivíduos são dos gêneros *Atta*, *Acromyrmex* e *Amoimyrmex*, pertencentes à ordem Hymenoptera (Formicidae: Tribo Attini) e classificados como insetos eussociais (Weber, 1972; Cristiano *et al.*, 2020; Hölldobler e Wilson, 1990). Segundo Wilson (1971) os insetos eussociais são aqueles que vivem em colônias complexas, onde há uma divisão de trabalho e cooperação entre os indivíduos. As três características principais dos insetos eussociais são: (i) cooperação reprodutiva, apenas um pequeno número de indivíduos, geralmente a rainha, se reproduz, enquanto as operárias realizam outras funções; (ii) divisão de trabalho, cada indivíduo tem um papel especializado, como coletar alimento, cuidar da prole ou defender a colônia; e (iii) sobreposição de gerações, várias gerações convivem e trabalham juntas na mesma colônia. Apesar de possuírem ampla distribuição geográfica, as FCs ocorrem exclusivamente nas Américas (Farji-Brener e Ruggieiro, 1994; Nickele *et al.*, 2013).

As FCs se sobressaem dentre as outras espécies devido ao seu hábito de cortar folhas frescas, que são usadas como substrato para o cultivo de um fungo simbiote, *Leucoagaricus gongylophorus* (Basidiomycota: Agaricaceae), que é a principal fonte de alimento da colônia (Della Lucia e Fowler, 1993; Mueller, Rehner e Schultz, 1998; Della Lucia, 2011; Schultz *et al.*, 2024). A organização social das colônias de *Atta* spp. é considerada uma das mais complexas dentre os insetos eussociais; o sistema de castas é bem definido com a divisão de tarefas entre castas de operárias, soldados, forrageadoras, jardineiras e a rainha (Fowler *et al.*, 1989; Wilson, 1971). Além da organização social, a organização estrutural da colônia é também altamente desenvolvida, onde existem câmaras específicas para cultivo do fungo, criação da prole e armazenamento de resíduos (Moreira *et al.*, 2004).

O aumento do desmatamento e da implantação de monoculturas causa um desequilíbrio ecológico que favorece o crescimento das FCs, gerando um grande impacto econômico na agricultura, especialmente em plantações florestais como de *Eucalyptus* e *Pinus* assim como em pastagens (Britto *et al.*, 2016; Della Lucia e Fowler, 1993; Wilson e Hölldobler, 2005). Uma vez que as FCs desfolham ao longo do ano inteiro em todas as fases de desenvolvimento das plantas (Marsaro Júnior *et al.*, 2007), os danos causados, além de limitar a produtividade das culturas, deixam as plantas suscetíveis a doenças e ao ataque de outros insetos (Reis Filho, Nickele e Strapasson, 2011; Zanuncio *et al.*, 1996). A organização social e estrutural, associada

ao desequilíbrio ecológico e à alta capacidade de identificar e isolar substâncias tóxicas, torna o controle das FCs um desafio (Oliveira *et al.*, 2011).

O controle químico, apesar de ser eficaz, enfrenta restrições devido à toxicidade e alta persistência no ambiente, como a sulfluramida e o fipronil, que, embora sejam eficientes no controle das FCs, passam pelo processo de derrogação devido aos impactos causados no ambiente (Lemes *et al.*, 2017; Zanuncio *et al.*, 2016). Controles alternativos como biológicos, usando inimigos naturais, e o controle comportamental, usando feromônios, têm sido estudados, mas ainda não são eficazes quanto o controle químico (Araújo, Della Lucia e Souza, 2003; Britto *et al.*, 2016; Reis Filho, Nickle e Strapasson, 2011). Como consequência do que foi exposto tem se estimulado a busca por controles alternativos e menos nocivos ao meio ambiente, como o uso de óleos essenciais (OEs).

Nesse contexto, os OEs surgem como uma alternativa promissora no controle das FCs, devido às suas propriedades inseticidas e menor impacto ambiental (Isman, 2020; Pavela e Benelli, 2016). Estudos têm demonstrado a eficácia dos OEs de diversas plantas, como *Cymbopogon citratus* (Poaceae) (Pinheiro *et al.*, 2024) e compostos majoritários de *Lippia gracilis* (Verbenaceae) (Dantas *et al.*, 2023a) no controle de operárias das FCs. O OE de *Croton grewoides* (Euphorbiaceae), em particular, tem demonstrado potencial inseticida, com compostos majoritários como eugenol, metil eugenol e metil chavicol, apresentando atividade contra diferentes pragas como *Chrysodeixis includens* (Noctuidae) (Santos *et al.*, 2022), *Nasutitermes corniger* (Termitidae) (Menezes, 2023) e *Zabrotes subfaciatus* (Chrisomelidae) (Silva *et al.*, 2008). Esses compostos, por serem menos nocivos ao meio ambiente, podem ser uma alternativa sustentável para o manejo das FCs na agricultura. Diante disso, o presente estudo teve como objetivo avaliar os efeitos do óleo essencial de *Croton grewoides* e seu composto majoritário, eugenol, na sobrevivência e no comportamento de operárias de *Atta sexdens*.

2. Revisão Bibliográfica

2.1. Características gerais das formigas cortadeiras

As FCs são um dos grupos de insetos mais estudados devido ao seu impacto ecológico, adiando o processo de restauração florestal (Vasconcelos e Cherrett, 1997) e econômico, causando perdas significativas na produtividade (Della Lucia *et al.*, 2014; Zanetti *et al.*, 2014). São insetos do gênero *Atta*, *Acromyrmex* e *Amoimyrmex* pertencentes à ordem Hymenoptera (Formicidae: Attini) (Cristiano, Cardoso *et al.*, 2020; Hölldobler e Wilson, 1990). Esses insetos

possuem ampla distribuição geográfica e as espécies dessa tribo ocorrem exclusivamente nas Américas (Farji-Brener e Ruggeiro, 1994; Nickele *et al.*, 2013). As FCs caracterizam-se pelo hábito de cortar folhas frescas das plantas as quais usam como substrato de desenvolvimento para o fungo simbiote, que serve de alimento para colônia (Borba *et al.*, 2006; Mueller, Rehner e Schultz, 1998; Silva *et al.*, 2003).

No Brasil, são conhecidas vulgarmente como “saúvas”, *Atta* spp., e “quenquéns”, *Acromyrmex* spp. Os indivíduos que pertencem ao gênero *Atta* se diferenciam morfológicamente das formigas do gênero *Acromyrmex*, por apresentarem um tamanho maior e possuírem três pares de espinhos no dorso, enquanto a *Acromyrmex* apresenta quatro pares de espinhos (Hölldobler e Wilson, 1990; Della Lucia *et al.*, 2011). O gênero *Amoimyrmex*, especificamente, se diferencia das demais devido a combinação das características: presença de estrias irregulares na cabeça, tergo liso e a presença de 3 a 4 pares de espinhos no dorso (Cristiano *et al.*, 2020).

Outra característica importante é que as operárias são capazes de identificar substâncias que podem ser tóxicas para o fungo simbiote além de eliminar e isolar vegetais que possam apresentar o risco de contaminação (Kermarrec *et al.*, 1986; Oliveira *et al.*, 2011).

2.2. Bioecologia das formigas cortadeiras

A organização social das colônias de *Atta* spp. é uma das mais complexas e bem-sucedidas entre os insetos eussociais (Wilson, 1980). Ela está diretamente relacionada ao polimorfismo das operárias, especialmente no gênero *Atta*, o que permite a divisão de tarefas na colônia, conhecida como castas, nas quais os indivíduos são agrupados de acordo com suas características morfológicas (Wilson, 1971).

Nesse sistema de castas, existem castas temporárias e permanentes. As castas temporárias são formadas por fêmeas e machos alados que, durante período de reprodutivo, realizam o voo nupcial e posteriormente estabelecem uma nova colônia. Os machos não contribuem significativamente para a expansão da colônia, sua função é apenas disputar por acasalamentos no período de reprodução (Keller, 1995; Nickele *et al.*, 2013).

Na casta permanente, as operárias fêmeas se dividem em castas de trabalho e de reprodução (Kermarrec, Decharme e Febvay, 2019; Oliveira *et al.*, 2011). As operárias soldado defendem a colônia, as forrageadoras cortam e transportam vegetais, e as jardineiras cuidam do jardim de fungo e da prole. Na casta de reprodução, a rainha se encarrega da ovoposição (Della Lucia *et al.*, 2011). Os indivíduos da casta de trabalho são morfológicamente diferentes dos da casta de reprodução, apresentando tamanho reduzido e a ausência de órgãos reprodutivos, o que

os torna inférteis (Della Lucia *et al.*, 2011; Hölldobler e Wilson, 1990; Keller, 1995; Tribble e Kronauer, 2017; Wilson, 1971).

O período de reprodução, chamado de voo nupcial ou revoada, ocorre em colônias com 38 meses de idade no início do período chuvoso (Reis Filho, Nickele e Strapasson, 2011). Durante o voo, elas são inseminadas pelos machos alados onde cada fêmea de *A. sexdens* pode ser fecundada por até cinco machos (Fjerdingstad e Boomsma, 2000). Antes da saída para a revoada, cada rainha coleta na cavidade infrabucal um pequeno *pellet* do fungo da sua colônia natal. A fundação de uma nova colônia ocorre logo após o voo nupcial, quando fecundadas as rainhas percorrem a superfície do solo, cortam suas próprias asas e dão início a escavação da nova colônia (Hölldobler e Wilson, 1990; Wilson, 1971). Ao fim da escavação, a rainha expõe o fungo que estava armazenado e faz a sua primeira ovoposição, que é composta por ovos reprodutivos e ovos tróficos (Hölldobler e Wilson, 2011).

Enquanto os ovos reprodutivos estão em desenvolvimento a rainha utiliza os ovos tróficos tanto para sua alimentação, quanto para o cultivo do fungo, até que a prole das operárias se desenvolva completamente (Augustin, Santos e Elliot, 2011; Fang e Mueller, 2019). No total, o período de ovoposição até a fase adulta, dura cerca de 60 dias, já o período de ovoposição ocorre 5 dias após a escavação da colônia pela rainha, durando também 5 dias, o período de incubação dura cerca de 25 dias, o larval 14 dias e o pupal 10 dias (Della Lucia e Araújo, 1993). Os primeiros indivíduos não saem para forragear imediatamente, eles permanecem dentro da colônia durante 20 dias, e somente após isso começam a forragear em áreas próximas a colônia (Nickele *et al.*, 2013; Ribeiro e Woessner, 1982).

As colônias de *Atta* spp. são as que apresentam uma maior complexidade estrutural entre as espécies da tribo Attini, cada colônia de *Atta* spp. pode conter até 8 milhões de indivíduos (Fowler *et al.*, 1989; Moser, 2006). Nos ninhos existem câmaras específicas para o cultivo do fungo, para criação da prole e para o armazenamento dos resíduos (Moreira *et al.*, 2004). Todas as câmaras e galerias são interligadas por túneis, os quais facilitam a circulação das operárias e a ventilação interna, ajudando a regular a temperatura e a umidade do ninho (Moser, 2006; Forti *et al.*, 2011; Schowalter e Ring, 2017). Além disso, esses túneis influenciam diretamente a estrutura do solo, pois, em áreas com essas galerias, há um aumento na porosidade do solo e na concentração de nutrientes, especialmente nas proximidades das câmaras de resíduos, o que favorece a aeração e a ciclagem de nutrientes (Moutinho, Nepstad e Davidson, 2003; Sternberg *et al.*, 2007).

2.3. Importância econômica

Em ambientes modificados pelo homem, como lavouras e florestas cultivadas, as FCs se tornam pragas de grande importância em diversos cultivos. A desfolha causada por essas formigas, além de comprometer a produtividade, pode, dependendo da intensidade, levar à morte de mudas e plantas adultas (Boaretto e Forti, 1997; Della Lucia e Souza, 2011; Semeão *et al.*, 2006).

Devido ao desequilíbrio ecológico causado pelo desmatamento e pela implantação de monoculturas, as FCs têm um impacto econômico significativo na agricultura. Sua alta capacidade de desfolha reduz a produtividade de culturas importantes, como *Eucalyptus*, *Pinus* e pastagens (Britto *et al.*, 2016; Della Lucia e Araújo, 1993; Wilson e Hölldobler, 2005). Além disso, os danos não se limitam à diminuição da produtividade, pois, após a desfolha, as plantas ficam mais vulneráveis a doenças e ao ataque de outros insetos (Reis Filho, Nickle e Strapasson, 2011; Zanuncio *et al.*, 1996).

As FCs atacam as plantas durante todo o ano e em todas as fases de desenvolvimento (Marsaro Júnior *et al.*, 2007). O período de maior vulnerabilidade ocorre durante o estabelecimento da cultura, quando as plantas são jovens, e os danos podem ser irreversíveis (Amante, 1967; Anjos, Della Lucia e Nunes, 1998; Ukan *et al.*, 2010). Em plantios de eucalipto, a desfolha total pode resultar na perda de até 45,5% da produção de madeira, dependendo do nível de desfolha e da idade da planta (Freitas e Berti Filho, 1994; Zanuncio *et al.*, 1996). Em um estudo sobre desfolha artificial em *Eucalyptus grandis*, constatou-se que uma única desfolha pode reduzir em até 18% o diâmetro da planta e diminuir em 37% o volume total de madeira. O impacto é ainda maior após três desfolhas consecutivas, com redução de até 79% no volume total (Matrangolo *et al.*, 2010). Em áreas com quatro colônias por hectare, os danos causados por *Atta* spp. em florestas de eucalipto e pinus podem chegar a uma redução de 14 e 14,5% no volume de madeira, respectivamente (Amante, 1967).

2.4. Estratégias de controle

Em razão do comportamento social das FCs, como a alta capacidade de identificar substâncias que podem ser tóxicas para o fungo simbiote, habilidade de eliminação e isolamento de vegetais contaminados, tornam as estratégias de controle pouco eficazes (Boaretto e Forti, 1997; Oliveira *et al.*, 2011).

2.4.1. Controle Químico

A princípio, os ingredientes ativos dos controles químicos eram aldrina, heptacloro (organoclorados) e o dodecacloro (Mirex), os quais foram banidos de diversos países, inclusive no Brasil, devido a sua capacidade de persistência no ambiente e aos efeitos nocivos a organismos não-alvo (Ashraf, 2017).

Apesar de serem eficientes no controle das FCs em cultivos florestais, os ingredientes ativos usados nesse tipo de controle, como deltametrina e fenitrothion, estão proibidos, pois suas moléculas são classificadas como altamente tóxicas e de alta permanência no ambiente (Britto *et al.*, 2016; Montoya-Lerma *et al.*, 2012; Zanetti *et al.*, 2014).

Atualmente, o controle químico é o método mais utilizado e eficaz para o manejo das FCs em cultivos florestais de empresas certificadas, sendo a sulfluramida e o fipronil os ingredientes ativos mais empregados (Barbieri, 2009; Britto *et al.*, 2016; Zanetti *et al.*, 2014). No entanto, esses ingredientes estão em processo de derrogação e podem ter sua comercialização proibida. Apesar disso, devido à escassez de alternativas eficazes para o manejo das FCs, o uso desses produtos ainda é permitido (Zanuncio *et al.*, 2016). O controle químico pode ser aplicado de diferentes formas, seja através de iscas granuladas, colocadas nas trilhas de forrageamento, assim como a aplicação de pós secos com o uso de nebulizadores que dispersam inseticidas no interior das colônias (Barbieri, 2009; Oliveira *et al.*, 2011; Zanetti *et al.*, 2014).

O uso de iscas granuladas é o principal método adotado devido à sua praticidade, economia e alta eficiência no controle das FCs (Oliveira *et al.*, 2011). Nessas iscas, os ingredientes ativos são a sulfluramida ou o fipronil, que são misturados com óleo de soja e polpa de laranja, ingredientes atrativos, e, em seguida, formulados em *pellets* (Boaretto e Forti, 1997).

As iscas/*pellets* são colocadas próximas às trilhas de forrageamento, onde as operárias as transportam para dentro da colônia, iniciando o processo de incorporação do substrato no fungo. Isso contamina o fungo e, conseqüentemente, a rainha, o que leva à morte da colônia. No entanto, a eficiência do método é reduzida em períodos chuvosos, pois as iscas se tornam menos atrativas (Anjos, Della Lucia e Nunes, 1998; Mota Filho *et al.*, 2022; Reis Filho, Nickelle e Strapasson, 2011).

No que diz respeito ao uso de pó seco, ele não apresenta uma alta eficiência no controle das FCs em grandes áreas, sendo eficiente somente em pequenas áreas (Britto *et al.*, 2016).

Além disso, em períodos em que o solo está úmido há a adesão desses produtos químicos as paredes das colônias, reduzindo assim sua eficiência (Oliveira *et al.*, 2011).

O uso de nebulizadores térmicos, também é uma estratégia utilizada em cultivos florestais. Os líquidos termonebulizáveis são aplicados no interior da colônia, através da combustão do óleo que serve como veículo para o ingrediente ativo (Oliveira *et al.*, 2011). Mas devido ao alto custo na implementação dos equipamentos, problemas envolvendo máquinas, acidentes com trabalhadores e a necessidade de mão de obra especializada, sua utilização tem sido bastante reduzida (Anjos, Della Lucia e Nunes, 1998; Britto *et al.*, 2016).

2.4.1.1. Sulfluramida e fipronil

A sulfluramida é um ingrediente ativo amplamente utilizado no controle das FCs, mas sua alta persistência no ambiente e a degradação em substâncias tóxicas, como o ácido perfluorooctano sulfônico (PFOS), um poluente orgânico persistente (POP) (Britto *et al.*, 2016), levaram à proibição de seu uso em alguns países. No Brasil, a sulfluramida está em processo de derrogação (Antunes *et al.*, 2016).

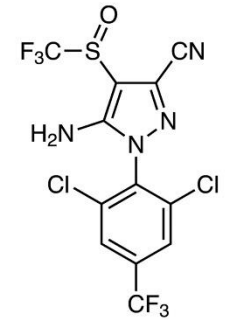
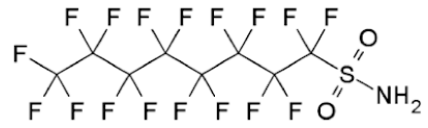
A sulfluramida é um inseticida do grupo das sulfonamidas, utilizado principalmente na forma de iscas granuladas, que são carregadas pelas formigas para o interior da colônia, afetando indivíduos de diferentes castas (Della Lucia e Fowler, 1993). Este inseticida de ação lenta atua como inibidor da produção de ATP mitocondrial, tornando as formigas lentas e reduzindo sua agressividade, o que, eventualmente, leva à morte das formigas por falta de energia (Della Lucia, Gandra e Guedes, 2014). A eficácia da sulfluramida está diretamente relacionada a esse mecanismo, pois, por agir lentamente, permite o transporte das iscas em maior quantidade para o interior da colônia (Boaretto e Forti, 1997) (Tabela 1).

Depois que as iscas são transportadas para o interior da colônia, as operárias jardineiras lambem as iscas até que estas fiquem hidratadas e as incorporam no jardim de fungo (Fowler *et al.*, 1989), nesse momento mais da metade as operárias já foram contaminadas com a sulfluramida (Boaretto e Forti, 1997; Britto *et al.*, 2016). Após três dias, a colônia entra em colapso, pois além da contaminação das operárias, há a contaminação do fungo. Dessa forma, as operárias que não foram contaminadas morrem por falta de alimento. A rainha é a última a morrer, sobrevivendo por cerca de 40 dias após a aplicação da isca (Boaretto e Forti, 1997; Zanetti *et al.*, 2004; Britto *et al.*, 2016).

O fipronil é um inseticida do grupo dos fenilpirazóis, muito utilizado na agricultura, devido a sua eficácia no controle das FCs (Britto *et al.*, 2016). É um inseticida de contato e ingestão, interferindo no sistema nervoso central dos insetos. Ele bloqueia os receptores de

GABA (ácido gama-aminobutírico), que regulam a transmissão de impulsos nervosos, o bloqueio desses receptores leva a hiperexcitabilidade causando paralisia e morte do inseto (Tingle *et al.*, 2003) (Tabela 1). O fipronil está presente em diversas formulações, como grânulos, pulverizações e iscas. No entanto, devido à sua alta toxicidade para abelhas (causando desorientação, redução na capacidade de forrageamento e mortalidade em colônias), mesmo em baixas concentrações, o Instituto Brasileiro do Meio Ambiente (IBAMA) suspendeu o uso de produtos químicos à base de fipronil (Britto *et al.*, 2016; IBAMA, 2024). Estudos demonstraram que, embora o fipronil afete tanto as operárias jardineiras quanto o fungo cultivado, assim como a sulfluramida, ele foi eficaz no controle de *Acromyrmex subterraneus*, destruindo a colônia em quatro dias. No entanto, não apresentou eficácia no controle de *A. capiguara* (Camargo, 2003; Gandra *et al.*, 2016).

Tabela 1: Ingredientes, ação e estrutura molecular da sulfluramida e do fipronil.

Nome Comercial	Ingrediente Ativo	Formulação	Modo de Ação	Molécula 3D	Referência
Mirex-S	Sulfluramida	Iscas granuladas	Atua como um inseticida de ação lenta, havendo tempo hábil para que as formigas levem o composto ao ninho, afetando diretamente o fungo e a rainha.		IRAC BR
Fipronil Nortox 800 WG	Fipronil	Grânulos dispersíveis em água	Bloqueia os canais de cloro mediados pelos neurotransmissores GABA, causando hiperexcitação e morte dos insetos.		IRAC BR

2.4.1.2. Derrogação

Embora o controle químico seja o mais usado, existe uma pressão para extinção do uso desses produtos prejudiciais ao meio ambiente. Nesse contexto, a FCS (Política de Pesticidas do Forest Stewardship Council) tem como objetivo identificar e prevenir o uso de pesticidas que sejam nocivos ao meio ambiente, incentivando o uso de métodos alternativos para o manejo de pragas. Regularmente a lista de pesticidas classificados com altamente tóxicos é atualizada, e todos os ingredientes ativos que estiverem inclusos nessa lista são proibidos em florestas certificadas pelo FSC (FSC, 2016).

A sulfluramida e o fipronil estão entre os ingredientes incluídos na lista de restrição, sendo os mais utilizados em iscas formicidas no Brasil devido à sua eficácia no controle das FCs em cultivos florestais. No entanto, por serem classificados como produtos altamente tóxicos e de alta persistência no ambiente pelo FSC, estão passando pelo processo de derrogação devido à falta de alternativas eficazes para o controle das FCs (FSC, 2016; Lemes *et al.*, 2017).

As derrogações emitidas pelo FSC têm um prazo de cinco anos sem a possibilidade de prorrogação, dessa maneira, após o vencimento desse prazo o uso dos ingredientes ativos deve ser extinguido pelas empresas florestais (Lopes, 2009).

2.4.2. Controle biológico

O controle biológico é baseado no uso de inimigos naturais, microorganismos patogênicos, predadores e parasitoides, com o objetivo de manter as populações das FCs abaixo do nível de dano econômico (Reis Filho, Nickele e Strapasson, 2011; Della Lucia *et al.*, 2014). Dentre os inimigos naturais das FCs, destacam-se as aves, aranhas, percevejos e coleópteros, que predam as rainhas no período de revoada impedindo a fundação de novas colônias (Swartz, 1998; Araújo *et al.*, 2011; Salvador, 2013).

Os fungos entomopatogênicos desempenham o papel de regular as populações de indivíduos (Castilho *et al.*, 2010), dentre as espécies de fungos entomopatogênicos, *Metarhizium anisopliae* e *Beauveria bassiana* (ambos Ascomycota: Hipocreales: Cordycipitaceae) têm destaque por apresentarem maior potencial de controle das FCs (Moino Jr. *et al.*, 2002; Potrich *et al.*, 2009). Em estudos feitos com a aplicação dos esporos desses fungos em iscas teve como resultado 70% de eficácia no controle de *A. sexdens* (Warumby, Netto e Cavalcanti, 1995). Além disso, a combinação do inseticida imidacloprid com o *B.*

bassiana demonstrou eficácia não apenas em alterar o comportamento das operárias, mas também em diminuir a resistência das operárias a fungos entomopatogênicos (Galvanho *et al.*, 2013).

Há também um grande interesse no gênero *Escovopsis* (Ascomycota: Hipocreales) (Muchovej e Della Lucia, 1990), um gênero de fungo considerado micoparasita específico dos fungos cultivados pelas FCs. *Escovopsis* compete diretamente pelos recursos nutritivos do jardim fúngico (Santos Neto, 2018). De acordo com os resultados de Currie, Mueller e Malloch (1999), *Escovopsis* é altamente virulento em colônias de FCs, sendo capaz de matar o fungo mutualístico em apenas um a dois dias.

Por outro lado, dípteros da família Phoridae, pertencentes à ordem dos dípteros, também são consideradas parasitas naturais das FCs. Esses insetos depositam seus ovos na parte interna do corpo das formigas, e o desenvolvimento das larvas acaba resultando na morte das mesmas (Augustin *et al.*, 2011; Arruda *et al.*, 2019; Bragança *et al.*, 2023).

2.4.3. Controle comportamental

O controle comportamental tem como objetivo interferir ou manipular o comportamento, por serem insetos sociais sua organização depende de feromônios e substâncias químicas (Oliveira *et al.*, 2011; Vilela e Della Lucia, 1987). Estudos já demonstram que compostos como epóxido de cariofileno, cariofileno e β -eudesmol causam efeitos nocivos na colônia, por provocarem comportamento de agressão, repelência e interferirem no reconhecimento entre as operárias gerando desordem na colônia (Marinho *et al.*, 2006; Oliveira *et al.*, 2011).

O principal foco do uso de feromônio é a adição das substâncias as iscas granuladas, para que haja maior atratividade, aumento do carregamento das iscas para o interior da colônia e incorporação do material no fungo, consequentemente contaminando e levando a morte da colônia, uma vez que a relação das FCs com o fungo é uma simbiose obrigatória (Oliveira *et al.*, 2011).

2.4.4. Controle mecânico e físico

O controle mecânico consiste na destruição manual das colônias através da escavação com enxadas ou aração do solo. Apesar de ser uma técnica tradicional, ela é viável somente para colônias jovens, de até quatro meses de idade, pois a rainha se encontra numa profundidade de 20 cm. Após esse período as colônias podem atingir mais de 1,5 m de profundidade inviabilizando esse controle devido a dimensão da colônia (Araújo, Della Lucia e Souza, 2003;

Oliveira *et al.*, 2011; Semeão *et al.*, 2006). Já os métodos físicos consistem na criação de barreiras para impedir o contato das formigas com as plantas, nesse tipo de controle são feitas aplicações de fitas com vaselina, graxa ou a colocação de cones nos troncos das árvores para evitar o acesso das FCs à parte aérea das plantas, porém é uma técnica inviável para grandes áreas (Araújo, Della Lucia e Souza, 2003; Oliveira *et al.*, 2011).

2.4.5. Controles alternativos de insetos praga

Apesar de haver uma pressão para diminuição do uso do controle químico devido a fatores tanto econômicos quanto ambientais e da existência de pesquisas sobre novas tecnologias (Nickele *et al.*, 2013), atualmente o controle químico continua sendo o método mais eficaz e aplicável em larga escala (Araújo, Della Lucia e Souza, 2003; Britto *et al.*, 2016; Reis Filho, Nickele e Strapasson, 2011).

Com os principais ingredientes ativos em processo de derrogação, existe a necessidade de novas alternativas de controle das FCs, nesse sentido, os OEs e seus compostos majoritários têm sido estudados como fontes alternativas menos nocivas ao meio ambiente comparado aos inseticidas sintéticos (Antunes *et al.*, 2016). Os OEs são compostos voláteis produzidos pelo metabolismo secundário das plantas e são atribuídos a defesa das plantas contra pragas, doenças e estresses (Oliveira *et al.*, 2018) dessa maneira os OEs apresentam-se como uma alternativa viável e sustentável no controle de pragas.

2.5. Potencial inseticida dos Óleos essenciais

Estudos sobre o potencial inseticida dos OEs e seus compostos majoritários em operárias de FCs já têm demonstrado resultados, dentre eles estão o OE de *Cymbopogon citratus* (Poaceae) (Pinheiro *et al.*, 2024), os compostos majoritários de *Lippia gracilis*, (Verbenaceae) timol e carvacrol (Dantas *et al.*, 2023a), OE de *Aristolochia trilobata* (Aristolochiaceae) (Oliveira *et al.*, 2017), OE de *Myrcia lundiana* (Myrtaceae) (Melo *et al.*, 2021), OE de *Eplingiella fruticosa* (Lamiaceae) e seus compostos majoritários 1,8-cineol e cânfora (Silva *et al.*, 2019), OE de quimiotipos de *Hyptis pectinata* (Lamiaceae) (Feitosa-Alcantara *et al.*, 2017), OE de *Croton tetradenius* (Euphorbiaceae) e seus compostos majoritários p-cimeno e isoascaridol (Brito *et al.*, 2020) e os componentes químicos das folhas de *Eucalyptus maculata* (Myrtaceae), elemol e β -eudesmol (Marsaro *et al.*, 2004).

2.5.1. Óleos essenciais de *Croton grewoides*

Croton é um gênero que pertence à família Euphorbiaceae, família de plantas arbustivas amplamente distribuídas em regiões tropicais, são reconhecidas por suas características

medicinais (Trindade e Lameira, 2014). As espécies desse gênero são conhecidas devido à sua ampla variedade química, por produzirem compostos terpenóides, alcalóides, fenólicos e fenilpropanóides (Luu-dam *et al.*, 2023).

Croton grewioides Baill. é uma planta arbustiva conhecida vulgarmente como “canelinha-de-cheiro”, de porte médio com 2,5 metros, monoico com ramos esverdeados, folhas com margem serrilhada, glândulas clavadas e sésseis na base do limbo, brácteas lineares, 11 estames e flor pistilada pedicelada com sépalas estreito-triangulares a lineares. É uma planta que possui distribuição por todo território brasileiro, mas ocorre principalmente em áreas semiáridas, em solos arenosos com afloramento rochoso, o florescimento acontece entre fevereiro e março, e sua produção ocorre entre abril e maio (Silva *et al.*, 2010). Devido à complexidade química dos OEs, eles apresentam acessos que são perfis químicos caracterizados por condições ambientais, fatores genéticos e variações na composição química, essas características influenciam diretamente na quantidade e nos compostos presentes em cada acesso (Bakkali *et al.*, 2008).

Os acessos do OE de *C. grewioides* apresentam na sua composição as substâncias eugenol, metil eugenol e o metil chavicol (Oliveira *et al.*, 2021). As propriedades bioativas desses compostos já foram descritas, a exemplo da sua ação inseticida contra a *Chrysodeixis includens* (Noctuidae) (Santos *et al.*, 2022), *Nasutitermes corniger* (Termitidae) (Menezes, 2023) e *Zabrotes subfaciatus* (Chrisomelidae) (Silva *et al.*, 2008).

O OE de *C. grewioides*, apresenta uma composição química diversificada, com variações nos compostos majoritários dependendo do acesso estudado, nos acessos de metil eugenol como CGR 302, CGR 304, CGR 307 e CGR 308, o metil eugenol foi o principal constituinte, com concentrações de 80 a 90%, no acesso eugenol como CGR 107 e CGR 108, o eugenol foi o principal constituinte com cerca de 90% da concentração, já o metil chavicol, foi identificado como composto majoritário do acesso CGR 324, com uma concentração de 88,13% (Rodrigues *et al.*, 2022).

O acesso CGR 107 de *C. grewioides* é composto majoritariamente por eugenol, um composto fenólico conhecido por suas propriedades antimicrobianas e inseticidas (Rustamova *et al.*, 2021). Segundo Conceição *et al.* (2022) o eugenol é o componente majoritário desse acesso com aproximadamente 80,37% da sua composição.

3. Material e métodos

3.1. Obtenção do óleo essencial e seu composto majoritário

O OE de *Croton grewioides* foi obtido a partir do acesso CGR 107 mantido no Banco Ativo de Germoplasma (BAG) da Universidade Federal de Sergipe (UFS), localizado na Fazenda Experimental - *Campus* Rural da UFS, São Cristóvão, Sergipe, Brasil (11°00' S, 37°12' W). A obtenção do OE foi realizada no laboratório de Fitotecnia do Departamento de Engenharia Agrônômica (DEA) da Universidade Federal de Sergipe. As folhas de *C. grewioides* foram coletadas no *Campus* Rural e secas em estufa a 40 ± 1 °C por 5 dias. O OE foi extraído através da hidrodestilação em aparelho tipo Clevenger modificado, utilizando amostras de 70 gramas por cerca de 120 minutos após o início da ebulição (Oliveira *et al.*, 2021). Ao final da hidrodestilação, o OE foi colocado em um frasco de vidro de âmbar e armazenado numa temperatura de -20 °C, até a realização dos bioensaios. As análises e caracterização química para identificar e quantificar os compostos foram feitas conforme Oliveira *et al.*, (2021). O composto majoritário utilizado foi obtido através da empresa Sigma-Aldrich (Saint Louis, Missouri, EUA).

3.2. Obtenção dos insetos

Operárias de *A. sexdens* foram coletadas em colônias localizadas no *Campus* da Universidade Federal de Sergipe – UFS. Todas as formigas coletadas foram padronizadas por tamanho, operárias médias com tamanho da capsula encefálica 1,4 mm, acondicionadas em recipientes lásticos (50 cm x 20 cm) e mantidas sob condições controladas 25 ± 2 °C, $70 \pm 5\%$ UR e fotoperíodo de 12 horas, para aclimação por 24 horas até a realização dos bioensaios. Durante esse período foi disponibilizada às operárias somente água destilada.

3.3. Bioensaios

Os bioensaios foram realizados no Laboratório de Entomologia Agrícola (LABMIP) do Departamento de Agronomia da Universidade Federal de Sergipe, em São Cristóvão, estado de Sergipe, Brasil.

Os tratamentos usados foram o OE do acesso CGR 107 de *C. grewioides*, o seu composto majoritário eugenol, o inseticida deltametrina (Decis® 25 EC, 25 g i.a./L, concentrado emulsionável, Bayer SA®) como controle positivo e a acetona (Panreac, UV-IR-HPLC-GPC PAI-ACS, 99,9% purificado), sendo o controle negativo. Todos os tratamentos

foram diluídos no solvente acetona, testes preliminares mostraram que esse solvente não influencia na sobrevivência e no comportamento das formigas.

3.3.1. Dose Letal

Para estabelecer as doses a serem usadas, ou seja, quantos μg do composto são aplicados por mg de inseto, foram pesadas 50 operárias de *A. sexdens*, tamanho da capsula encefálica 1,4 mm, individualmente em uma balança analítica de precisão (Shimadzu, Kyoto, Japão, AUW220D) a fim de obter a massa média dos indivíduos. A aplicação dos compostos foi feita de forma tópica, foi aplicado um μL dos compostos na região do tórax das operárias com o auxílio de uma microseringa de Hamilton® com capacidade de 10 μL (Hamilton®, Reno, NV, EUA). Para tornar a aplicação dos compostos mais eficaz, as operárias foram mantidas em freezer ajustado a $-19\text{ }^{\circ}\text{C}$ (Eletrolux®, Curitiba, PR, Brasil), por 2 min 10” segundos para reduzir a movimentação (Costa *et al.*, 2019). Testes preliminares em laboratório demonstraram que essa metodologia não influencia na sobrevivência das operárias.

Os bioensaios para determinar as curvas dose-resposta e estimar as doses letais capazes de matar 30, 50 e 90% das populações de *A. sexdens* foram realizados em um delineamento inteiramente casualizado, com 10 repetições por tratamento. Cada unidade experimental foi formada com sete operárias de tamanhos padronizados em uma placa de Petri de vidro (Global Trade Technology, Monte Alto, SP, Brasil) (9 x 2cm) forrada no fundo por papel filtro (Unifil) umedecido com 500 μL de água destilada, recobertas com plástico filme PVC transparente (G-útil Guarufilme, Guarulhos, SP, Brasil) e acondicionadas em estufa tipo B.O.D. em uma temperatura de $25\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 1\text{ }^{\circ}\text{C}$ e umidade relativa de $70\% \pm 10\text{ }^{\circ}\text{C}$ (Albuquerque *et al.*, 2013).

A princípio foram testadas três doses dos tratamentos (1, 5 e 10 μg do composto/mg do inseto) com o objetivo de identificar a fase (ascendente) inicial do crescimento da curva dose-resposta. Em seguida, foram aplicadas de quatro a cinco doses para ajustar os dados ao modelo Probit, que estabelece a relação entre a probabilidade de mortalidade e a dose do composto. As avaliações de mortalidade foram realizadas após 72 horas da montagem do bioensaio. Os indivíduos que continuaram imóveis e não reagiram a nenhum estímulo foram considerados mortos (Dantas *et al.*, 2023a; Oliveira *et al.*, 2017).

3.3.2. Curvas de sobrevivência

As curvas de sobrevivência e o tempo letal para matar 50% da população (TL_{50}) de *A. sexdens* foram estabelecidas por meio da DL_{90} dos tratamentos estabelecidos no bioensaio de dose letal. O modo de aplicação foi similar ao usado no bioensaio anterior, diferindo somente

na dose (DL₉₀), no número de repetições e o intervalo de avaliação. Neste bioensaio foram aplicadas as DLs₉₀ dos tratamentos e usadas 15 repetições contendo sete insetos em cada repetição, totalizando 105 indivíduos por repetição.

As avaliações de mortalidade foram feitas a cada 10 minutos até completar uma hora a partir da montagem do experimento, em seguida a cada 30 minutos até completar duas horas, a cada 60 minutos até seis horas, a cada 120 minutos até 24 horas, a cada 240 minutos até 48 horas e posteriormente a cada 24 horas ou até 20% da morte dos indivíduos do tratamento controle (Costa *et al.*, 2019; Melo *et al.*, 2021).

3.3.3. Comportamento individual e coletivo

O bioensaio de comportamento foi realizado a fim de avaliar os efeitos dos compostos no comportamento individual das operárias de *A. sexdens* tratadas, bem como as interações comportamentais de um grupo de indivíduos não tratados em relação a um tratado de acordo com Bacci *et al.*, (2015).

Os delineamentos experimentais foram inteiramente casualizados, com 80 repetições por tratamento. As operárias de *A. sexdens* foram tratadas com acetona, como controle negativo, e com os compostos: OE de *C. grewioides*, seu composto majoritário eugenol e a deltametrina na DL₃₀ determinada no bioensaio de dose letal. Antes da aplicação dos tratamentos, as formigas foram alocadas em placa de Petri (9 x 1,5 cm) forradas com papel filtro umedecido com 0,5 mL de água destilada onde permaneceram por 5 minutos para aclimação.

No bioensaio de comportamento individual, cada unidade experimental foi constituída por uma operária, totalizando 320 indivíduos. Após o período de aclimação as formigas foram imobilizadas e submetidas aos tratamentos com os compostos. Um minuto após a aplicação dos tratamentos, deu-se início à avaliação do comportamento de autolimpeza.

No bioensaio coletivo, cada unidade experimental foi constituída por um grupo de sete operárias, totalizando 2.240 indivíduos e 320 unidades experimentais. Após o período de aclimação, uma formiga de cada grupo foi selecionada aleatoriamente, imobilizada e marcada na região do abdome com tinta atóxica de cor amarela (Acrilex Tintas Especiais S.A. Galvão Bueno, 5000 - Batistini, São Bernardo do Campo - SP, 09842-900), em seguida, a formiga foi tratada topicamente com os compostos OE de *Croton grewioides*, eugenol e deltametrina, após três minutos, colocada novamente na placa de Petri junto aos indivíduos não tratados. Um minuto após a realocação da formiga na placa, deu-se início a avaliação dos comportamentos coletivos de atração, antenação e evitação (Tabela 1) (Dantas *et al.*, 2023a). Testes preliminares em laboratório demonstraram que a tinta não afetou o comportamento das formigas.

Tabela 2: Definição dos comportamentos das operárias de *Atta sexdens*.

Comportamento	Descrição	Função Biológica	Referências
Autolimpeza	As formigas removem sujeiras do seu corpo, usando as pernas e mandíbulas para se limpar, especialmente após contato com possíveis contaminantes.	Reduzir a contaminação no próprio corpo e impedir a contaminação do ninho, principalmente o fungo simbiote.	Currie & Stuart, 2001
Antenação	Toque das antenas entre as operárias ou em objetos para reconhecimento químico, avaliação de qualidade do material a ser forrageado e comunicação social.	Identificação de membros da colônia, identificação materiais vegetais e coordenação do trabalho coletivo.	Hölldobler & Wilson, 1990
Evitação	Comportamento de evitar materiais, áreas e/ou operárias contaminadas. Movimentação de chegar próximo e se afastar rapidamente.	Proteger o fungo cultivado e o ninho de contaminações externas.	North <i>et al.</i> , 1999.
Atração	As operárias são atraídas por compostos voláteis	Principalmente orientar e otimizar o forrageamento.	Farji-Brener <i>et al.</i> , 2010.

liberados por
folhas frescas ou
pelo feromônio de
trilha deixado por
outras operárias.
Movimentação de
se aproximar e
manter a
proximidade.

As avaliações nos bioensaios individual e coletivo foram realizadas por um minuto contínuo, seguidas de um intervalo de um minuto, durante um período de 10 minutos, totalizando cinco minutos de observação para cada inseto. No total, os comportamentos foram avaliados por 53h 20 min. Esse tempo foi obtido a partir de dois bioensaios (individual e coletivo), com 80 repetições por tratamento e cinco minutos de observação por repetição (Dantas *et al.*, 2023a).

3.3.4. Caminhamento individual

Os efeitos dos compostos no comportamento de caminhamento das operárias de *A. sexdens*, foi realizado e avaliado através do bioensaio de caminhamento individual. O delineamento experimental foi inteiramente casualizado, com 80 repetições por tratamento. As formigas foram expostas à acetona, controle negativo, e aos compostos OE de *C. grewiooides*, eugenol e deltametrina, controle positivo, na DL₃₀ determinada no bioensaio de dose letal.

No bioensaio individual, cada unidade experimental foi constituída por uma operária de *A. sexdens*, tendo assim, um total de 320 indivíduos. As formigas foram imobilizadas, tratadas com os compostos e alocadas em arenas de placas de Petri (9 × 1,5 cm) revestidas com papel filtro umedecido com 0,5 mL de água destilada. A gravação foi iniciada um minuto após as formigas serem colocadas na arena, com duração de 10 minutos utilizando uma câmera de vídeo (Panasonic SD5 Superdynamic - modelo WV-CP504), equipada com uma lente Spacecom (1/3 "3-8 mm) conectada ao computador.

A distância percorrida (mm) e a velocidade (mm/s) foram registradas no software Ethovision XT (versão 8.5; Noldus Integration System, Sterling, VA, EUA), e os dados foram processados e analisados no Programa Sigmaplot, versão 15.0 (Oliveira *et al.*, 2017).

3.3.5. Irritabilidade

Para avaliar a irritabilidade das operárias aos compostos foram realizados bioensaios de irritabilidade. O delineamento experimental foi inteiramente casualizado com 80 repetições por tratamento, totalizando 320 arenas. Cada unidade experimental foi constituída por uma placa de Petri (9 cm x 1,5 cm), forrada com um disco de papel filtro previamente cortado em duas partes iguais, que foram divididos como área tratada e área não tratada. Na área tratada, foram aplicados 250 µL da solução do tratamento (OE, eugenol, deltametrina) na concentração de 0,1%, enquanto na área não tratada foram aplicados 250 µL de acetona, ambos usando uma pipeta de volumétrica de 10-100 µL (Labmate Pro PZ HTL S.A., Polônia). Cada parte do disco foi fixada no fundo da placa de Petri com fita dupla-face, e uma operária foi posicionada no centro da arena (Melo *et al.*, 2021).

O comportamento das operárias foi gravado por um período de 10 minutos utilizando-se uma câmera de vídeo (Panasonic SD5 Superdynamic - modelo WV-CP504), equipada com uma lente Spacecom (1/3 "3-8 mm) conectada ao computador. O software Ethovision XT (versão 8.5; Noldus Integration System, Sterling, VA) foi utilizado para análise do comportamento, já as análises dos dados finais foram feitas usando o programa Sigmaplot, versão 15.0 (Rocha *et al.*, 2018).

Nesse bioensaio foi analisado o tempo de permanência das operárias em cada lado da arena (tratado ou não tratado). Foi considerado que a irritabilidade é proporcional ao tempo em que as operárias permaneceram no lado não tratado, ou seja, quanto maior o tempo no lado sem tratamento, maior a irritabilidade do composto testado.

3.3.6. Transferência Horizontal

Este experimento teve como objetivo avaliar se os compostos utilizados, OE, eugenol e deltametrina podem ser transferidos de operárias mortas para operárias vivas que não receberam os tratamentos. O experimento foi feito conforme Dantas *et al.* (2023b). Foram testadas as proporções: [1:20] – 1 formiga morta para 20 formigas vivas e [1:5] – 4 formigas mortas para 20 formigas vivas. O delineamento experimental foi inteiramente casualizado, com 10 repetições por tratamento por proporção. Os bioensaios foram realizados em arenas compostas por placas de Petri (14 x 1,5 cm), forradas com papel filtro umedecido e cobertas com plástico filme PVC. As formigas mortas usadas foram obtidas após 24 horas de exposição das operárias a DL₉₀ dos compostos. Para o controle, os indivíduos mortos foram obtidos através da aplicação de acetona e posterior congelamento em freezer a -19 °C por cerca 30 minutos. O número de

formigas vivas e mortas foi monitorado após 1, 2, 4, 6, 10, 14, 26, 38, 50, 62, 74, 86, 98, 110 horas da montagem dos experimentos (Dantas *et al.*, 2023b; Zhang *et al.*, 2022).

4. Análises estatísticas

Os dados de mortalidade foram submetidos à análise de Probit para determinar as curvas dose-mortalidade para cada composto usando o procedimento PROC PROBIT no SASTM (Instituto SAS, 2008). A partir das curvas, as doses letais necessárias para causar 30, 50 e 90% de mortalidade (DL₃₀, DL₅₀ e DL₉₀) e seus respectivos intervalos de confiança (IC_{95%}) com 95% de probabilidade. As DLs foram comparadas usando o critério de intervalos de confiança não sobrepostos com a origem do intervalo.

As análises de sobrevivência e transferência horizontal foram realizadas utilizando estimadores de Kaplan-Meier usando o teste Log-Rank (SigmaPlot, versão 15). A partir dessas análises, foram geradas as curvas de sobrevivência e os tempos letais necessários para provocar 50% de mortalidade das operárias (TL₅₀) e seus intervalos de confiança (IC_{95%}) com 95% de probabilidade. As curvas foram comparadas pelo método de comparação múltipla de Holm-Sidak com nível de significância de 0,05 (SigmaPlot, versão 15). A TL₅₀ foi comparada usando o critério de intervalos de confiança não sobrepostos com a origem do intervalo.

Os dados dos bioensaios de comportamento individual, coletivo e caminhamento individual das operárias expostas aos compostos foram inicialmente submetidos aos testes de Shapiro-Wilk ($p > 0,05$) e Brown-Forsythe ($p < 0,05$) para verificar a normalidade dos dados e a uniformidade da variância, respectivamente. Como os dados de comportamento individual, coletivo e caminhamento, apresentaram-se fora dos padrões de normalidade, os dados foram submetidos à análise de variância não paramétrica de Kruskal-Wallis ($p < 0,05$), seguido do método de comparação múltipla de Dunn ($p < 0,05$) para comparar o efeito dos tratamentos em relação ao controle.

Do mesmo modo, os dados de irritabilidade foram submetidos à análise de variância não paramétrica de Kruskal-Wallis, seguida pelo teste de Wilcoxon a fim de analisar diferenças entre os tempos de permanência das operárias entre as áreas tratadas e não tratadas (SigmaPlot, versão 15).

5. Resultados e discussão

Neste estudo, foi evidenciado que o OE de *C. grewioides* e seu composto majoritário, o eugenol, exercem efeitos letais e subletais significativos sobre *A. sexdens*, tais como redução

da sobrevivência, alterações nas interações sociais, no deslocamento, aumento da desorientação e irritabilidade dos indivíduos quando expostos aos compostos.

5.1. Análise do OE

No acesso CGR 107 de *C. grewioides* foram identificados 6 compostos, β -elemene, eugenol, caryophyllene, germacrene, bicyclogermacrene e spathulenol. O composto majoritário encontrado foi o eugenol com 86,8% da sua composição. As variações na composição química dos OEs podem ocorrer devido a fatores genéticos e ambientais (Brito *et al.*, 2020). A bioatividade apresentada pelos OEs pode estar diretamente relacionada aos compostos majoritários e a interações entre os compostos majoritários com os minoritários, bem como a dose usada, o tempo de exposição e seu mecanismo de ação (Bakkali *et al.*, 2008; Gerolt, 1983).

A bioatividade do eugenol está ligada ao seu mecanismo de ação, que atua nos receptores de octopamina e nos canais de receptores transitórios potencialmente sensíveis, afetando diretamente o sistema nervoso e comportamento dos insetos (Baker e Grant, 2017; Enan, 2001; Price e Berry, 2006).

5.2. Dose letal

Todos os compostos foram tóxicos para as operárias de *A. sexdens* por contato, com DL_{50} variando de $0,163^{-6}$ a $6,292 \mu\text{g}/\text{mg}$ (Tabela 1). Entre os compostos botânicos, o eugenol foi o composto mais tóxico para as formigas, sendo que a dose necessária para matar 50% da população foi de $2,461 \mu\text{g}/\text{mg}$ ($IC_{95\%}$: 1,482 – 3,331), dessa forma, 60,86% menor que a dose do OE de *C. grewioides* de $6,292 \mu\text{g}/\text{mg}$ ($IC_{95\%}$: 4,315 – 7,709) (Tabela 3).

Tabela 3: Toxicidade por aplicação tópica do óleo essencial de *Croton grewioides* e seu composto majoritário sobre operárias de *Atta sexdens* após 72 h.

Composto	<i>n</i>	DL ₃₀ (IC 95%) ^b	DL ₅₀ (IC 95%) ^b	DL ₉₀ (IC 95%) ^b	Slope (± EP)	χ^2	<i>P</i>
-----µg/mg-----							
CGR 107	280	3,242 (1,372-4,610)	6,292 (4,315-7,709)	31,825 (20,787-92,383)	1,82 ± 0,42	2,24	0,32
Eugenol	350	1,148 (0,507-1,806)	2,461 (1,482-3,331)	15,872 (11,886-25,563)	1,58 ± 0,25	2,48	0,48
Deltametrina	280	0,692 ⁻⁷ (0,538 ⁻⁸ -0,172 ⁻⁶)	0,163 ⁻⁶ (0,280 ⁻⁷ -0,314 ⁻⁶)	0,132 ⁻⁵ (0,895 ⁻⁶ -0,240 ⁻⁵)	1,41 ± 0,35	0,23	0,89

^a número de insetos testados.

^b doses letais necessárias para matar 30, 50 e 90 % das populações e seus respectivos intervalos de confiança a 95%.

A toxicidade observada para a DL₅₀ do eugenol demonstrou ser maior, enquanto OE de *C. grewioides* mostrou-se menos tóxico nessa DL. Isso pode estar relacionado à presença de outros compostos no óleo, que podem competir pelo sítio de ação ou até inibir a ação do eugenol, composto identificado como majoritário no OE de *C. grewioides* e o mais tóxico dentre os tratamentos avaliados (Enan, 2001; Isman, 2006).

Estudos indicam que o eugenol é um composto que apresenta características inseticidas de contato e ação rápida (Dayan, Cantrell e Duke, 2009), e já tem sua toxicidade descrita contra diversos insetos, dentre eles *Nasutitermes corniger* (Termitidae) (Menezes, 2023), *Sitophilus zeamais* (Curculionidae) (Coitinho, 2009), *Mahanarva spectabilis* (Cercopidae) (Dias, 2020), *Mononychellus tanajoa* (Tetranychidae) (Fernandes *et al.*, 2024), *Acanthoscelides obtectus* (Chrysomelidae) (Jumbo, 2013) e *Chrysodeixis includens* (Noctuidae) (Santos, 2022).

5.3. Curvas de sobrevivência

A sobrevivência das operárias de *A. sexdens* expostas as DLs₉₀ do OE de *C. grewioides*, seu composto majoritário eugenol e deltametrina, foi significativamente reduzido ao longo do tempo (teste de Log-rank: $\chi^2 = 290,757$; g.l. = 3; $p < 0,001$). Os indivíduos expostos ao OE de *C. grewioides* apresentaram uma rápida mortalidade (TL₅₀ = 22h), enquanto os indivíduos expostos ao eugenol apresentaram mortalidade mais lenta (TL₅₀ = 57,9h) em relação ao controle (Figura 1).

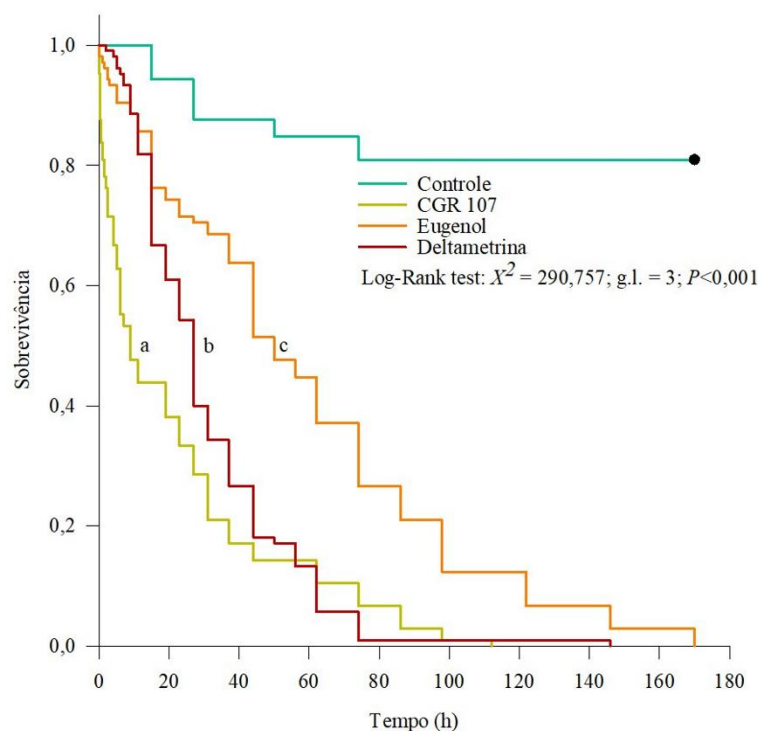


Figura 1: Curvas de sobrevivência e tempos letais (TL₅₀) das operárias de *Atta sexdens* expostas a DL₉₀ do óleo essencial de *Croton grewiioides* (CGR 107) (a), seu composto majoritário eugenol (c) e a deltametrina (b). TL₅₀ = tempo letal necessário para matar 50% da população. As curvas de sobrevivência foram comparadas pelo método de Holm-Sidak com nível de significância de 0,05.

Essa diferença entre o tempo letal dos compostos pode estar ligada ao sítio de ação de cada composto, uma vez que os compostos derivados de OEs atuam em diferentes sítios de ação, tais como receptores de GABA, acetilcolina, octopamina e nos canais de sódio (Enan, 2001; Kostyukovsky *et al.*, 2002; Priestley *et al.*, 2003).

A velocidade com que as operárias morrem têm um impacto direto no manejo aplicado. Geralmente, os compostos que provocam uma mortalidade rápida (OE de *C. grewiioides*) podem apresentar eficiência quando aplicados de forma direta nas colônias, através de termonebulizações. Já compostos que têm a sua ação retardada (Eugenol) podem ser usados na formulação de iscas granuladas, havendo assim tempo hábil para a dispersão do composto entre as operárias, podendo chegar até o fungo simbiote e a rainha, provocando o colapso da colônia (Della Lucia e Souza, 2011; Oliveira *et al.*, 2011).

5.4. Comportamento individual e coletivo

No comportamento de autolimpeza das operárias de *A. sexdens* houve diferença significativa quando expostas aos tratamentos ($H = 28,8$; g.l. = 3; $p < 0,001$). As operárias aumentaram o número de autolimpezas quando foram expostas às DL₃₀ da deltametrina e do

eugenol. O número de autolimpeza das operárias tratadas com OE de *C. grewioides* não diferiu do controle (Figura 2).

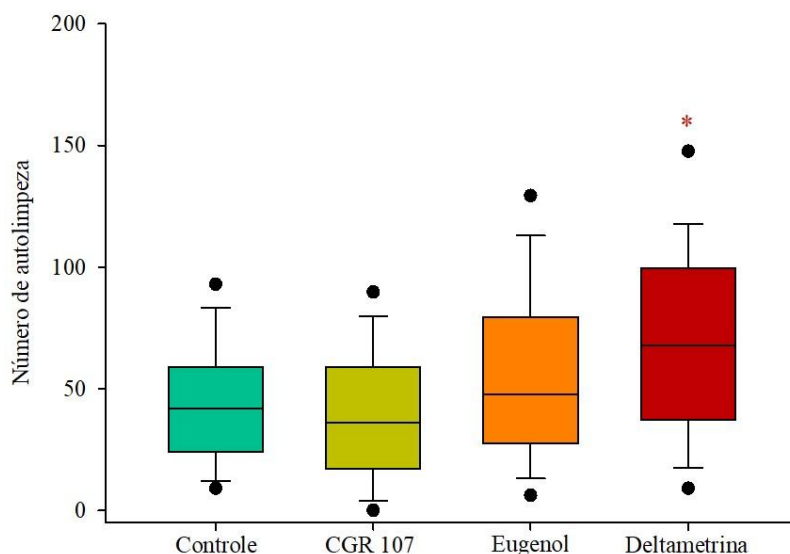


Figura 2: Comportamento de autolimpeza de *Atta sexdens* expostas por contato a DL₃₀ dos compostos. Os círculos representam os percentis 5 e 95, as linhas de erro os percentis 10 e 90 e as bordas da caixa os percentis 25 e 75. As medianas (linhas pretas dentro dos boxplots) seguidas de um asterisco diferem do controle pelo teste de Dunn em $p < 0,05$.

O aumento no número do comportamento de autolimpeza das operárias expostas a deltametrina e ao eugenol indica que a operária identificou a contaminação, no entanto, apesar do comportamento de autolimpeza ser natural para a remoção de possíveis contaminantes, ele não é eficiente para limitar a dispersão de compostos, ele acaba aumentando a exposição das operárias a essas substâncias tóxicas, aumentando o risco de contaminação individual (Catalani *et al.*, 2020; Forti *et al.*, 2019).

Em contrapartida, as operárias não identificaram a presença do OE de *C. grewioides*, uma vez que não houve o aumento no número de autolimpezas, facilitando a dispersão de substâncias nocivas entre os indivíduos da colônia, principalmente em insetos sociais como as FCs (Richard e Hunt, 2013; Theis *et al.*, 2015).

O comportamento de antenação variou entre as doses ($H = 132,6$; g.l. = 3; $p < 0,001$), sendo maior nos indivíduos tratados com deltametrina. O menor número de antenações foi observado nas operárias tratadas com o OE de *C. grewioides* e eugenol quando comparados com o controle (Figura 3).

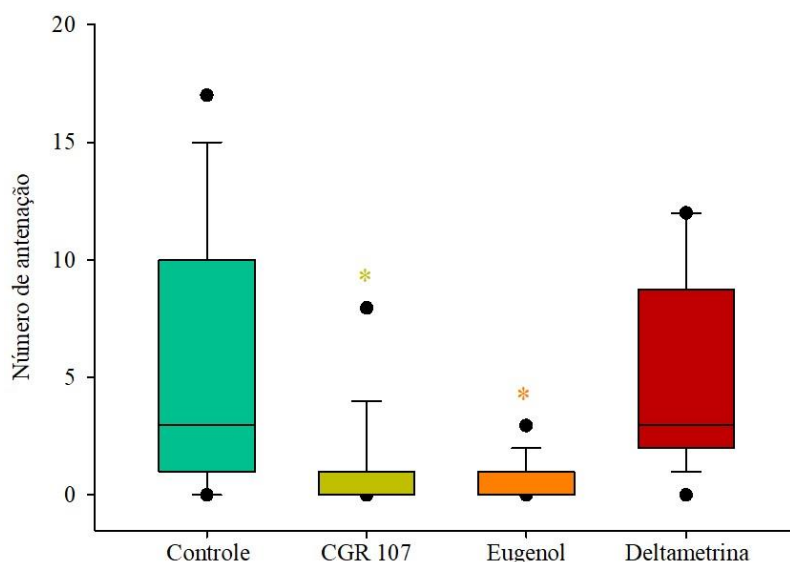


Figura 3: Comportamento coletivo de antenação em operárias de *Atta sexdens* expostas por contato a DL₃₀ dos compostos. Os círculos representam os percentis 5 e 95, as linhas de erro os percentis 10 e 90 e as bordas da caixa os percentis 25 e 75. As medianas (linhas pretas dentro dos boxplots) seguidas de um asterisco diferem do controle pelo teste de Dunn em $p < 0,05$.

Esses resultados indicam que os indivíduos não tratados conseguiram perceber a presença da deltametrina na operária tratada, pois o aumento de antenações está diretamente relacionado à percepção do composto pelas operárias, uma vez que o comportamento de antenação desempenha um papel importante na comunicação entre os indivíduos da colônia, tanto para identificar as companheiras de colônia quanto compostos tóxicos (Detrain e Deneubourg, 2006).

Já para os tratamentos OE de *C. grewioides* e eugenol houve a redução desse comportamento, indicando que o composto não foi percebido pelas operárias, facilitando a disseminação do composto entre as operárias, uma vez que o contato entre as operárias é a principal via de disseminação dos compostos pela colônia (Theis *et al.*, 2015; Traniello e Robson, 1995).

O comportamento de evitação das operárias de *A. sexdens* variou entre os compostos ($H = 55,1$; g.l. = 3; $p < 0,001$). Todos os tratamentos aumentaram significativamente o comportamento de evitação em relação ao controle. (Figura 4).

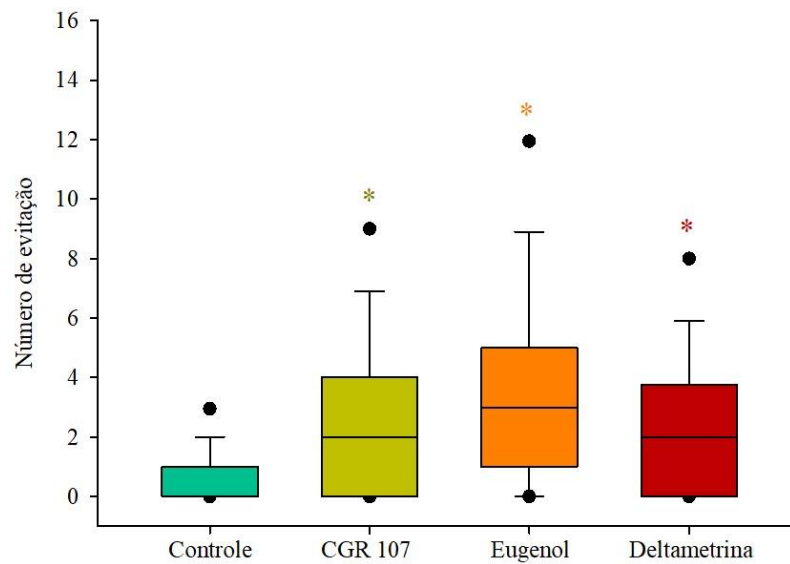


Figura 4: Comportamento coletivo de evitação em operárias de *Atta sexdens* expostas por contato a DL₃₀ dos compostos. Os círculos representam os percentis 5 e 95, as linhas de erro os percentis 10 e 90 e as bordas da caixa os percentis 25 e 75. As medianas (linhas pretas dentro dos boxplots) seguidas de um asterisco diferem do controle pelo teste de Dunn em $p < 0,05$.

O comportamento de atração variou entre os tratamentos ($H = 76,3$; g.l. = 3, $p < 0,001$). Todos os compostos, OE de *C. grewioides*, eugenol e deltametrina, apresentaram um efeito significativo na redução do comportamento de atração das operárias não tratadas em relação as tratadas quando comparados com o controle (Figura 5).

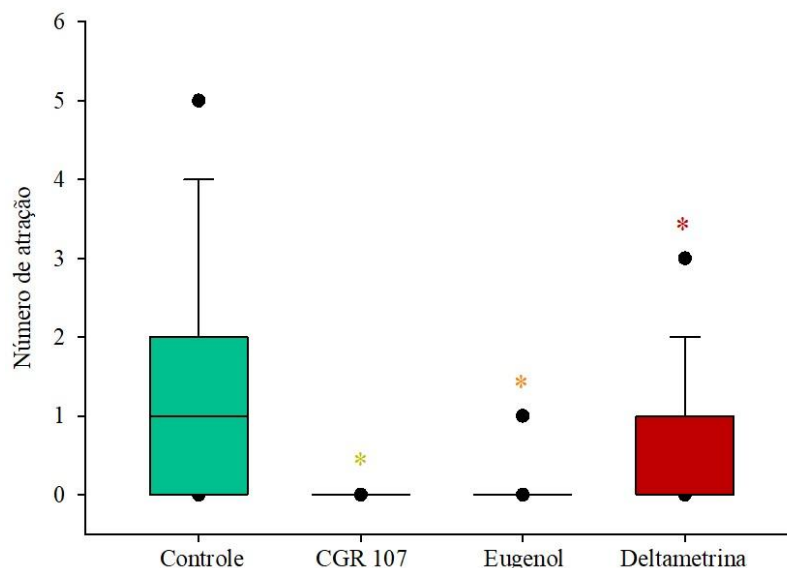


Figura 5: Comportamento coletivo de atração em operárias de *Atta sexdens* expostas por contato a DL₃₀ dos compostos. Os círculos representam os percentis 5 e 95, as linhas de erro os percentis 10 e 90 e as bordas da caixa os percentis 25 e 75. As medianas (linhas pretas dentro dos boxplots) seguidas de um asterisco diferem do controle pelo teste de Dunn em $p < 0,05$.

De forma geral, o OE de *C. grewioides*, seu composto majoritário e a deltametrina alteraram os comportamentos de evitação e atração das operárias de *A. sexdens* em relação ao controle. Resultados demonstram que as operárias tratadas com os compostos OE de *C. grewioides*, eugenol e deltametrina foram identificadas como possíveis contaminantes para o grupo. Dessa maneira, o aumento no comportamento de evitação e a redução no comportamento de atração pode reduzir o número de operárias contaminadas (Richard e Hunt, 2013; Traniello e Robson, 1995).

5.5. Caminhamento individual

Em geral, no comportamento de caminhada, a velocidade ($H = 124,3$; g.l. = 3; $p < 0,001$) (Figura 6A) e a distância ($H = 123,845$; g.l. = 3; $p < 0,001$) (Figura 6B) das operárias de *A. sexdens* diferiu do controle (Figura 7). As operárias tratadas com eugenol aumentaram significativamente a velocidade e a distância percorrida. No caminhar das operárias tratadas com OE de *C. grewioides* foi observada uma menor velocidade em relação ao controle, enquanto a distância não apresentou diferença significativa. A velocidade e a distância percorrida dos indivíduos tratados com deltametrina não diferiu do controle (Figura 6A e 6B).

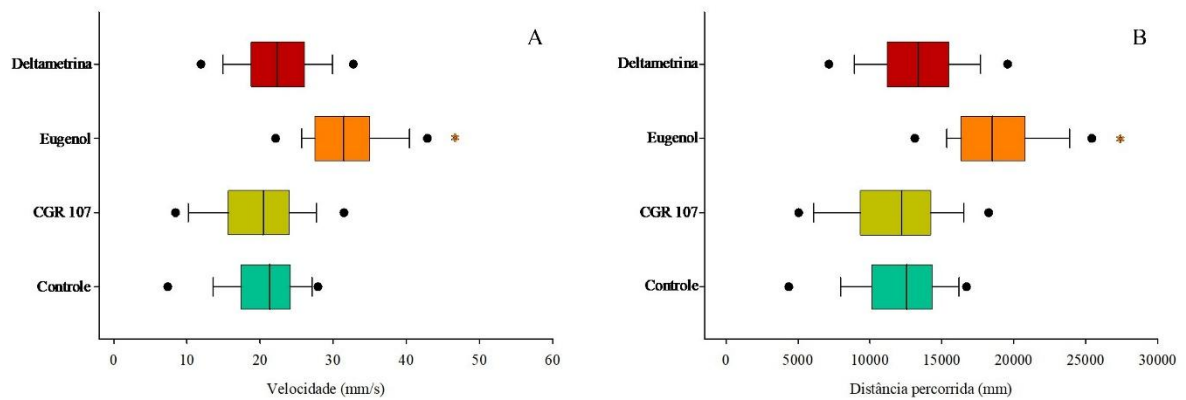


Figura 6: Comportamento de caminhada individual das operárias *Atta sexdens* expostas a DL₃₀ do óleo essencial de *Croton grewoides* (CGR 107), seu composto majoritário eugenol e a deltametrina. Os círculos representam os percentis 5 e 95, as linhas de erro os percentis 10 e 90 e as bordas da caixa os percentis 25 e 75. As medianas (linhas pretas dentro dos boxplots) seguidas de um asterisco diferem do controle pelo teste de Dunn em $p < 0,05$.

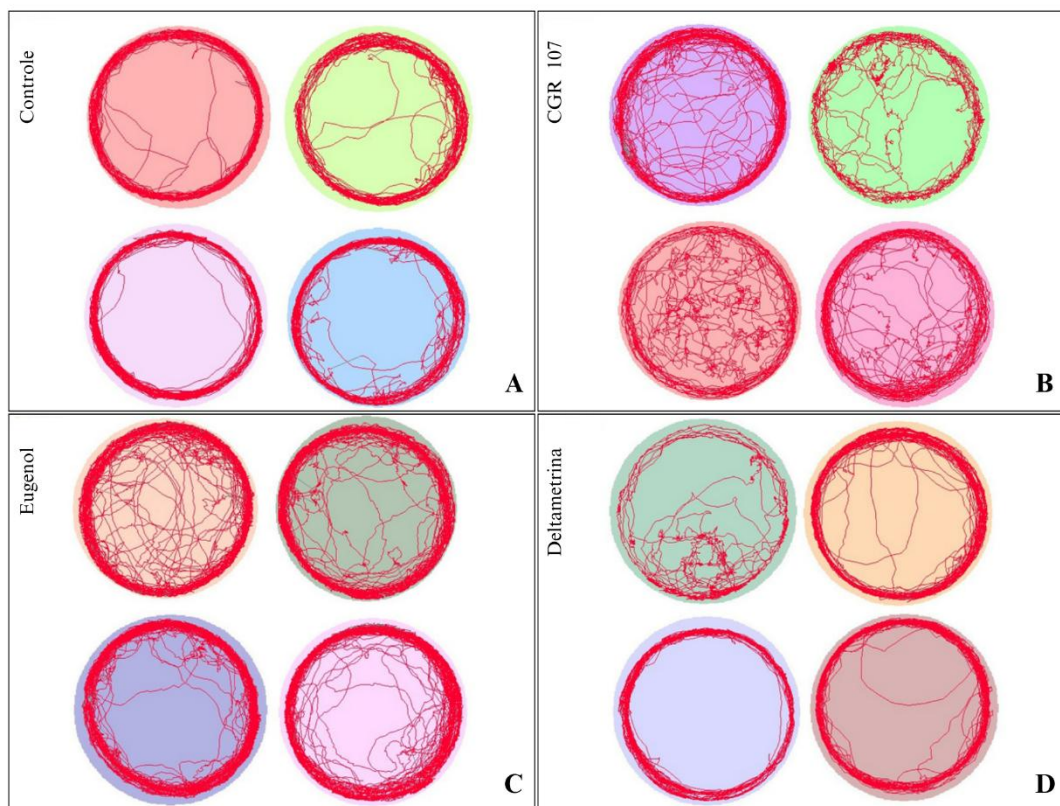


Figura 7: Mapas das trilhas de caminhada individual de *Atta sexdens* expostas por 600s a DL₃₀ do óleo essencial de *Croton grewoides* (CGR 107) (B), seu composto majoritário eugenol (C) e a deltametrina (D).

O OE de *C. grewoides* causou redução na velocidade e distância percorrida das operárias, essas mudanças no padrão de caminhada, como alterações na velocidade de caminhada e distância percorrida, podem alterar o fluxo de operárias tanto nas trilhas de

forrageamento quanto dentro da colônia, afetando diretamente a capacidade de forrageamento, a harmonia e a sobrevivência da colônia (Hölldobler e Wilson, 2011; Richard e Hunt, 2013).

Esse comportamento de redução não foi observado na deltametrina, podendo ter relação com o modo que os piretróides atuam no sistema nervoso provocando a hiperexcitabilidade dos insetos (Soderlund e Bloomquist, 1989).

5.6. Irritabilidade

De forma geral, os bioinseticidas causaram irritabilidade as operárias de *A. sexdens*, que ficaram em média 5,23% do tempo no lado tratado com o OE de *C. grewioides* e 10,45% do tempo do lado tratado com o eugenol. O inseticida deltametrina não causou irritabilidade nos insetos, as operárias passaram em média 53,4% do tempo no lado tratado ($p = 0,015$) (Figura 8).

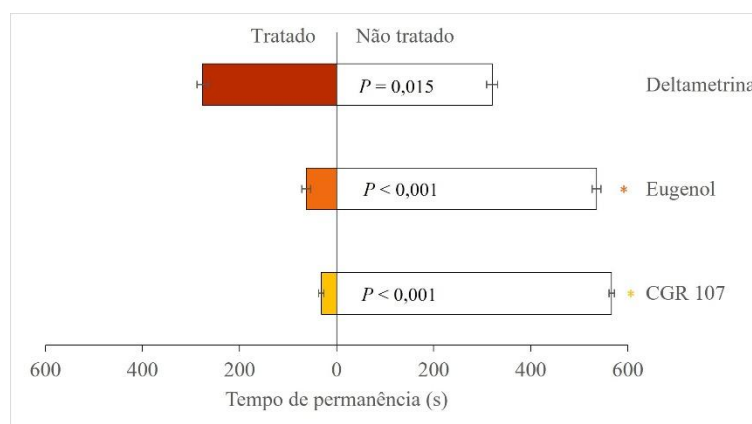


Figura 8: Tempo médio de permanência das operárias de *Atta sexdens* em cada lado da arena parcialmente tratadas com a concentração de 0,1% do óleo essencial de *Croton grewioides* (CGR 107), seu composto majoritário eugenol e a deltametrina. Histogramas seguidos por asterisco indicam que houve diferença no tempo de permanência das operárias entre o lado tratado e o não tratado por um período de 600s, pelo teste de Dunn ($p < 0,05$).

Os óleos essenciais possuem efeitos de irritabilidade descritos, por serem voláteis durante a sua evaporação, eles são capazes de criar barreiras e evitam que o inseto entre em contato com superfícies contaminadas. Esses efeitos estão ligados à composição química dos óleos essenciais, nos quais monoterpenos e sesquiterpenos estão presentes, pois eles são capazes de ativar os receptores olfativos dos insetos (Bakkali *et al.*, 2008; Isman, 2006; Nerio, Olivero-Verbel e Stashenko, 2010; Regnault-Roger, Vincent e Arnason, 2012).

O eugenol é um dos compostos que atuam bloqueando os canais de sódio do sistema nervoso dos insetos, provocando efeitos irritantes (Enan, 2001), explicando a irritabilidade causada também pelo OE de *C. grewioides*, já que é o seu composto majoritário, além disso o OE pode ter apresentado uma irritabilidade maior que o eugenol devido à ação de outros

compostos presentes no óleo atuando em outros sítios de ação no sistema nervoso do inseto (Nerio, Olivero-Verbel e Stashenko, 2010; Regnault-Roger, Vincent e Arnason, 2012; Tong e Bloomquist, 2013).

5.7. Transferência Horizontal

Na transferência horizontal dos compostos, a mistura de indivíduos mortos expostos a DL_{90} dos compostos do OE de *C. grewioides*, eugenol e a deltametrina, com indivíduos vivos reduziu significativamente a sobrevivência das operárias de *A. sexdens* ao longo do tempo ($\chi^2 = 492,3$; g.l. = 7; $p < 0,001$). Todos os tratamentos, nas duas proporções diferiram do controle. Não houve diferenças estatísticas significativas entre as curvas de sobrevivência nas duas proporções (1:20 e 1:5) do tratamento do OE de *C. grewioides* e o eugenol ($p < 0,001$), assim como não houve diferenças entre as proporções 1:20 dos tratamentos deltametrina e OE de *C. grewioides*.

O maior tempo de transferência horizontal ocorreu nas operárias quando foram expostas ao tratamento deltametrina na proporção 1:5, necessitando de 75,3 horas ($IC_{95\%} = 72,8 - 77,7$) para que o composto matasse 50% dos indivíduos (Figura 9).

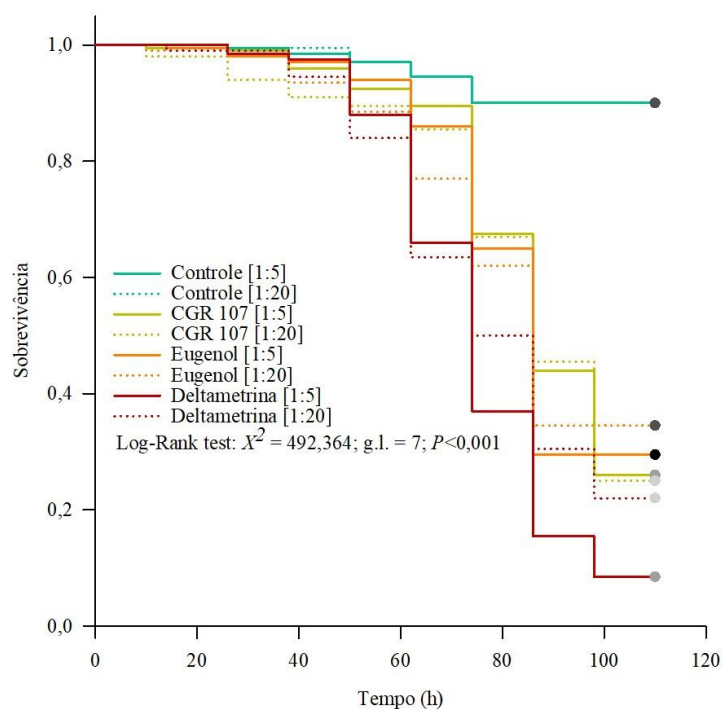


Figura 9: Curvas de sobrevivência e tempos letais (TL₅₀) de *Atta sexdens* expostas a cadáveres das operárias expostas DL₉₀ do óleo essencial de *Croton grewoides* (CGR 107), seu composto majoritário eugenol e a deltametrina, em duas proporções [1:20] e [1:5], um cadáver para 20 operárias vivas e cinco cadáveres para 20 operárias vivas, respectivamente. As curvas de sobrevivência foram feitas pelo método de Holm-Sidak com nível de significância de 0,05.

Não houve alteração no comportamento de antenação nos tratamentos com OE de *C. grewoides* quando comparados com o controle. Dessa maneira a dispersão desse composto por transferência horizontal entre as operárias é facilitada (Zhang *et al.*, 2022), e quando associada à toxicidade do OE de *C. grewoides* e seu tempo letal, é capaz de causar uma maior mortalidade de operárias dentro da colônia e alterar ou interferir no fluxo de operárias nas trilhas de forrageamento (Oliveira *et al.*, 2011).

6. Conclusão

Os resultados deste estudo indicam que o OE de *Croton grewoides* e seu composto majoritário, o eugenol, exercem efeitos significativos sobre a mortalidade das operárias de *Atta sexdens*. Ambos os compostos alteraram os comportamentos sociais essenciais, incluindo autolimpeza, antenação, evitação e atração, interferindo nas interações e na comunicação entre as operárias. Esses resultados demonstram o potencial dos OEs como alternativas viáveis no controle de FCs, com a vantagem de causarem menos impactos ambientais do que os inseticidas sintéticos tradicionais.

7. Referências

- ALBUQUERQUE, E. L. D.; LIMA, J. K. A.; SOUZA, F. H. O.; SILVA, I. M. A.; SANTOS, A. A.; ARAÚJO, A. P. A.; BLANK, A. F.; LIMA, R. N.; ALVES, P. B.; BACCI, L. Insecticidal and repellence activity of the essential oil of *Pogostemon cablin* against urban ants species. **Acta Tropica**, v. 127, n. 3, p. 181–186, set. 2013.
- AMANTE, E. Prejuízos causados pela formiga saúva em plantações de *Eucalyptus* e *Pinus* no estado de São Paulo. **Silvicultura em São Paulo**, v. 6, p. 355–363, 1967.
- ANJOS, N. DOS; LUCIA, T. M. C. DELLA; NUNES, A. J. M. Guia prático sobre formigas cortadeiras em reflorestamentos. 1998. 100p.
- ANTUNES, L. R.; JUNQUEIRA, L. R.; MENDES, J. E. P.; CAMARGO, M. B.; SOLIMAN, E. P.; MARANGOM, C. B.; TANGANELI, K. M. Derrogação para uso de Deltametrina, Fenitrothion, Fipronil e Sulfluramida em florestas certificadas FSC® no Brasil. **IPEF**, v. 4, p. 1–38, fev. 2016.
- ARAÚJO, M. S.; DELLA, T. M. C.; SOUZA, J. D. Estratégias alternativas de controle de formigas cortadeiras. **Revista Bahia Agrícola**, v. 6, n.1, p. 71-74, nov. 2003.
- ARAÚJO, M. S.; PEREIRA, J. M. M.; GANDRA, L. C.; RIBEIRO, M. M. R.; OLIVEIRA, M. A. Predadores e outros organismos associados aos ninhos de formigas cortadeiras. Em: LUCIA, DELLA (Ed.). **Formigas Cortadeiras: da bioecologia ao manejo**. Viçosa: Editora Folha de Viçosa, 2011. p. 312–319.
- ARRUDA, F. V; TERESA, F. B.; MARTINS, H. C.; PESQUERO, M. A.; BRAGANÇA, M. A. L. Seasonal and Site Differences in Phorid Parasitoidism Rates of Leaf-Cutting Ants. **Environmental Entomology**, v. 48, n. 1, p. 61–67, 13 fev. 2019.
- ASHRAF, M. A. Persistent organic pollutants (POPs): a global issue, a global challenge. **Environmental Science and Pollution Research**, v. 24, n. 5, p. 4223–4227, 15 Fev. 2017.
- AUGUSTIN, J. O.; DIEHL, E.; SAMUELS, R. I.; ELLIOT, S. L. Fungos parasitas de formigas-cortadeiras e do fungo mutualístico. Em: LUCIA, T. M. C. DELLA (Ed.). **Formigas-cortadeiras: da bioecologia ao manejo**. Viçosa: Editora Folha de viçosa, 2011. p. 285–307.
- AUGUSTIN, J. O.; SANTOS, J. F. L.; ELLIOT, S. L. A behavioral repertoire of *Atta sexdens* (Hymenoptera, Formicidae) queens during the claustral founding and ergonomic stages. **Insectes Sociaux**, v. 58, n. 2, p. 197–206, 12 maio 2011.
- BACCI, L.; LIMA, J. K. A.; ARAÚJO, A. P. A.; BLANK, A. F.; SILVA, I. M. A.; SANTOS, A. A.; SANTOS, A. C. C.; ALVES, P. B.; PICANÇO, M. C. Toxicity, behavior impairment, and repellence of essential oils from pepper-rosmarin and *patchouli* to termites. **Entomologia Experimentalis et Applicata**, v. 156, n. 1, p. 66–76, 27 jul. 2015.
- BAKER, B. P.; GRANT, J. A. Eugenol Profile. **New York State Integrated Pest Management**, Cornell University, Geneva NY, p. 15, 2018.

- BAKKALI, F.; AVERBECK, S.; AVERBECK, D.; IDAOMAR, M. Biological effects of essential oils – A review. **Food and Chemical Toxicology**, v. 46, n. 2, p. 446–475, fev. 2008.
- BARBIERI, R. F. Ant group effects on the insecticide and dye flow among *Atta sexdens rubropilosa* (hymenoptera: Formicidae) workers. **Sociobiology**, Chico: California State Univ, v. 54, n. 2, p. 589-600, 2009.
- BOARETTO, M. A. C.; FORTI, L. C. Perspectivas no controle de formigas cortadeiras. **SÉRIE TÉCNICA IPEF** v. 11, n. 30, p. 31-46, mai., 1997.
- BORBA, R. DA S.; LOECK, A. E.; BANDEIRA, J. DE M.; MORAES, C. L.; CENTENARO, E. D. Crescimento do fungo simbiote de formigas cortadeiras do gênero *Acromyrmex* em meios de cultura com diferentes extratos. **Ciência Rural**, v. 36, n. 3, p. 725–730, jun. 2006.
- BRAGANÇA, M. A. L.; SOUZA, M. L. O.; OLIVEIRA, R. J.; SAMUELS, R. I. Phorid fly parasitism rates vary between individual colonies of the leaf-cutting ant *Atta laevigata*. **Agricultural and Forest Entomology**, v. 25, n. 4, p. 558–570, 16 nov. 2023.
- BRITO, F. DE A.; BACCI, L.; SANTANA, A. DA S.; SILVA, J. E. DA; NIZIO, D. A. DE C.; NOGUEIRA, P. C. DE L.; ARRIGONI-BLANK, M. DE F.; MELO, C. R.; MELO, J. O. DE; BLANK, A. F. Toxicity and behavioral alterations caused by essential oils of *Croton tetradenius* and their major compounds on *Acromyrmex balzani*. **Crop Protection**, v. 137, p. 105259, nov. 2020.
- BRITTO; OLIVEIRA, M. A. DE; ZANETTI, R.; WILCKEN, C. F.; ZANUNCIO, J. C.; LOECK, A. E.; CALDATO, N.; NAGAMOTO, N. S.; LEMES, P. G.; CAMARGO, R. DA S. Use of alternatives to PFOS, its salts and PFOSF for the control of leaf-cutting ants *Atta* and *Acromyrmex*. **IJRES**, v. 3, p. 11–92, 2016
- CAMARGO, R. S; MOREIRA, A. A; BOARETTO, C. M Eficiencia de sulfluramida, fipronil y clorpirifos como sebos en el control de *Atta capiguara* Gonçalves (Hymenoptera: Formicidae). **Artículos Científicos**, p. 28, 2003.
- CASTILHO, A. M. C.; FRAGA, M. E.; AGUIAR-MENEZES, E. DE L.; ROSA, C. A. DA R. Seleção de isolados de *Metarhizium anisopliae* e *Beauveria bassiana* patogênicos a soldados de *Atta bisphaerica* e *Atta sexdens rubropilosa* em condições de laboratório. **Ciência Rural**, v. 40, n. 6, p. 1243–1249, 9 jul. 2010.
- COSTA, Â. C. F.; CAVALCANTI, S. C. H.; SANTANA, A. S.; LIMA, A. P. S.; SANTANA, E. D. R.; BRITO, T. B.; OLIVEIRA, R. R. B.; MACÊDO, N. A.; CRISTALDO, P. F.; BACCI, L. Formicidal activity of indole derivatives on *Atta opaciceps* (Borgmeier): Lethal, behavioural and locomotive effects. **Journal of Applied Entomology**, v. 143, n. 1–2, p. 58–68, 24 fev. 2019.
- CRISTIANO, M. P.; CARDOSO, D. C.; SANDOVAL-GÓMEZ, V. E.; SIMÕES-GOMES, F. C. *Amoimyrmex* Cristiano, Cardoso & Sandoval, gen. nov. (Hymenoptera: Formicidae): a new genus of leaf-cutting ants revealed by multilocus molecular phylogenetic and morphological analyses. **Austral Entomology**, v. 59, n. 4, p. 643–676, 5 nov. 2020.

CURRIE, C. R.; MUELLER, U. G.; MALLOCH, D. The agricultural pathology of ant fungus gardens. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 96, n. 14, p. 7998–8002, 6 jul. 1999.

DANTAS; CAVALCANTI, S. C. H.; ARAÚJO, A. P. A.; BLANK, A. F.; SILVA, J. E.; PIKANÇO, M. C.; LIMA, E.; ANDRADE, V. S.; BRITO, T. B.; BACCI, L. Synthetic Carvacrol Derivatives for the Management of *Solenopsis* Ants: Toxicity, Sublethal Effects, and Horizontal Transfer. **Agriculture**, v. 13, n. 10, p. 1988, 13 out. 2023b.

DANTAS; CAVALCANTI, S. C. H.; ARAÚJO, A. P. A.; SILVA, J. E.; BRITO, T. B.; ANDRADE, V. S.; PINHEIRO, H. S. S.; TAVARES, S. R. S. A.; BLANK, A. F.; BACCI, L. Formicidal Potential of Thymol Derivatives: Adverse Effects on the Survival and Behavior of *Acromyrmex balzani*. **Agriculture**, v. 13, n. 7, p. 1410, 16 jul. 2023a.

DELLA LUCIA, T. M. C.; ARAÚJO, M. S. Fundação e estabelecimento de formigueiros. Em: 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. **As formigas cortadeiras**. Viçosa: Editora Folha de Viçosa, 1993.

DELLA LUCIA, T. M. C.; SOUZA, J. S. **Formigas-Cortadeiras: da bioecologia ao manejo**. Della Lucia. M T. C. ed. Viçosa - MG: Editora UFV, 2011. 421 p.

DELLA LUCIA, T. M.; GANDRA, L. C.; GUEDES, R. N. Managing leaf-cutting ants: Peculiarities, trends and challenges. **Pest Management Science**, v. 70, n. 1, p. 14–23, jan. 2014.

ENAN, E. Insecticidal activity of essential oils: octopaminergic sites of action. **Comparative Biochemistry and Physiology Part C: Toxicology & Pharmacology**, v. 130, n. 3, p. 325–337, Nov. 2001.

FANG, C.-C.; MUELLER, U. G. A new type of egg produced by foundress queens of *Atta texana* (Attini, Formicidae). **Insectes Sociaux**, v. 66, n. 4, p. 601–609, 20 nov. 2019.

FARJI-BRENER, A. G.; RUGGIERO, A. Leaf-Cutting Ants (*Atta* and *Acromyrmex*) Inhabiting Argentina: Patterns in Species Richness and Geographical Range Sizes. **Journal of Biogeography**, v. 21, n. 4, p. 391, jul. 1994.

FEITOSA-ALCANTARA, R.; BACCI, L.; BLANK, A.; ALVES, P.; SILVA, I.; SOARES, C.; SAMPAIO, T.; NOGUEIRA, P.; ARRIGONI-BLANK, M. Essential Oils of *Hyptis pectinata* Chemotypes: Isolation, Binary Mixtures and Acute Toxicity on Leaf-Cutting Ants. **Molecules**, v. 22, n. 4, p. 621, 12 abr. 2017.

FJERDINGSTADT, E. J.; BOOMSMA, J. J. Queen mating frequency and relatedness in young *Atta sexdens* colonies. **Insectes Sociaux**, v. 47, n. 4, p. 354–356, nov. 2000.

FORTI, C. L.; MOREIRA, A. A.; ANDRADE, A. P.; CASTELLANI, M. A.; CADALTO, N. Nidificação e arquitetura de ninhos de formigas-cortadeiras. Em: LUCIA, T. M. C. DELLA (Ed.). **Formigas-cortadeiras: da bioecologia ao manejo**. Viçosa Minas Gerais: Editora UFV, 2011. p. 103–125.

FOWLER, H. G.; PAGANI, M. I.; SILVA, O. A. DA; FORTI, L. C.; SILVA, V. P. DA; VASCONCELOS, H. L. DE. A pest is a pest is a pest? The dilemma of neotropical leaf-cutting ants: Keystone taxa of natural ecosystems. **Environmental Management**, v. 13, n. 6, p. 671–675, nov. 1989.

FREITAS, S.; BERTI FILHO, E. Efeito do desfolhamento no crescimento de *Eucalyptus grandis hill ex maiden* (Myrtaceae). **IPEF**, n.47, p.36-43, mai.1994

FSC. **Decisão sobre Derrogação de Pesticidas Publicada | Forest Stewardship Council**. Disponível em: <<https://br.fsc.org/br-pt/newsfeed/decisao-sobre-derrogacao-de-pesticidas-publicada>>. Acesso em: 20 fev. 2025.

GALVANHO, J. P.; CARRERA, M. P.; MOREIRA, D. D. O.; ERTHAL, M.; SILVA, C. P.; SAMUELS, R. I. Imidacloprid Inhibits Behavioral Defences of the Leaf-Cutting Ant *Acromyrmex subterraneus subterraneus* (Hymenoptera:Formicidae). **Journal of Insect Behavior**, v. 26, n. 1, p. 1–13, 24 jan. 2013.

GANDRA, L. C.; AMARAL, K. D.; COUCEIRO, J. C.; LUCIA, T. M. DELLA; GUEDES, R. N. Mechanism of leaf-cutting ant colony suppression by fipronil used in attractive toxic baits. **Pest Management Science**, v. 72, n. 8, p. 1475–1481, 29 ago. 2016.

GEROLT, P. Insecticides: their route of entry, mechanism of transport and mode of action. **Biological Reviews**, v. 58, n. 2, p. 233–274, 21 maio 1983.

HÖLLDOBLER, B.; WILSON, E. O. The Ants. Berlin, Heidelberg: **Springer Berlin Heidelberg**, v. 1 p. XIII, 732, 1990.

IBAMA. **Ibama suspende cautelarmente aplicação de agrotóxicos à base de fipronil – Ibama**. Disponível em: <<https://www.gov.br/ibama/pt-br/assuntos/notas/2024/ibama-suspende-cautelarmente-aplicacao-de-agrotoxicos-a-base-de-fipronil>>. Acesso em: 22 fev. 2025.

IRAC – INSECTICIDE RESISTANCE ACTION COMMITTEE. **Mode of Action Classification Scheme**. 2022. Disponível em: <https://www.irac-online.org/modes-of-action/>. Acesso em: 11 abr. 2025.

IRAC-BR. **Modo de ação | IRAC-BR**. Disponível em: <<https://www.irac-br.org/modo-de-acao>>. Acesso em: 10 abr. 2025.

ISMAN, M. B. Botanical Insecticides in the Twenty-First Century—Fulfilling Their Promise? **Annual Review of Entomology**, v. 65, n. 1, p. 233–249, 7 jan. 2020.

ISMAN, M. B. Botanical insecticides, deterrents, and repellents in modern agriculture and an increasingly regulated world. **Annual Review of Entomology**, v. 51, n. 1, p. 45–66, 1 jan. 2006.

JOHN C MOSER, Escavação completa e mapeamento de um ninho de formigas cortadeiras do Texas, **Anais da Sociedade Entomológica da América**, V. 99, Edição 5, 1 Set. 2006, p. 891–897

- JUMBO, L. O. V. **Atividade inseticida e de repelência de óleos essenciais de cravo e canela sobre o caruncho *Acanthoscelides obtectus* (Say)**, 2013. Disponível em: <[https://locus.ufv.br/server/api/core/bitstreams/6493f78645354d4f82bac6b427ba4716/content#:~:text=.%20\(2009\)%20sugeriram%20que%20o%20eugenol%20%C3%A9,atua%20como%20neuro%2Dhorm%C3%B4nio%2C%20neuromodulador%20e%20neurotransmissor%20em.](https://locus.ufv.br/server/api/core/bitstreams/6493f78645354d4f82bac6b427ba4716/content#:~:text=.%20(2009)%20sugeriram%20que%20o%20eugenol%20%C3%A9,atua%20como%20neuro%2Dhorm%C3%B4nio%2C%20neuromodulador%20e%20neurotransmissor%20em.)> Acesso em: 20 mar. 2025
- KELLER, L. Social life: the paradox of multiple-queen colonies. **Trends in Ecology & Evolution**, v. 10, n. 9, p. 355–360, set. 1995.
- KERMARREC, A.; DECHARME, M.; FEBVAY, G. Leaf-cutting symbiotic fungi: a synthesis of recent research. In **Fire ants and leaf-cutting ants (Studies in insect biology)**; Clifford, S.; Vander Meer, R.K., Eds.; Westview Press: NY, USA, 1986; p. 231-246.
- LEMES, P. G.; ZANUNCIO, J. C.; SERRÃO, J. E.; LAWSON, S. A. Forest Stewardship Council (FSC) pesticide policy and integrated pest management in certified tropical plantations. **Environmental Science and Pollution Research**, v. 24, n. 2, p. 1283–1295, 22 jan. 2017.
- LOPES, G. A. Política de uso de agroquímicos adotada pelo FSC. **Revista Opiniões**, 2009. Disponível em: [Política de uso de agroquímicos adotada pelo FSC](#), acesso em: 15 fev. 2025.
- LUKAN, D.; SOUSA, N. J.; SOUZA, P. G. DE; LIMA, P. P. DOS S. IDENTIFICAÇÃO DE ESPÉCIES DE FORMIGAS CORTADEIRAS EM PLANTIOS DE *Eucalyptus urograndis*. **FLORESTA**, v. 40, n. 4, 23 dez. 2010.
- LUU-DAM, N. A.; LE, C. V. C.; SATYAL, P.; LE, T. M. H.; BUI, V. H.; VO, V. H.; NGO, G. H.; BUI, T. C.; NGUYEN, H. H.; SETZER, W. N. Chemistry and Bioactivity of *Croton* Essential Oils: Literature Survey and *Croton hirtus* from Vietnam. **Molecules**. v. 28, n. 5, p. 2361, 3 mar. 2023.
- MARINHO, C. G. S.; RIBEIRO, M. M. R.; LUCIA, T. M. C. DELLA; GUEDES, R. N. C. Aggressive Response of Pest Ant Species to β -eudesmol (Hymenoptera: Formicidae). **Sociobiology**, v. 47, 2006.
- MARSARO JR., A. L.; MOLINA-RUGAMA, A. J.; LIMA, C. A.; LUCIA, T. M. C. DELLA. Preferência de corte de *Eucalyptus* spp. por *Acromyrmex laticeps nigrosetosus* Forel, 1908 (Hymenoptera: formicidae) em condições de laboratório. **Ciência Florestal**, v. 17, n. 2, p. 171–174, 30 jun. 2007.
- MARSARO JR., A. L.; SOUZA, R. C.; LUCIA, T. M. C. DELLA; FERNANDES, J. B.; SILVA, M. F. G. F.; VIEIRA, P. C. Behavioral Changes in Workers of the Leaf-Cutting Ant *Atta sexdens rubropilosa* Induced by Chemical Components of *Eucalyptus maculata* Leaves. **Journal of Chemical Ecology**, v. 30, n. 9, p. 1771–1780, set. 2004.
- MATRANGOLO, C. A. R.; CASTRO, R. V. O.; LUCIA, T. M. C. DELLA; LUCIA, R. M. DELLA; MENDES, A. F. N.; COSTA, J. M. F. N.; LEITE, H. G. Crescimento de eucalipto sob efeito de desfolhamento artificial. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 45, n. 9, p. 952–957, set. 2010.

- MELO, C. R.; BLANK, A. F.; OLIVEIRA, B. M. S.; SANTOS, A. C. C.; CRISTALDO, P. F.; ARAÚJO, A. P. A.; BACCI, L. Formicidal activity of essential oils of *Myrcia lundiana* chemotypes on *Acromyrmex balzani*. **Crop Protection**, v. 139, p. 105343, jan. 2021.
- MENEZES, G. S. **Óleos essenciais de *Croton grewoides* e seus compostos majoritários: efeitos letais e subletais sobre o cupim *Nasutitermes corniger* (Blattodea: Isoptera)**. São Cristóvão, 2023.
- MOINO JR., A.; ALVES, S. B.; LOPES, R. B.; NEVES, P. M. O. J.; PEREIRA, R. M.; VIEIRA, S. A. External development of the entomopathogenic fungi *Beauveria bassiana* and *Metarhizium anisopliae* in the subterranean termite *Heterotermes tenuis*. **Scientia Agricola**, v. 59, n. 2, p. 267–273, jun. 2002.
- MONTOYA-LERMA, J.; GIRALDO-ECHEVERRI, C.; ARMBRECHT, I.; FARJI-BRENER, A.; CALLE, Z. Leaf-cutting ants revisited: Towards rational management and control. **International Journal of Pest Management**, v. 58, n. 3, p. 225–247, set. 2012.
- MOREIRA, A. A.; FORTI, L.; ANDRADE, A. P. P. DE; BOARETTO, M. A. C.; RAMOS, V. M.; LOPES, J. F. S. Comparação entre parâmetros externos e internos de ninhos de *Atta bisphaerica*; Forel, 1908 (Hymenoptera, Formicidae). **Acta Scientiarum. Biological Sciences**, v. 24, p. 369–373, 2008.
- MOREIRA, A. A.; FORTI, L.; BOARETTO, M.; ANDRADE, A.; LOPES, J.; RAMOS, V. External and internal structure of *Atta bisphaerica* Forel (Hymenoptera: Formicidae) nests. **Journal of Applied Entomology**, v. 128, p. 204–211, 1 abr. 2004.
- MOTA FILHO, T. M. M.; CAMARGO, R. DA S.; STEFANELLI, L. E. P.; ZANUNCIO, J. C.; SANTOS, A. DOS; MATOS, C. A. O. DE; FORTI, L. C. Allogrooming, Self-grooming, and Touching Behavior as a Mechanism to Disperse Insecticides Inside Colonies of a Leaf-Cutting Ant. **Neotropical Entomology**, v. 51, n. 1, p. 73–80, 17 fev. 2022.
- MOUTINHO, P.; NEPSTAD, D. C.; DAVIDSON, E. A. Influence of leaf-cutting ant nests on secondary forest growth and soil properties in Amazonia. **Ecology**, v. 84, n. 5, p. 1265–1276, 2003.
- MUCHOVEJ, J. J.; LUCIA, T. M. DELLA; MUCHOVEJ, R. M. C. *Leucoagaricus weberi* sp. nov. from a live nest of leaf-cutting ants. **Mycological Research**, v. 95, n. 11, p. 1308–1311, nov. 1991.
- MUELLER, U. G.; REHNER, S. A.; SCHULTZ, T. R. The Evolution of Agriculture in Ants. **Science**, v. 281, n. 5385, p. 2034–2038, 25 set. 1998.
- NERIO, L. S.; OLIVERO-VERBEL, J.; STASHENKO, E. Repellent activity of essential oils: A review. **Bioresource Technology**, v. 101, n. 1, p. 372–378, jan. 2010.
- NICKELE, M. A.; PIE, M. R.; REIS FILHO, W.; PENTEADO, S. DO R. C. Formigas cultivadoras de fungos: estado da arte e direcionamento para pesquisas futuras. **Pesquisa Florestal Brasileira**, v. 33, n. 73, p. 53–72, 31 mar. 2013.
- OLIVEIRA, A. P.; SANTOS, A. A.; SANTANA, A. S.; LIMA, A. P. S.; MELO, C. R.; SANTANA, E. D. R.; SAMPAIO, T. S.; BLANK, A. F.; ARAÚJO, A. P. A.; CRISTALDO, P.

F.; BACCI, L. Essential oil of *Lippia sidoides* and its major compound thymol: Toxicity and walking response of populations of *Sitophilus zeamais* (Coleoptera: Curculionidae). **Crop Protection**, v. 112, p. 33–38, out. 2018.

OLIVEIRA, B.; MELO, C.; ALVES, P.; SANTOS, ABRAÃO; SANTOS, ANE; SANTANA, A.; ARAÚJO, A.; NASCIMENTO, P.; BLANK, A.; BACCI, L. Essential Oil of *Aristolochia trilobata*: Synthesis, Routes of Exposure, Acute Toxicity, Binary Mixtures and Behavioral Effects on Leaf-Cutting Ants. **Molecules**, v. 22, n. 3, p. 335, 25 fev. 2017.

OLIVEIRA, M. A.; ARAÚJO, M. S.; MARINHO, C. G. S.; RIBEIRO, M. M. R.; LUCIA, T. M. C. DELLA. Manejo de formigas-cortadeiras. Em: LUCIA, T. M. C. DELLA (Ed.). **Formigas-cortadeiras: da bioecologia ao manejo**. Viçosa: Editora UFV, 2011. p. 400–419.

OLIVEIRA, S. D. D. S.; OLIVEIRA E SILVA, A. M. DE; BLANK, A. F.; NOGUEIRA, P. C. D. L.; NIZIO, D. A. D. C.; ALMEIDA-PEREIRA, C. S.; PEREIRA, R. O.; MENEZES-SÁ, T. S. A.; SANTANA, M. H. D. S.; ARRIGONI-BLANK, M. D. F. Radical scavenging activity of the essential oils from *Croton grewoides* Baill accessions and the major compounds eugenol, methyl eugenol and methyl chavicol. **Journal of Essential Oil Research**, v. 33, n. 1, p. 94–103, 2 jan. 2021.

PAVELA, R.; BENELLI, G. Essential Oils as Ecofriendly Biopesticides? Challenges and Constraints. **Trends in Plant Science**, v. 21, n. 12, p. 1000–1007, dez. 2016.

PINHEIRO, H. S. S.; SANTOS, V. B. DOS; SANTOS, E. J. S. DOS; ROLIM, G. DA S.; SANTOS, Í. T. B. F. DOS; SANTANA, L. K. N. DE; OLIVEIRA, M. DE F. S. DOS S. DE; PODEROSO, J. C. M.; NOGUEIRA, P. C. DE L.; BACCI, L.; RIBEIRO, G. T. Insecticidal and fungicidal activity of *Cymbopogon citratus* (Poaceae) essential oil on *Atta sexdens* colonies. **Scientia Plena**, v. 20, n. 3, 22 abr. 2024.

POTRICH, M.; ALVES, L. F. A.; HAAS, J.; SILVA, E. R. L. DA; DAROS, A.; PIETROWSKI, V.; NEVES, P. M. O. J. Seletividade de *Beauveria bassiana* e *Metarhizium anisopliae* a *Trichogramma pretiosum* Riley (Hymenoptera: Trichogrammatidae). **Neotropical Entomology**, v. 38, n. 6, p. 822–826, dez. 2009.

PRICE, D. N.; BERRY, M. S. Comparison of effects of octopamine and insecticidal essential oils on activity in the nerve cord, foregut, and dorsal unpaired median neurons of cockroaches. **Journal of Insect Physiology**, v. 52, n. 3, p. 309–319, mar. 2006.

REGNAULT-ROGER, C.; VINCENT, C.; ARNASON, J. T. Essential Oils in Insect Control: Low-Risk Products in a High-Stakes World. **Annual Review of Entomology**, v. 57, n. 1, p. 405–424, 7 jan. 2012.

REIS FILHO, WILSON.; NICKELE, M. APARECIDA.; STRAPASSON, PRISCILA. **Combate as formigas cortadeiras**. Curitiba: SENAR-PR. p. 48, 2011.

RIBEIRO, G. T.; WOESSNER, A. R. Estudos sobre a biologia de saúveiros iniciais de *Atta sexdens sexdens* (Linnaeus, 1758) (Hymenoptera, Formicidae). **Anais da SEB.**, v. 11, n. 1, p. 49–56, 1982.

ROCHA, A. G.; OLIVEIRA, B. M. S.; MELO, C. R.; SAMPAIO, T. S.; BLANK, A. F.; LIMA, A. D.; NUNES, R. S.; ARAÚJO, A. P. A.; CRISTALDO, P. F.; BACCI, L. Lethal

Effect and Behavioral Responses of Leaf-Cutting Ants to Essential Oil of *Pogostemon cabli* (Lamiaceae) and Its Nanoformulation. **Neotropical Entomology**, v. 47, n. 6, p. 769–779, 11 dez. 2018.

RODRIGUES, T. C. **Caracterização química e atividade antimicrobiana de óleos essenciais de *Croton grewoides* Baill. sobre o fitopatógeno *Xanthomonas campestris* pv. *campestris***. 2022. 47 p. Dissertação (Mestrado em Agricultura e Biodiversidade) - Universidade Federal de Sergipe, São Cristóvão, SE, 2022. Disponível em: <https://ri.ufs.br/jspui/handle/riufs/17949>. Acesso em: 25 fev. 2025.

RUSTAMOVA, N.; BOBAKULOV, K.; BEGMATOV, N.; TURAK, A.; YILI, A.; AISA, H. A. Secondary metabolites produced by endophytic *Pantoea ananatis* derived from roots of *Baccharoides anthelmintica* and their effect on melanin synthesis in murine B16 cells. **Natural Product Research**, v. 35, n. 5, p. 796–801, 4 mar. 2021.

SANTOS NETO, Alvaro dos. **Competição por recursos pelo parasita fúngico *Escovopsis***. 2018. 30 f. Trabalho de conclusão de curso (bacharelado - Ciências Biológicas) - Universidade Estadual Paulista Julio de Mesquita Filho, Instituto de Biociências (Campus de Rio Claro), 2018.

SANTOS, N. C. **Bioatividade de óleos essenciais de *Croton grewoides* e seus compostos majoritários: toxicidade sobre *Chrysodeixis includens* e seletividade sobre o predador *Podisus nigrispinus***. 2021. 48 f. Dissertação (Mestrado em Agricultura e Biodiversidade) - Universidade Federal de Sergipe, São Cristóvão, SE, 2021 Disponível em: <https://ri.ufs.br/jspui/handle/riufs/17966>. Acesso em: 25 fev. 2025.

SANTOS, N. C.; SILVA, J. E. DA; SANTOS, A. C. C.; DANTAS, J. DE O.; TAVARES, S. R. S. A.; ANDRADE, V. S.; OLIVEIRA, S. D. DA S.; BLANK, A. F.; ARAÚJO, A. P. A.; BACCI, L. Bioactivity of essential oils from *Croton grewoides* and its major compounds: toxicity to soybean looper *Chrysodeixis includens* and selectivity to the predatory stink bug *Podisus nigrispinus*. **Environmental Science and Pollution Research**, v. 30, n. 7, p. 18798–18809, 11 out. 2022.

SCHOWALTER, T. D.; RING, D. R. Biology and Management of the Texas Leafcutting Ant (Hymenoptera: Formicidae). **Journal of Integrated Pest Management**, v. 8, n. 1, jan. 2017.

SCHULTZ, T.R.; SOSA-CALVO, J.; KWESKIN, M.P.; LLOYD, M.W.; DENTINGER, B.; KOOIJ, P.W.; VELLINGA, E.C.; REHNER, S.A.; RODRIGUES, A.; MONTOYA, Q.V.; A coevolução da agricultura de fungos-formigas. **Ciência** 386, 105–110 2024.

SEMEÃO, A.; PICANÇO, M.; GABRIELA, C.; MARINHO, S. Fatores que dificultam o controle das formigas cortadeiras. **Bahia Agrícola**, v. 7, n. 2, p. 2–5, 2006.

SILVA, A.; BACCI, M.; GOMES DE SIQUEIRA, C.; CORREA BUENO, O.; PAGNOCCA, F. C.; APARECIDA HEBLING, M. J. Survival of *Atta sexdens* workers on different food sources. **Journal of Insect Physiology**, v. 49, n. 4, p. 307–313, 1 abr. 2003.

SILVA, A.; BACCI, M.; GOMES DE SIQUEIRA, C.; CORREA BUENO, O.; PAGNOCCA, F. C.; APARECIDA HEBLING, M. J. Survival of *Atta sexdens* workers on different food sources. **Journal of Insect Physiology**, v. 49, n. 4, p. 307–313, 1 abr. 2003.

- SILVA, C. G. V.; ZAGO, H. B.; JÚNIOR, H. J. G. S.; CAMARA, C. A. G. DA; OLIVEIRA, J. V. DE; BARROS, R.; SCHWARTZ, M. O. E.; LUCENA, M. F. A. Composition and Insecticidal Activity of the Essential Oil of *Croton grewoides* Baill. against Mexican Bean Weevil (*Zabrotes subfasciatus* Boheman). **Journal of Essential Oil Research**, v. 20, n. 2, p. 179–182, mar. 2008.
- SILVA, D. C.; ARRIGONI-BLANK, M. DE F.; BACCI, L.; BLANK, A. F.; NUNES FARO, R. R.; OLIVEIRA PINTO, J. A.; GARCIA PEREIRA, K. L. Toxicity and behavioral alterations of essential oils of *Eplingiella fruticosa* genotypes and their major compounds to *Acromyrmex balzani*. **Crop Protection**, v. 116, p. 181–187, fev. 2019.
- SILVA, J. S.; SALES, M. F. DE; GOMES, A. P. DE S.; CARNEIRO-TORRES, D. S. Sinopse das espécies de *Croton* L. (Euphorbiaceae) no estado de Pernambuco, Brasil. **Acta Botanica Brasilica**, v. 24, n. 2, p. 441–453, jun. 2010.
- STERNBERG, L. DA S. L.; PINZON, M. C.; MOREIRA, M. Z.; MOUTINHO, P.; ROJAS, E. I.; HERRE, E. A. Plants use macronutrients accumulated in leaf-cutting ant nests. **Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences**, v. 274, n. 1608, p. 315–321, 7 fev. 2007.
- SWARTZ, M.B. Predation on an *Atta cephalotes* colony by an army ant *Nomamyrmex esenbecki*. **Biotropica** 1998, n. 30, p. 682–684.
- TINGLE, C. C., ROTHER, J. A., DEWHURST, C. F., LAUER, S., & KING, W. J. Fipronil: destino ambiental, ecotoxicologia e preocupações com a saúde humana. **Revisões de contaminação ambiental e toxicologia**, 176, 1–66. 2003.
- TRIBLE, W.; KRONAUER, D. J. C. Caste development and evolution in ants: it's all about size. **Journal of Experimental Biology**, v. 220, n. 1, p. 53–62, 1 jan. 2017.
- TRINDADE, M. J. S.; LAMEIRA, O. A. Espécies úteis da família Euphorbiaceae no Brasil Species from the Euphorbiaceae family used for medicinal purposes in Brazil. **Revista Cubana de Plantas Medicinales**, v. 19, n. 1, p. 292–309, 2014.
- VASCONCELOS, H. L.; CHERRETT, J. M. Leaf-cutting ants and early forest regeneration in central Amazonia: effects of herbivory on tree seedling establishment. **Journal of Tropical Ecology**, v. 13, n. 3, p. 357–370, 10 maio 1997.
- VILELA, E. F.; LUCIA, M. T. C. DELLA. Feromônios de insetos: biologia, química e emprego no manejo de pragas. **UFV Impr. Univ.**, 1987.
- WARUMBY, J. F.; NETTO, A. M. C. L.; CAVALCANTI, V. A. L. Nota prévia sobre o controle biológico da saúva *Atta sexdens rubropilosa* com o fungo *Beauveria bassiana* em Pernambuco. Em: **Anais do Congresso Brasileiro de Entomologia**. Caxambu, Brasil: Entomological Society of Brazil, 1995. p. 331.
- WEBER, N.A. Formigas de jardinagem: as Attines; **Sociedade Filosófica Americana**: Filadélfia, PA, EUA, 1972; pág. 146.
- WILSON, E. O. Caste and division of labor in leaf-cutter ants (Hymenoptera: Formicidae: *Atta*). **Behavioral Ecology and Sociobiology**, v. 7, n. 2, p. 157–165, jul. 1980.

WILSON, E. O. **The Insect Societies**. Cambridge, Massachusetts: Harvard University Press, 1971. 548p.

WILSON, E. O.; HÖLLDOBLER, B. Eusociality: Origin and consequences. **National Academy of Sciences**, v. 102, n. 38, p. 13367-13371, 2005.

ZANETTI, R.; DIAS, N.; REIS, M.; SOUZA-SILVA, A.; MOURA, M. A. Eficiência de iscas granuladas (sulfluramida 0, 3%) no controle de *Atta sexdens rubropilosa* Forel, 1908 (Hymenoptera: Formicidae). **Ciência e Agrotecnologia**, v. 28, p. 878-882, 2004.

ZANETTI, R.; ZANUNCIO, J. C.; SANTOS, J. C.; SILVA, W. L. P. DA; RIBEIRO, G. T.; LEMES, P. G. An overview of integrated management of leaf-cutting ants (Hymenoptera: Formicidae) in Brazilian forest plantations. **Forests**. MDPI AG, 2014.

ZANUNCIO, J. C.; LEMES, P. G.; ANTUNES, L. R.; MAIA, J. L. S.; MENDES, J. E. P.; TANGANELLI, K. M.; SALVADOR, J. F.; SERRÃO, J. E. The impact of the Forest Stewardship Council (FSC) pesticide policy on the management of leaf-cutting ants and termites in certified forests in Brazil. **Annals of Forest Science**, v. 73, n. 2, p. 205–214, 30 jun. 2016.

ZANUNCIO, J. C.; TORRES, J. B.; GASPERAZZO, L. W.; ZANUNCIO, T. V. Aferição de dosagens de iscas granuladas para controle de *Atta laevigata* (F. Smith) pelo número de olheiros ativos. **Revista Árvore** v. 20 n. 2 p. 241-246, 1996.

ZENG, H.; MILLAR, J. G.; CHEN, L.; KELLER, L.; ROSS, K. G. Characterization of Queen Supergene Pheromone in the Red Imported Fire Ant Using Worker Discrimination Assays. **Journal of Chemical Ecology**, v. 48, n. 2, p. 109–120, 30 fev. 2022.

ZHANG, L.; WANG, L.; CHEN, J.; ZHANG, J.; HE, Y.; LU, Y.; CAI, J.; CHEN, X.; WEN, X.; XU, Z.; WANG, C. Toxicity, horizontal transfer, and physiological and behavioral effects of cycloxaprid against *Solenopsis invicta* (Hymenoptera: Formicidae). **Pest Management Science**, v. 78, n. 6, p. 2228–2239, 7 jun. 2022.