



**MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO
UNIVERSIDADE FEDERAL DE SERGIPE
PRÓ-REITORIA DE PÓS-GRADUAÇÃO E PESQUISA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM AGRICULTURA E BIODIVERSIDADE**

**ATIVIDADE FORMICIDA DE *Aristolochia trilobata* L.
(Aristolochiaceae) SOBRE FORMIGAS CORTADEIRAS**

BRUNA MARIA SANTOS DE OLIVEIRA

2015



**MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO
UNIVERSIDADE FEDERAL DE SERGIPE
PRÓ-REITORIA DE PÓS-GRADUAÇÃO E PESQUISA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM AGRICULTURA E BIODIVERSIDADE**

BRUNA MARIA SANTOS DE OLIVEIRA

**ATIVIDADE FORMICIDA DE *Aristolochia trilobata* L. (Aristolochiaceae) SOBRE
FORMIGAS CORTADEIRAS**

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Sergipe, como parte das exigências do Curso de Mestrado em Agricultura e Biodiversidade, área de concentração em Agricultura e Biodiversidade, para obtenção do título de “Mestre em Ciências”.

Orientador
Prof. Dr. Leandro Bacci

SÃO CRISTÓVÃO
SERGIPE – BRASIL
2015

**FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA BIBLIOTECA CENTRAL
UNIVERSIDADE FEDERAL DE SERGIPE**

O48a

Oliveira, Bruna Maria Santos de

Atividade formicida de *Aristolochia trilobata* L. (Aristolochiaceae) sobre formigas cortadeiras./ Bruna Maria Santos de Oliveira; orientador Leandro Bacci. – São Cristóvão, 2015.

57 f. : il.

Dissertação (mestrado em Agricultura e Biodiversidade) – Universidade Federal de Sergipe, 2015.

1. Aristolochiaceae. 2. Formiga. 3. Inseticidas. 4. Fumigação. 5. Essências e óleos essenciais. I. Bacci, Leandro, orient. II. Título.

CDU 582.674:595.796

BRUNA MARIA SANTOS DE OLIVEIRA

**ATIVIDADE FORMICIDA DE *Aristolochia trilobata* L. (Aristolochiaceae) SOBRE
FORMIGAS CORTADEIRAS**

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Sergipe, como parte das exigências do Curso de Mestrado em Agricultura e Biodiversidade, área de concentração em Agricultura e Biodiversidade, para obtenção do título de “Mestre em Ciências”.

Aprovado em 27 de Fevereiro de 2015.

Prof. Dr. Vinícius Albano Araújo
UFV

Prof.^a Dr.^a Ana Paula Albano Araújo
UFS

Prof. Dr. Leandro Bacci
UFS
(Orientador)

SÃO CRISTÓVÃO
SERGIPE – BRASIL

*A minha família, por todo amor e cuidados.
Especialmente, minha mãe Maria, pelo exemplo de ser humano.*
Dedico

AGRADECIMENTOS

À Universidade Federal de Sergipe – UFS, e à Coordenação de Pós-Graduação em Agricultura e Biodiversidade PPGAGRI pela oportunidade de realização do mestrado;

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) pela concessão da bolsa.

Aos laboratórios de Química e Fitotecnia da UFS que foram essenciais na realização deste trabalho (Daniela, Taís e Pedro), bem como aos professores Péricles Barreto, Arie Blank e Leandro Souto pela colaboração.

Ao comitê de orientação pela disposição e contribuição na dissertação.

A Prof.^a Dra. Ana Paula Albano pela atenção, carinho e contribuição.

Ao Prof. Dr. Leandro Bacci pela orientação e confiança na capacidade de realização deste trabalho, amizade, incentivo e conselhos dedicados. Por acreditar que eu conseguiria chegar até aqui; e sobretudo, porque tornou isso possível. Obrigada pela referência profissional e paterna e por me permitir fazer farte da família Bacciana do qual tenho muito orgulho e gratidão.

A todos do laboratório Clínica Fitossanitária da UFS: Abraão, Alexandre, Alisson, Anderson, Ângela, Ane Caroline, Ana Paula, Bia, Carlisson, Emyle, Morgana, Lázara e Ruan por tornarem os meus dias melhores, divertidos e especialmente pela ajuda fundamental nessa jornada. Não esquecerei cada momento... Agradeço a amizade, carinho e amor verdadeiro construído de forma recíproca, obrigada por me receberem e acolherem como parte dessa família.

Aos amigos atuais e antigos... Que mesmo distante sempre se fizeram presentes.

À minha família por nunca terem me deixado desistir. Vocês são minha maior motivação, o que de mais importante tenho. Muito obrigada pelo amor incondicional e por compreenderem minha ausência.

A Deus, pela vida, família maravilhosa, por me permitir ser forte, nunca me deixar perder o foco e sempre colocar pessoas maravilhosas em meu caminho.

A todos os que contribuíram para a realização deste trabalho e aqueles que de alguma forma ao longo de minha vida, me ajudaram a superar as dificuldades.

BIOGRAFIA

BRUNA MARIA SANTOS DE OLIVEIRA nasceu em Barreiros, na cidade de Riachão do Jacuípe, no estado da Bahia, em 06 de abril de 1985. Filha de Orlando Carneiro de Oliveira e Odenice Queiroz dos Santos (*in memoria*) foi criada pela família de Maria de Jesus Ferreira.

Cursou o ensino fundamental e médio em escolas públicas em Barreiros. Fez o curso técnico em Agropecuária durante os anos 2005 e 2006, pela Fundação Bradesco, em Feira de Santana-BA. Em Fevereiro de 2013, graduou-se em Engenharia Agrônômica pela Universidade Federal do Recôncavo da Bahia, em Cruz das Almas, BA.

Em março de 2013 iniciou o mestrado em Agroecossistemas, na Universidade Federal de Sergipe, e em 2014, fez a migração para o Programa de Pós-Graduação em Agricultura e Biodiversidade.

SUMÁRIO

	Página
LISTA DE FIGURAS	i
LISTA DE TABELAS	ii
RESUMO	iii
ABSTRACT	iv
 1. INTRODUÇÃO GERAL	 5
2. REFERENCIAL TEÓRICO	8
2.1. Considerações gerais sobre o controle de insetos pragas	8
2.2. Formigas cortadeiras: biologia e <i>status</i> praga	9
2.3. Controle de formigas cortadeiras: principais métodos, dificuldades e alternativas	11
2.4. Compostos botânicos no controle de formigas cortadeiras	12
2.5. Família Aristolochiaceae	13
2.6. Óleos essenciais de plantas como alternativas para novos inseticidas	15
2.7. Interações entre os constituintes dos óleos essenciais	16
 3. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	 17
4. ARTIGO: Óleo Essencial de <i>Aristolochia trilobata</i> : Vias de Exposição, Toxicidade Aguda, Misturas Binárias e Efeitos Comportamentais sobre Formigas Cortadeiras	22
Resumo	22
Abstract	23
4.1. Introdução	24
4.2. Resultados e Discussão	26
4.2.1. Caracterização do óleo essencial	26
4.2.2. Bioensaios de vias de exposição	26
4.2.3. Toxicidade aguda por fumigação	28
4.2.4. Toxicidade das misturas binárias	30
4.2.5. Bioensaios comportamentais	31
4.3. Material e Métodos	32
4.3.1. Local de coleta e material vegetal	32
4.3.2. Obtenção e análise do óleo essencial	33
4.3.3. Obtenção dos compostos majoritários	34
4.3.4. Insetos	35
4.3.5. Bioensaios	35
4.3.5.1. Vias de exposição	35
4.3.5.2. Toxicidade aguda por fumigação	37
4.3.5.3. Toxicidade das misturas binárias	38
4.3.5.4. Bioensaios comportamentais	38
4.3.6. Análises estatísticas	39
4.4. Conclusões	41
Referências	43
Figuras e Tabelas	48

LISTA DE FIGURAS

Figura		Página
1	Toxicidade do óleo essencial de <i>Aristolochia trilobata</i> e seus compostos majoritários sobre operárias de <i>Acromyrmex balzani</i> (A) e <i>Atta sexdens</i> (B) por aplicação tópica ($10 \mu\text{g mg}^{-1}$) e fumigação ($10 \mu\text{L L}^{-1}$) após 48 horas de exposição	49
2	Curvas de sobrevivência do óleo essencial de <i>Aristolochia trilobata</i> e seus compostos majoritários sobre operárias de <i>Acromyrmex balzani</i> (A) e <i>Atta sexdens</i> (B) por fumigação na CL_{90} dos bioensaios de toxicidade	51
3	Tempo letal médio de operárias de <i>Acromyrmex balzani</i> (A) e <i>Atta sexdens</i> (B) expostas por fumigação na CL_{90} dos bioensaios de toxicidade ao óleo essencial de <i>Aristolochia trilobata</i> e seus compostos majoritários. Os boxes indicam a mediana e a dispersão (quartis superior e inferior). A linha tracejada representa a média da TL_{50}	51
4	Repelência de operárias de <i>Acromyrmex balzani</i> e <i>Atta sexdens</i> expostas durante 15min ao óleo essencial de <i>Aristolochia trilobata</i> e seus compostos majoritários em arenas de papel de filtro (6 cm de diâmetro)	54
5	Iritabilidade de operárias de <i>Acromyrmex balzani</i> e <i>Atta sexdens</i> expostas durante 15min ao óleo essencial de <i>Aristolochia trilobata</i> e seus compostos majoritários em arenas de papel de filtro (6 cm de diâmetro). * Indica diferença significativa entre a área tratada e não tratada da arena (Teste de Kruskal-Wallis, $p < 0,05$)	55
6	Compostos majoritários encontrados no óleo essencial de <i>Aristolochia trilobata</i> . (1) ρ -cimeno, (2) limoneno, (3) linalol e (4) acetato de sulcatila	56
7	Esquema de síntese do acetato de sulcatila. (1) sulcatona, (2) sulcatol e (3) acetato de sulcatila	57

LISTA DE TABELAS

Tabela		Página
1	Composição do óleo essencial de <i>Aristolochia trilobata</i> caracterizado por CG/EM/DIC	48
2	Toxicidade do óleo essencial de <i>Aristolochia trilobata</i> e seus compostos majoritários sobre operárias de <i>Acromyrmex balzani</i> e <i>Atta sexdens</i> por fumigação após 48 horas de exposição	50
3	Efeito de misturas binárias dos compostos majoritários do óleo essencial de <i>Aristolochia trilobata</i> sobre operárias de <i>Acromyrmex balzani</i> e <i>Atta sexdens</i> por fumigação após 48 horas de exposição	53

RESUMO

OLIVEIRA, Bruna Maria Santos de. **Atividade formicida de *Aristolochia trilobata* L. (Aristolochiaceae) sobre formigas cortadeiras.** São Cristóvão: UFS, 2015. 57p. (Dissertação – Mestrado em Agricultura e Biodiversidade).*

As formigas cortadeiras dos gêneros *Atta* e *Acromyrmex* (Hymenoptera: Formicidae) são insetos comuns na região neotropical e importantes pragas em ambientes agrícolas. Estes organismos são frequentemente controlados com o uso de inseticidas organossintéticos, no entanto, este método de controle é muitas vezes ineficiente. Isso tem gerado uma demanda crescente na busca de alternativas de controle que sejam ambientalmente sustentáveis. Assim, com o intuito de contribuir no controle, objetivou-se com este trabalho avaliar a atividade formicida do óleo essencial de *Aristolochia trilobata* e de seus compostos majoritários sobre as formigas cortadeiras *Atta sexdens* e *Acromyrmex balzani*. Para isso, foram realizados inicialmente bioensaios de toxicidade por duas diferentes vias de exposição - contato e fumigação. Uma vez determinada a via de exposição com melhor atividade formicida foram realizados, por esta via de exposição, bioensaios de toxicidade (concentração e tempo letal), efeitos das misturas binárias (sinergismo, aditismo e antagonismo) dos compostos majoritários, repelência e irritabilidade. O óleo essencial de *A. trilobata* foi obtido por hidrodestilação do caule seco e a identificação/quantificação dos compostos foi realizada por CG/EM/DIC. Foram identificados 25 compostos no óleo essencial de *A. trilobata*, sendo a sua maioria formada por monoterpenos. Os constituintes em maiores proporções foram os monoterpenos: acetato de sulcatila (25,64%), limoneno (24,80%), p-cimeno (10,41%) e linalol (9,51%). O óleo essencial de *A. trilobata* e seus compostos majoritários isolados foram eficientes contra operárias de *A. balzani* e *A. sexdens* quando a via de exposição foi fumigação. Estes compostos demonstraram eficiente atividade formicida sobre as espécies, com CL_{50} variando de 2,18 a 6,73 $\mu\text{L mL}^{-1}$. Os monoterpenos linalol e acetato de sulcatila quando aplicados isoladamente foram 1,6 e 1,7 vezes mais tóxicos do que o óleo essencial de *A. trilobata* para *A. balzani*. Já para *A. sexdens*, o composto p-cimeno foi 1,6 vezes mais tóxico do que o óleo essencial. Operárias de *A. sexdens* foram mais tolerantes ao óleo essencial de *A. trilobata* e aos compostos linalol e acetato de sulcatila. O óleo essencial de *A. trilobata* e seus compostos majoritários atuaram de forma mais rápida sobre *A. sexdens* em comparação a *A. balzani*. Na média, estes compostos demoraram 29,3 e 11,3 horas para causar mortalidade na metade das populações de *A. balzani* e *A. sexdens*, respectivamente. Os compostos majoritários do óleo essencial de *A. trilobata* atuaram de forma sinérgica na toxicidade sobre *A. balzani*. Já para a espécie *A. sexdens* a maioria das combinações entre os compostos exibiu efeito aditivo. O óleo essencial de *A. trilobata* e seus compostos majoritários foram repelentes e causaram grande irritabilidade às operárias de *A. balzani* e *A. sexdens*. Assim, nossos resultados mostram o grande potencial do óleo essencial de *A. trilobata* e seus compostos majoritários para o desenvolvimento de novos formicidas.

Palavras-chave: plantas inseticidas, óleos essenciais, formicidae, fumigação, sinergismo e repelência.

* Comitê Orientador: Leandro Bacci – UFS (Orientador), Ana Paula Albano Araújo – UFS e Vinícius Albano Araújo–UFV.

ABSTRACT

OLIVEIRA, Bruna Maria Santos de. **Ant activity of *Aristolochia trilobata* L. (Aristolochiaceae) on leaf-cutting ants.** São Cristóvão: UFS, 2014. 57p. (Thesis - Master of Science in Agriculture and Biodiversity).

Leaf-cutting ants of *Atta* and *Acromyrmex* genus (Hymenoptera: Formicidae) are common insects in the Neotropics region and an important pests in agricultural environments. These organisms are often controlled using organosintetics insecticides, however, mostly products are inefficient. This problem has generated a growing demand for environmentally safe products to control these pests. Thus, in order to contribute with new methods of control, the aim of this work was to evaluate the ant activity of essential oil of *A. trilobata* and its major compounds on cutting ants *Atta sexdens* and *Acromyrmex balzani*. Initially, it was performed toxicity bioassays by two different routes of exposure - contact and fumigation. Once determined the exposure way with the best ant activity, this route was choosed to performe the next experiments, bioassay toxicity (lethal concentration and time), effects of binary mixtures (synergistic, additive and antagonistic) of major compounds, repellency and irritability. The essential oil of *A. trilobata* was obtained by hydrodistillation of the dried stem and the identification / quantification of compounds was performed by GC/MS/FID. Twenty Five compounds were identified in the essential oil of *A. trilobata*, that are mostly composed of monoterpenes. The major constituents were the monoterpenes: sulcatyl acetate (25.64%), limonene (24.80%), p-cymene (10.41%) and linalool (9.51%). The essential oil of *A. trilobata* and their major compounds were effective against workers of *A. balzani* and *A. sexdens* when the route of exposure was fumigation. These compounds have demonstrated efficient activity on ant species *A. balzani* and *A. sexdens*, with LC₅₀ ranging from 2.18 to 6.73 $\mu\text{L mL}^{-1}$. The monoterpenes linalool and sulcatyl acetate when applied alone were 1.6 and 1.7 times more toxic than the essential oil against *A. balzani*. As for *A. sexdens*, p-cymene was 1.6 times more toxic than the essential oil of *A. trilobata*. Workers of *A. sexdens* were more tolerant to the essential oil, linalool and sulcatyl acetate. The essential oil of *A. trilobata* and its major compounds acted faster on *A. sexdens* compared to *A. balzani*. On average, these compounds took 29.3 and 11.3 hours to cause mortality in half population of *A. balzani* and *A. sexdens*, respectively. The major compounds of the essential oil of *A. trilobata* acted synergistically in toxicity of *A. balzani*. As for *A. sexdens* most combinations of the compounds exhibited an additive effect. The essential oil of *A. trilobata* and its major compounds were repellent and caused great irritability to workers of *A. balzani* and *A. sexdens*. Thus, our results show a great potential of the essential oil of *A. trilobata* and its major compounds for develop new insecticides.

Keywords: insecticide plants; essential oils; Formicidae; fumigation; synergism; repellency.

* Supervising Committee: Leandro Bacci – UFS (Orientador), Ana Paula Albano Araújo – UFS e Vinícius Albano Araújo – UFV.

1. INTRODUÇÃO GERAL

As formigas cortadeiras dos gêneros *Acromyrmex* Mayr (1865) e *Atta* Fabricius (1804) (Hymenoptera: Formicidae: Myrmicinae) estão entre os insetos mais comuns da região neotropical (DELLA LÚCIA, 2003). Tais espécies são consideradas as principais pragas de áreas agrícolas e florestais devido ao hábito de cortarem folhas (HEBLING et al., 2000).

Formigas cortadeiras possuem organização social, habitam ninhos subterrâneos e apresentam uma interação simbiótica tritrófica (planta, formiga e fungo) (DELLA LÚCIA e VILELA, 1993). O material vegetal cortado é transportado pelas operárias para o interior de seus ninhos e usado para cultivar o fungo simbionte que serve de alimento para a colônia (HOLLOBLER e WILSON, 1990). Assim, mesmo sendo primariamente fungívoras, as formigas exercem papel ecológico semelhante ao de herbívoros polífagos (GARCIA et al., 2003). Apesar dos avanços em pesquisas sobre o controle de formigas cortadeiras, o método de controle ainda mais utilizado é o químico (ARAÚJO et al., 2003; COSTA et al., 2008; ZANETTI et al., 2008). Porém, o controle de formigas cortadeiras através do uso indiscriminado de inseticidas organossintéticos tem resultado em uma gama de efeitos negativos, tais como: contaminação do ambiente, fragmentação das colônias, aumento do número de ninhos e da população desses organismos (FONSCECA et al., 2010; KNAAK e FIUZA, 2010).

Uma alternativa ao uso de pesticidas convencionais consiste na utilização de produtos naturais, os quais são fontes de substâncias bioativas (NAKATANI et al., 2004). Dentre os produtos naturais, as substâncias derivadas de plantas são conhecidas por causar efeitos deletérios de ordem fisiológica e comportamental sobre insetos (RAJEDRAN e SRIRANJINI, 2008). A via de exposição dos insetos aos compostos das plantas inseticidas pode ser por ingestão, contato e/ou fumigação (KETO et al., 2005) e as formas de utilização podem ser diversas, como por exemplo por meio de formulação em pó, extratos e óleos essenciais (BAKKALI et al., 2008). Os óleos essenciais de plantas têm apresentado inúmeras atividades

sobre insetos afetando sua sobrevivência e comportamento (ALONSO e SANTOS, 2013; AGUIAR-MENEZES, 2005 PANDEY, 2014).

Os óleos essenciais de plantas são misturas complexas de terpenos e fenilpropanóides produzidos através do metabolismo secundário das plantas (BAKKALI et al., 2008). A composição do óleo essencial pode variar entre espécies ou mesmo dentro de uma mesma espécie devido às variações climáticas (p. ex.; temperatura, radiação ultravioleta, atmosférica, etc.) e aos fatores agrônômicos (p. ex.: disponibilidade hídrica, nutrição, etc.) (GOBBONETO e LOPES, 2007). Os compostos presentes nos óleos essenciais se apresentam em diferentes concentrações (majoritárias e minoritárias). Assim, os efeitos biológicos dos óleos essenciais podem ser devido a interação entre tais moléculas, como resultado de efeitos sinérgicos, aditismos, antagonismos e potenciações. Estes efeitos interativos podem ocorrer via interação entre todas as moléculas presentes nos óleos essenciais ou através da interação entre determinados componentes, principalmente os majoritários (BAKKALI et al., 2008).

A família Aristolochiaceae Juss. é constituída por aproximadamente 600 espécies distribuídas pelo mundo em regiões subtropicais, tropicais e temperadas. Espécies desta família são encontradas principalmente na Ásia, África, América do Norte e América do Sul (WU et al., 2005; NASCIMENTO et al., 2010). As espécies do gênero *Aristolochia* têm sido frequentemente relatadas como importantes plantas medicinais, tendo ações terapêuticas no tratamento de infecções, antídoto para picadas de cobra, enemagogas e ação anti-fúngica entre outras (HEINRICHA et al., 2009).

Apesar do elevado potencial biotivo das plantas deste gênero, até o momento, não se tem relatos de sua utilização no manejo alternativo de pragas agrícolas. Assim, nesta dissertação objetivou-se estudar a atividade formicida de *Aristolochia trilobata* contra operárias das formigas cortadeiras *Atta balzani* e *Acromyrmex sexdens*, visando: (i) identificar e quantificar os compostos presentes no seu óleo essencial; (ii) estudar via de exposição destes insetos ao óleo essencial e seus compostos majoritários; (iii) avaliar a toxicidade do

óleo essencial e seus majoritários sobre as formigas; (iv) determinar se há efeito sinérgico, aditismo e/ou antagônico proveniente da mistura binária dos componentes majoritários do óleo essencial; e (v) observar as respostas comportamentais das operárias sob exposição ao óleo essencial e aos seus componentes majoritários.

2. REFERENCIAL TEÓRICO

2.1. Considerações gerais sobre o controle de insetos pragas.

Insetos representam o grupo mais diversificado de organismos vivos (ZARBIN et al., 2009), apresentando ampla importância nos ecossistemas pelos diversos papéis ecológicos executados. Contudo, no ambiente agrícola e urbano, algumas espécies podem causar prejuízos econômicos, ganhando o *status* de praga.

Ao longo do tempo, o homem tem buscado formas de controle de insetos-praga a fim de minimizar os danos causados por estes organismos (GALLO et al., 2002). Apesar da relativa eficiência de alguns inseticidas convencionais (p. ex. organossintéticos) no controle de insetos-praga, seu uso indiscriminado, tem causado uma série de problemas econômicos, sociais, ecológicos e ambientais (GONÇALVES et al., 2001; BETTIOL e MORANDI, 2009; ZARBIN et al., 2009). Dentre estes, destacam-se: a indução de resistência dos insetos a diversas classes de inseticidas, contaminação ambiental, intoxicação de aplicadores e consumidores, efeitos indesejados em organismos não-alvo e persistência ao longo da cadeia trófica (AGUIAR-MENEZES, 2005).

Vale destacar que o Brasil é o maior consumidor mundial de pesticidas sintéticos (MERLINO, 2009). Aliado a este fato, dados do MAPA (2014) revelam que entre 2012 e 2013 houve um aumento de 26% na comercialização destes produtos. Nesse contexto, a busca por métodos alternativos de menor impacto ambiental deveria ser considerada uma questão de destaque no país (ROEL, 2001). Dentre tais métodos, substâncias extraídas de plantas apresentam vantagens quando comparadas aos inseticidas sintéticos, como: princípios ativos rapidamente degradáveis, baixo nível residual nos alimentos e menor toxicidade aos mamíferos (MACHADO et al., 2007).

2.2. Formigas cortadeiras: biologia e *status* praga.

As formigas cortadeiras apresentam ampla distribuição na região Neotropical, ocorrendo desde os Estados Unidos até a Argentina (HÖLLDOBLER e WILSON, 1990). Apesar de serem primariamente fungívoras, tais formigas exercem papel ecológico como herbívoros polífagos (GARCIA et al., 2003) por cortarem fragmentos botânicos de várias espécies de plantas para a manutenção das colônias de fungos simbiontes da qual se alimentam (ANTUNES e DELLA LUCIA, 1999).

Sendo insetos verdadeiramente sociais (=eussociais), as principais características que os define como sociais são: divisão de trabalhos, com indivíduos responsáveis pela reprodução e indivíduos estéreis que são responsáveis pelas demais atividades; divisão de tarefas entre castas desde o cuidado com a prole, alimentação e proteção; sobreposição de gerações dentro de um mesmo formigueiro (HÖLLDOBLER e WILSON, 1990). As castas podem ser diferenciadas morfológicamente ou de acordo com as atividades desempenhadas na colônia, sendo divididas em permanentes e temporárias. Castas permanentes são aquelas que estão sempre presentes na colônia, sendo representadas por rainhas e operárias, cujas funções primordiais incluem a postura de ovos; e o cuidado com a rainha, a prole e proteção dos formigueiros e forrageamento, respectivamente. Já as castas temporárias são as que se encontram na colônia apenas no período de revoada e apresentam potencial reprodutivo (HÖLLDOBLER e WILSON, 1990; DELLA LUCIA et al., 2011).

As operárias são classificadas em quatro diferentes grupos e variam de tamanho de acordo com as funções que exercem: i) *jardineiras* - cuidam do fungo e da prole; ii) *generalistas* - empenhadas em diversas atividades, como incorporação do substrato nas hifas e cuidados com a rainha; iii) *forrageadoras* - indivíduos que exploram, cortam e coletam a vegetação; e iv) *soldados* - protegem o ninho contra invasores (WILSON, 1980; DELLA LUCIA e VILELA 1993). A divisão das atividades entre as castas nas colônias de insetos eussociais representa vantagens, como por exemplo, a partilha de informações especialmente

sobre a localização de alimentos, o que permite à colônia otimizar sua atividade de forrageamento (DUNCAN e RATNIEKS, 2006).

Formigas cortadeiras dos gêneros *Acromyrmex* Mayr (1865) e *Atta* Fabricius (1804) estão amplamente distribuídas pelo território brasileiro. As espécies do gênero *Atta*, conhecidas popularmente como saúvas, têm como característica taxonômica três pares de espinhos dorsais, cabeça opaca e rugosa e liberam aroma semelhante ao citral quando suas cápsulas cefálicas são contraídas. Já as espécies do gênero *Acromyrmex*, vulgarmente conhecidas como quenquéns, possuem de quatro a cinco pares de espinhos dorsais e numerosos tubérculos na superfície do gáster (DELLA LUCIA e OLIVEIRA, 1993; GONÇALVES, 1961).

Estes gêneros têm grande importância nas regiões neotropicais devido aos serviços ecossistêmicos prestados, como: revolvimento e melhoramento da drenagem do solo, aeração e facilitação da penetração de raízes no solo e auxílio na ciclagem de nutrientes (DELLA LUCIA e SOUZA, 2011).

Por outro lado, a degradação dos ambientes naturais, incluindo urbanização não planejada e a agricultura, têm promovido aumento das populações de formigas cortadeiras, como por ex. *A. sexdens*, *A. laevigata* e *A. octospinosus*. Tais espécies são consideradas pragas e indicadores de áreas florestais degradadas (FOWLER et al., 1989). O aumento da densidade de formigas cortadeiras em áreas de bordas florestais é atribuído principalmente ao aumento da quantidade de plantas pioneiras, as quais são preferidas pelas formigas devido à sua maior palatabilidade quando comparada às plantas tardias (WIRTH et al., 2007).

O aumento das populações de formigas cortadeiras causa elevados prejuízos (DELLA LUCIA e OLIVEIRA, 1993; DELLA LÚCIA, 2003; GARCIA et al., 2003; LOECK et al., 2003; MARSARO JÚNIOR et al., 2007). Estes organismos são sendo importantes pragas no Brasil em razão de sua vasta ocorrência e dos prejuízos que causam à agricultura e silvicultura, por cortarem fragmentos botânicos de várias espécies (ANTUNES e DELLA

LUCIA, 1999). As formigas podem causar danos diretos às plantas através do corte de folhas, flores, brotos e ramos, assim como por meios indiretos via redução do crescimento e aumento das chances de mortalidade direta ou por redução da resistência a herbívoros e patógenos (ZANETTI et al., 2014).

2.3. Controle de formigas cortadeiras: principais métodos, dificuldades e alternativas.

Os principais métodos de controle de formigas cortadeiras são: mecânico, cultural, biológico e químico (ARAÚJO e DELLA LUCIA, 2003). Os controles mecânicos e culturais (aração, gradagem e enxadas) são pouco utilizados, em virtude da viabilidade restrita a pequenas áreas (BOARETTO e FORTI, 1997; OLIVEIRA et al., 2011). O uso de controle biológico aplicado no combate de formigas usando fungos entomopatogênicos (*Metarhizium anisopliae* e *Beauveria bassiana*) obteve eficiência de até 70%. Entretanto, em campo, o mesmo resultado não foi observado devido à dificuldade de aplicação e ao comportamento social destes insetos que reduz a eficiência do uso de entomopatógenos (ZANETTI et al., 2008).

O controle químico é realizado com inseticidas organossintéticos, por meio de formulações de iscas tóxicas ou por aplicação direta nos ninhos, seja por termonebulização ou por fumigantes (ANJOS et al., 1998). Este método é relativamente prático e econômico quando comparado aos demais por demandar menor custo de mão de obra, e por permitir o controle de formigueiros em locais pouco acessíveis (BOARETTO e FORTI, 1997; ZANETTI et al., 2008). Por outro lado, quando usado de forma inadequada, pode resultar na contaminação do ambiente, causar fragmentação das colônias, aumentar o número de ninhos e consequentemente a população desses organismos (FONSECA et al., 2010).

Della Lucia et al., (2008) consideram que a utilização de inseticidas naturais provenientes das plantas consiste em uma das melhores perspectivas para o manejo de formigas cortadeiras. Da mesma forma, Isman (2006) considera que o uso de plantas tóxicas

às formigas ou ao seu fungo simbionte é de grande interesse, pelo fato de tais produtos apresentarem alta volatilidade e consequente baixa persistência no ambiente, o que pode contribuir para redução do risco de contaminação de organismos não-alvo.

2.4. Compostos botânicos no controle de formigas cortadeiras.

O Brasil é o país com a maior diversidade vegetal do mundo. A grande variedade de substâncias presentes na flora brasileira representa um enorme potencial de possíveis moléculas que podem ser utilizadas como inseticidas naturais (JBILOU et al., 2006; MESSIANO et al., 2008). No entanto, o número de plantas que tem sua composição química estudada, ainda é muito reduzido apenas 8% das espécies vegetais da flora brasileira foram estudadas em busca de compostos bioativos (ALVES, 2001; SIMÕES et al., 2002). Portanto, a busca por derivados botânicos constitui-se um campo de investigação aberto, amplo e contínuo (VIEGAS JR., 2003).

A utilização de plantas com potencial inseticida para o controle de pragas não é uma técnica recente. As plantas já eram empregadas antes do advento dos inseticidas sintéticos. O ressurgimento dos estudos com inseticidas botânicos deu-se pela necessidade de se dispor de novos compostos ambientalmente mais seguros para o manejo de pragas (GALLO et al., 2002).

Segundo Aguiar-Menezes (2005) a utilização de inseticidas naturais tem obtido grandes avanços, visto que já existem produtos derivados de plantas disponíveis no mercado. Dentre tais produtos já comercializados, destacam-se: as piretrinas extraídas do crisântemo *Chrysanthemum cinerariaefolium* (Trev.), a nicotina proveniente de *Nicotiana tabacum* L., a rotenona extraída de *Derris* sp. e *Lonchocarpus* sp. e a azadiractina isolada de *Azadirachta indica* A. Juss (ROEL, 2001).

Apesar dos avanços, algumas limitações dificultam a competitividade destes produtos no mercado, tais como: escassez de estudo dos recursos botânicos disponíveis, falta de

padronização e de controle de qualidade das formulações e dificuldades de registro (AGUIAR-MENEZES, 2005).

A literatura apresenta uma variedade de espécies botânicas com potencial para uso no manejo de pragas. O efeito de substâncias de origem vegetal tem sido demonstrado promissor no controle de formigas. Corrêa et al. (1996) encontraram resultados positivos na mortalidade de formigas *Acromyrmex* spp. pelo uso de sementes de gergelim *Sesamum indicum*. O óleo essencial de *Pogostemon cablin* também teve efeito tóxico e repelente sobre as formigas urbanas *Camponotus melanoticus*, *Camponotus novogranadensis* e *Dorymyrmex thoracicus* (ALBURQUEQUE et al., 2013). Propriedades tóxicas do óleo de mamona *Ricinus communis* L. e do óleo de pinhão manso *Jatropha curcas* L. também já foram testadas sobre *Atta sexdens rubropilosa* (ALONSO e SANTOS, 2013). Jung et al. (2013) destacam o potencial inseticida do óleo essencial de pitangueira *Eugenia uniflora* e do extrato alcoólico de cinamomo *Melia azedarach* L. sobre soldados de *Atta laevigata*.

2.5. Família Aristolochiaceae.

A família Aristolochiaceae é constituída por quatro gêneros (*Aristolochia*, *Asarum*, *Saruma* e *Thottea*) com aproximadamente 600 espécies descritas, presentes em regiões tropicais, subtropicais e temperadas (CAPELLARI JR., 2002).

Existem cerca de 100 espécies do gênero *Aristolochia* com distribuição no Brasil (CAPELLARI JR., 2002; NEINHUIS et al., 2005; FRANSCISCO, 2008; NASCIMENTO et al., 2010). As plantas desse gênero são trepadeiras, herbáceas, perenes com folhas alternas, pecioladas e simples, possuem ramos lisos, flores isoladas, hermafroditas e zigomorfas, fruto capsular cilíndrico com sementes achatadas, ventralmente lisas e dorsalmente rugosas. O gênero ocorre em diversos ambientes como floresta ombrófila, orla de mangue e região de dunas. Sua presença também é significativa em zonas de restinga bem como em terrenos

sombreados e levemente úmidos das bordas das matas ou barrancas dos rios (NASCIMENTO et al., 2010).

Messiano et al. (2008) evidenciam a partir de análise de dados etnofarmacológicos uma vasta aplicação para as diferentes espécies da família Aristolochiaceae (p. ex.: abortivas, antiasmáticas, antidiarréicas, antiinflamatórias, antireumáticas, antiofídicas, antisépticas, antitérmicas, depurativas, diuréticas, estomáticas, expectorantes, febrífugas, sedativas, além de serem utilizadas no tratamento de inflamações pulmonares e em terapias de emagrecimento, antifúngica e no tratamento de artrite e afecções da pele).

Embora tenha ampla utilização medicinal, algumas espécies de *Aristolochia* podem produzir um metabólito secundário conhecido como ácido aristolóquico (AA), amplamente estudado e descrito na literatura por demonstrar acentuada ação tóxica, o que pode causar problemas nefrotóxicos e carcinogênicos, que podem afetar humanos e animais (IOSET et al., 2003; ZHOU et al., 2004).

No entanto, pesquisas tem demonstrado que a composição química dos óleos essenciais dessa planta varia entre e dentro de uma mesma espécie, dependendo do local e condições de cultivo, bem como do período, do horário e estágio fenológico em que a planta foi colhida (CHU & KEMPER, 2001). Estes fatores podem influenciar a composição dos componentes do óleo essencial das espécies de *Aristolochia*, incluindo a presença do ácido aristoloquímico.

Extratos de diferentes espécies de *Aristolochia* apresentaram bioatividade sobre a lagarta da soja *Anticarsia gemmatilis* Hübner, 1818 (Lepidoptera: Noctuidae) (MESSIANO et al., 2008) e o besouro castanho *Tribolium castaneum* (H.) (Coleoptera: Tenebrionidae) (JBILOU et al., 2006). Desta forma, plantas desse gênero podem ser promissoras na descoberta de novos compostos com potencial inseticida (JBILOU et al., 2006; MESSIANO et al., 2008). No entanto, até o momento não se conhece estudos evidenciando o potencial de *A. trilobata* no controle de pragas.

2.6. Óleos essenciais de plantas como alternativas para novos inseticidas.

Produzidas e armazenadas em diferentes órgãos das plantas - como flores, folhas, caules, raízes, rizomas, frutos e sementes - os óleos essenciais são uma classe de substâncias originadas do metabolismo secundários de plantas (AGUIAR-MENEZES, 2005; REGNAULT-ROGER et al., 2012). Os óleos essenciais destacam-se pela diversidade de atividades biológicas, tais como: defesa contra herbívoros e micro-organismos, proteção contra raios UV e atração de polinizadores ou animais dispersores de sementes (WALLING, 2000; GOBBO-NETO e LOPES, 2007; FUMIGALI et al., 2008).

Os óleos essenciais são constituídos por misturas complexas de compostos orgânicos voláteis principalmente monoterpenos, sesquiterpenos, ésteres e fenilpropanóides (RAI e CARPINELLA, 2006; NERIO et al., 2010). A ANVISA (2007) define óleos essenciais como produtos voláteis de origem vegetal obtidos por processo físico de destilação ou outro método adequado, apresentando-se isoladamente ou misturados entre si, retificados, ou como concentrados desterpenados.

A atividade bioinseticida dos óleos essenciais inclui: toxicidade, repelência, irritabilidade, atração, alterações no sistema hormonal, inibição de oviposição e da alimentação, além de distúrbios no desenvolvimento e deformações (GONZAGA et al., 2008).

Desta forma, o uso de óleos essenciais apresenta potencial quando aliado aos outros métodos de manejo de pragas, podendo contribuir para manutenção do equilíbrio ambiental e redução dos efeitos negativos ocasionados pela aplicação indiscriminada de inseticidas organossintéticos (ISMAN, 2000; AGUIAR-MENEZES, 2005; COSTA et al., 2006; MACHADO et al., 2007).

2.7. Interações entre os constituintes dos óleos essenciais.

Os óleos essenciais são formados por inúmeros compostos (20 a 60 constituintes) presentes em diferentes concentrações. A proporção dos constituintes dos óleos essenciais pode variar com as características genéticas, fatores abióticos, órgão de armazenamento e métodos de extração da planta. Estes óleos podem ser caracterizados por apresentarem dois ou três constituintes que são considerados componentes majoritários, representado de 20 a 70% da concentração total dos óleos essenciais (BAKKALI et al., 2008).

As variações na composição dos constituintes dificultam o estabelecimento da relação causa e efeito. Contudo, a presença de mais de um composto ativo nos óleos essenciais é uma vantagem, já que isto pode reduzir a possibilidade de desenvolvimento de resistência pelos insetos (GALLO et al., 2002).

Bakkali et al. (2008) relatam que os efeitos biológicos dos óleos essenciais podem ser resultantes de sinergismo, aditismo ou antagonismo dos compostos majoritários. Contudo, componentes minoritários também podem atuar como agentes sinérgicos, aumentando o efeito dos principais constituintes através de uma variedade de mecanismos e, consequentemente promovendo maior eficácia dos constituintes majoritários (NERIO et al., 2010; HUMMELBRUNNER e ISMAN, 2001).

A importância do efeito sinérgico consiste no aumento da eficiência dos óleos essenciais (KOSTIĆ et al., 2013). Assim, tal efeito permite a utilização de menores quantidades da mistura, possibilitando a redução de custos com o manejo de pragas e os riscos ao meio ambiente (RIBEIRO et al., 2003).

3. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA. ANVISA. **Resolução da Diretoria Colegiada – RDC nº 2, de 15 de janeiro de 2007**. Disponível em: <www.anvisa.gov.br/legis/resol/2007/rdc/2_rdc.pdf>. Acesso em: 10 jan. 2015.
2. AGUIAR-MENEZES, E. L. **Inseticidas botânicos: seus princípios ativos, modo de ação e uso agrícola**. Seropédica: Embrapa Agrobiologia, 2005. 58 p. (Embrapa Agrobiologia. Documentos, 205).
3. 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 Tropical**, v. 127, p.181-186. 2013.
4. ALONSO, E. C.; SANTOS, D.Y.A.C. *Ricinus communis* and *Jatropha curcas* (Euphorbiaceae) Seed Oil Toxicity Against *Atta sexdens rubropilosa* (Hymenoptera:Formicidae). **Journal of Economic Entomology**, v. 106, n. 2, p. 742-746, 2013.
5. ALVES, H. M. A diversidade química das plantas como fonte de fitofármacos. **Cadernos Temáticos de Química Nova na Escola**, n. 3, p. 10-15. 2001
6. ANJOS, N. S.; DELLA-LUCIA, T. M. C.; MAYHÉ-NUNES, A. J. **Guia prático sobre formigas cortadeiras em reflorestamentos**. Ponte nova: Graff Cor, p.100. 1998.
7. ANTUNES, E. C; DELLA LUCIA, T. M. C. LEAF-CONSUMPTION IN *Eucalyptus urophylla* BY *Acromyrmex laticeps nigrosetosus* FOREL (HYMENOPTERA-FORMICIDAE). **Ciência e Agrotecnologia**, v. 23, n.1, p.208-211, jan./mar. 1999.
8. ARAÚJO, M. S.; DELLA LUCIA, T. M. C.; SOUZA, D. J. Estratégias alternativas de controle de formigas cortadeiras. **Bahia Agrícola**, Salvador, v. 6, n. 1, p. 71-74, 2003.
9. BAKKALI, F.; AVERBECK, S.; AVERBECK, D.; IDAOMAR, M. Biological effects of essential oils – A review. **Food and Chemical Toxicology**, v. 46, p. 446-475, 2008.
10. BETTIOL, W.; MORANDI, M. A. B. (Ed.). **Biocontrole de doenças de plantas: Uso e perspectivas**. Jaguariúna: Embrapa Meio Ambiente, 2009. 341p.
11. BOARETTO, M. A. C.; FORTI, L. C. Perspectivas no controle de formigas cortadeiras. **Série técnica IPEF**, São Paulo, v. 11, n. 30, p. 31-46, 1997.
12. CAPPELLARI JÚNIOR, L. ARISTOLOCHIACEAE. IN: WANDERLEY, M. G. L.; SHEPHERD, G. J.; GIULIETTI, A. M.; KIRIZAWA, M. (Orgs.) **Flora Fanerogâmica do Estado de São Paulo**, v. 2, p. 39-49, 2002.
13. CHU, C. J.; KEMPER, K. J. Lavender (*Lavandula* spp.). Revised July 2, 2001, Longwood Herbal Task Force. Disponível em: <<http://www.mcp.edu/herbal/>>. Acesso em: novembro de 2013.
14. CORRÊA, R. M.; MARQUES, E. N.; SOUZA, N. J. Avaliação das sementes de gergelim em porta-iscas no controle biológico de formigas cortadeiras do gênero *Acromyrmex* (Hymenoptera, Formicidae) em áreas degradadas. In: FOREST, SIMPOSIO INTERNACIONAL SOBRE ECOSSISTEMAS FLORESTAIS, 4., 1996, Belo Horizonte, **Anais**. Belo Horizonte: Biosfera, 1996. p. 262-263.
15. COSTA, E. C.; D'AVILA, M.; CANTARELLI, E. B.; MURARI, A. B.; MANZONI, C. G. **Entomologia Florestal**. Santa Maria, RS: UFSM, 2008. 240 p.

16. COSTA, E. L. N.; SILVA, R. F. P.; FIUZA, L. M. Efeitos, aplicações e limitações de extratos de plantas inseticidas. **Acta Biológica Leopoldensia**, v. 26, p. 173-185, 2006.
17. DELLA LUCIA, T. M. C. Hormigas de importancia económica en la región Neotropical. In: Fernando Fernandez. (org.) **Introducción a las hormigas de la región Neotropical**. Bogotá: Instituto de Investigación de Recursos Biológicos Alexander von Humboldt, v. 1, p. 337-349, 2003.
18. DELLA LUCIA, T. M. C.; OLIVEIRA, P. S. FORRAGEAMENTO. In: DELLA LUCIA, T. M. C. (ed.). **As formigas cortadeiras**, p. 84-105. Ed. Folha de Viçosa, 1993. 262p.
19. DELLA LUCIA, T. M. C.; SOUZA, D. J. Importância e história de vida das formigas-cortadeiras. In: DELLA LUCIA, T. M. C. (Ed.). **Formigas-cortadeiras: da bioecologia ao manejo**. Viçosa: UFV, p. 13-26, 2011.
20. DELLA LUCIA, T. M. C.; VILELA, E. F. Métodos atuais de controle e perspectivas. In: DELLA LUCIA, T. M. C. (Ed.). **As formigas cortadeiras**. Viçosa, MG: Folha de Viçosa, 1993. p.163-190.
21. Della Lucia, T.M.C.; Marinho, C.G.S.; Ribeiro, M.R.R. Insetos sociais: da biologia à aplicação/ Evaldo Ferreira Vilela [et al], editores. – Viçosa, MG: Editora: UFV. In.; Perspectiva no manejo de formigas cortadeiras, **2008** -23, 370-380.
22. DUNCAN, E. J.; RATNIEKS, F. L. W. Communication in ants. **Current Biology**, v.16, p. 570-574, 2006.
23. FONSECA, A. R.; BATISTA, D. R.; AMARAL, D. P.; CAMPOS, R. B.F.; SILVA, C. G. Formigas (Hymenoptera: Formicidae) urbanas em um hospital no município de Luz, Estado de Minas Gerais. **Acta Scientiarum. Health Sciences**, v. 32, p. 29-34, 2010.
24. FOWLER, H. G.; PAGANI, M. I.; SILVA, O. A.; FORTI, L. C.; SILVA, V. P.; VSCONCELOS, H. L. A. Pest is a Pest is a Pest? The Dilemma of Neotropical Leaf-Cutting Ants: Keystone Taxa of Natural Ecosystems. **Environmental Management**. 1989, Vol 13, No 6, p 671-675.
25. FRANCISCO, C. S.; MESSIANO, G. B.; LOPES, L. M. X.; TININIS, A. G.; OLIVEIRA, J. E.; CAPELLARI JUNIOR, L. Classification of *Aristolochia* species based on GC–MS and chemometric analyses of essential oils. **Phytochemistry**, v. 69, p. 168–175, 2008.
26. FUMAGALI, E.; GONÇALVES, R. A. C.; MACHADO, M. F. P. S.; VIDOTI, G. J.; OLIVEIRA, A. J. B. Produção de metabólitos secundários em cultura de células e tecidos de plantas: o exemplo dos gêneros *Tabernaemontana* e *Aspidosperma*. **Revista Brasileira Farmacognosia**, v. 18, n. 4, p. 627-641, 2008.
27. GALLO, D.; NAKANO, O.; SILVEIRA NETO, S. CARVALHO, R.; BAPTISTA, G.; BERTI FILHO, E.; PARRA, J.; ZUCCHI, R.; ALVES, S.; VENDRAMIN, J.; MARCHINI, L.; LOPES, J.; OMOTO, C. **Entomologia agrícola**. FEALQ, 2002.
28. GARCIA, I. P. FORTI, L. C.; ENGEL, V. L.; ANDRADE, A. P. P.; WILCKEN, C. F. Ecological Interaction Between *Atta sexdens* (Hymenoptera: Formicidae) and the Vegetation of a Mesophyll Semideciduous Forest Fragment in Botucatu, SP, Brazil. **Sociobiology**, v.42, n.2, p.265-283, 2003.
29. GOBBO-NETO, L.; LOPES, N. P. Plantas medicinais: fatores de influência no conteúdo de metabólitos secundários. **Química Nova**, v. 30, n. 2, p. 374-381, 2007.
30. GONÇALVES, C. R. O gênero *Acromyrmex* no Brasil (Hym. Formicidae). **Studia Entomologica**, v.4, p. 113–180, 1961.
31. GONÇALVES, M. E.C.; OLIVEIRA, J. V.; BARROS, R.; LIMA, M. P. L. Extratos aquosos de plantas e o comportamento do ácaro verde da mandioca. **Scientia Agrícola**, v.58, p. 475-479, 2001.
32. GONZAGA, A. D.; GARCIA, M. V. B.; SOUSA, S. G. A.; PY-DANIEL, V.; CORREA, R. S; RIBEIRO, J. D. Toxicidade de manipueira de mandioca (*Manihot esculenta* Crantz)

- e erva-de-rato (*Palicourea marcgravii* St. Hill) a adultos de *Toxoptera citricida* Kirkaldy (Homoptera: Aphididae). **Acta Amazonica**, v. 38, n. 1, p. 101-106, 2008.
33. HEBLING, M. J. A.; BUENO, O. C.; MAROTI, P. S.; PAGNOCCA, F. C.; SILVA, O. A. Effects of leaves of *Ipomoea batatas* (Convolvulaceae) on nest development and on respiratory metabolism of leaf-cutting ants *Atta sexdens* L. (Hym., Formicidae). **Journal of Applied Entomology**, v. 124, p. 249-252, 2000.
 34. HEINRICHA, M.; CHANA, J. WANKEB, S.; NEINHUISB, C.; SIMMONDS, M. S. J. Local uses of *Aristolochia* species and content of nephrotoxic aristolochic acid 1 and 2--a global assessment based on bibliographic sources. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 125, p. 108-144, 2009.
 35. HOLLOBLER, B.; WILSON, E.O. The ants. **Cambridge**: Harvard Univ. Press. p. 596-608. 1990.
 36. HUMMELBRUNNER, L.; ISMAN, M. Acute, sublethal, antifeedant, and synergistic effects of monoterpenoid essential oil compounds on the tobacco cutworm, *Spodoptera litura* (Lepidoptera: Noctuidae). **Journal Agricultural and Food Chemical**, v. 49, p. 715-720, 2001.
 37. IOSET, J. R.; RAOELISON, G. E.; HOSTETTMANN, K. Detection of aristolochic acid in Chinese phytomedicines and dietary supplements used as slimming regimens. **Food and Chemical Toxicology**, v. 41, n. 1, p. 39-36, 2003.
 38. ISMAN, M. B. Botanical insecticides, deterrents, and repellents in modern agriculture and an increasingly regulated world. *Annual Review Entomology*, v. 51, p.45-66, 2006.
 39. ISMAN, M.B. Plant essential oils for pest and disease management. **Crop Protection**, v. 19, p. 603-608, 2000.
 40. JBILOU, R.; ENNABILI, A.; SAYAH, F. Insecticidal activity of four medicinal plant extracts against *Tribolium castaneum* (Herbst) (Coleoptera: Tenebrionidae). **African Journal of Biotechnology**, v. 5, n. 10, p. 936-940, 2006.
 41. JUNG, P. H.; SILVEIRA, A. C.; NIERI, E. M.; POTRICH, M.; SILVA, E. R. L.; REFATTI, M. Atividade Inseticida de *Eugenia uniflora* L. e *Melia azedarach* L. sobre *Atta laevigata* Smith. **Floresta e Ambiente**, v. 20, n.2, p. 191-196, 2013.
 42. KETOH, G. K.; KOUMAGLO, H. K.; GLITHO, I. A. Inhibition of *Callosobruchus maculatus* (F.) (Coleoptera: Bruchidae) development with essential oil extracted from *Cymbopogon schoenanthus* L. Spreng. (Poaceae), and the wasp *Dinarmus basalis* (Rondani) (Hymenoptera: Pteromalidae). **Journal of Stored Products Research**, v. 41, p. 363-371, 2005.
 43. KNAAK, N.; FIUZA, L. M. Potential of essential plant oils to control insects and microorganisms. **Neotropical Biology and Conservation**, v. 5, p.120-132, 2010.
 44. KOSTIĆ, I.; PETROVIĆ, O.; MILANOVIĆ, S.; POPOVIĆ, Z.; STANKOVIĆ, S.; TODOROVIĆ, G.; KOSTIĆ, M. Biological activity of essential oils of *Athamanta haynaldii* and *Myristica fragrans* to gypsy moth larvae. **Industrial Crops Products**, v. 41, p. 17-20, 2013.
 45. LOECK, A. E.; GRÜTZMACHER, D. D.; COIMBRA, S. M. Ocorrência de formigas cortadeiras do gênero *Acromyrmex* nas principais regiões agropecuárias do Rio Grande do Sul. **Revista Brasileira de Agrociência**, v. 9, n.2, p. 129-133, 2003.
 46. MACHADO, L. A.; SILVA, V. B.; OLIVEIRA, M. M. Uso de extratos vegetais no controle de pragas em horticultura. **Biológico**, São Paulo, v. 69, n. 2, p. 103- 106, 2007.
 47. MAPA. Dados básicos de economia agrícola julho 2014. Disponível em: <[http://www.agricultura.gov.br/arq_editor/Pasta%20de%20Julho%20-%202014](http://www.agricultura.gov.br/arq_editor/Pasta%20de%20Julho%20-%202014.pdf) .pdf>. Acesso em: 26 de Dezembro de 2014.

48. MARSARO JÚNIOR, A. L.; MOLINA-RUGAMA, A. J.; LIMA, C. A.; DELLA LUCIA, T. M. C. 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, 2007.
49. MERLINO, T. 2009. **O veneno no pão nosso de cada dia**. Disponível em: <<http://carosamigos.terra.com.br>>. Acessado em 23 de outubro de 201.
50. MESSIANO, G. B.; VIEIRA, L.; MACHADO, M. B.; LOPES, L. M.; BORTOLI, S. A.; ZUKERMAN-SCHPECTOR, J. Evaluation of Insecticidal Activity of Diterpenes and Lignans from *Aristolochia malmeana* against *Anticarsia gemmatalis*. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 56, n. 8, 2008.
51. NAKATANI, M.; ZHOU, J.; NAKAYAMA, N.; NAKATANI, M.; ABDELGALEIL, S. A. M.; SAAD, M. M. G.; HUANG, R. C.; DOE, M.; IWAGAWA, T. Phragmalin limonoids from *Chukrasia tabularis*. **Phytochemistry**, v. 65, p. 2833-2841, 2004.
52. NASCIMENTO, D. S.; CERVI, A. C.; GUIMARÃES, O. A. A família Aristolochiaceae Juss. no estado do Paraná, Brasil. **Acta Botanica Brasilica**, v. 24, n.2, p. 414-422, 2010.
53. NEINHUIS, C.; WANKE, S.; HILU, K. W.; MULLER, K.; BORSCH, T. Phylogeny of Aristolochiaceae based on parsimony, likelihood and Bayesian analyses of trnL-trnF sequences. **Plant Systematics. and Evolution**, v. 250, p. 7–26, 2005.
54. NERIO, L. S.; OLIVERO-VERBEL, J.; STASHENKO, E. Repellent activity of essential oils: **A review. Bioresource Technology**, v. 101, p. 372 – 378, 2010.
55. OLIVEIRA, S. J. C.; ARAÚJO, N. C.; ARAÚJO, F. A. C.; OGATA, I. S. Controle de formigas cortadeiras, utilizando-se efluente líquido de casas de farinha revista verde de agroecologia e desenvolvimento sustentável grupo verde de agricultura alternativa (GVAA). **Revista Verde**, Mossoró-RN, Brasil v. 6, n. 4, p. 11-15 outubro/dezembro de 2011.
56. PANDEY, A. K.; PALNI, U. T.; TRIPATHI, N. N. Repellent activity of some essential oils against two stored product beetles *Callosobruchus chinensis* L. and *C. maculatus* F. (Coleoptera: Bruchidae) with reference to *Chenopodium ambrosioides* L. oil for the safety of pigeon pea seeds. **Journal Food Scientists & Technologists**, 51: 4066–4071, 2014.
57. RAI, M.; CARPINELLA, M. C. Naturally occurring bioactive compounds. Oxford, **Elsevier**, p. 514, 2006.
58. RAJENDRAN, S.; SRIRANJINI. V. Plant products as fumigants for stored-product insect control. **Journal of Stored Products Research**, v. 44, p. 126-135, 2008.
59. REGNAUL-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, p. 405-424, 20, 2012.
60. RIBEIRO, B. M.; GUEDES, R. N. C.; OLIVEIRA, E. E.; SANTOS, J. P. Insecticide resistance and synergism in Brazilian populations of *Sitophilus zeamais* (Coleoptera: Curculionidae). **Journal of Stored Products Research**, v 39, p 21-31, 2003.
61. ROEL, A. R. Utilização de plantas com propriedades inseticidas: uma contribuição para o Desenvolvimento Rural Sustentável. **Revista Internacional de Desenvolvimento Local**, v. 1, n. 2, p. 43-50, 2001.
62. SIMÕES, C. M. O.; SCHENKEL, E. P.; GOSMANN, G.; MELLO, J. C. P.; MENTZ, L. A.; PETROVICK, P. R. **Farmacognosia: da planta ao medicamento**. 4 ed. Florianópolis, SC: Editora da UFSC; Porto Alegre, RS: Editora da UFRS, 2002.

63. VIEGAS J.R. Terpenos com atividade inseticida: uma alternativa para o controle de insetos. **Química Nova**, v. 26, n.3, p. 390-400, 2003.
64. WALLING, L. L. The myriad plant responses to herbivores. **J. Pl. Growth Regulators**, v.19, p. 195-216, 2000.
65. WILSON, E. O. Caste and division of labor in leafcutter ants (Hymenoptera: Formicidae: *Atta*) I. The overall pattern in *A. sexdens*. **Behavioral Ecology and Sociobiology**, New York, v. 7, p. 143-156, 1980.
66. WIRTH, R.; MEYER, S. T.; ALMEIDA, W. R.; ARAUJO Jr., M. V.; BARBOSA, V. S.; LEAL, I. R. Increasing densities of leaf-cutting ants (*Atta spp.*) with proximity to the edge in a Brazilian Atlantic forest. **Journal of Tropical Ecology**, 23:501–505, 2007.
67. WU, T. S., DAMU, A. G., SU, C.-R., KUO, P.-C. Terpenoids of *Aristolochia* and their biological activities. **Natural Product Reports**, v. 21, p. 594–624, 2004.
68. ZANETTI, R.; ZANUNCIO, J. C.; SANTOS, J. C.; SILVA, W. L. P.; RIBEIRO, G. T.; LEMES, P. G. An Overview of Integrated Management of Leaf-Cutting Ants (Hymenoptera: Formicidae) in Brazilian Forest Plantations. **A Review - Forests** 2014, 5, 439-454.
69. ZANETTI, R.; ZANUNCIO, J. C.; SOUZA-SILVA, A.; MENDONÇA, L. A.; MATTOS, J. O. S.; RIZENTAL, M. S. Eficiência de produtos termonebulígenos no controle de *Atta laevigata* (Hymenoptera: Formicidae) em plantio de eucalipto. **Ciência e Agrotecnologia**, v. 32, p. 1313-1316, 2008.
70. ZARBIN, P. H. G.; RODRIGUES, M. A. C. M.; LIMA, E. R. Feromônios de insetos: tecnologia e desafios para uma agricultura competitiva no Brasil. **Química Nova**, v. 32, p. 722-731, 2009.
71. ZHU, B. C. R.; HENDERSON, G.; YU, Y.; LAINE, R. A. Toxicity and repellency of patchouli oil and patchouli alcohol against Formosan Subterranean Termites *Coptotermes formosanus* Shiraki (Isoptera: Rhinotermitidae). **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 51, p. 4585-4588, 2004.

4. ARTIGO: Óleo Essencial de *Aristolochia trilobata*: Vias de Exposição, Toxicidade Aguda, Misturas Binárias e Efeitos Comportamentais sobre Formigas Cortadeiras.

Periódico a ser submetido: Molecules

Bruna Maria S. Oliveira¹, Carlisson R. Melo¹, Pérciles B. Alves², Abraão A. Santos¹, Alexandre P. Oliveira¹, Alisson da S. Santana¹, Pedro E.S. Nascimento², Arie F. Blank¹, Leandro Bacci¹.

¹ Departamento de Engenharia Agrônômica, Universidade Federal de Sergipe, São Cristóvão, SE, 49035-660, Brazil; E-Mails: bruna_barreiros02@hotmail.com (B.M.S.O.); carlisson_melo@hotmail.com (C.R.M.); abraaoufs@gmail.com (A.A.S.); tandel992@gmail.com (A.P.O.); alisson.0910.silva@gmail.com (A.S.S.); afblank@ufs.br (A.F.B.); bacci.ufs@gmail.com (L.B.)

² Departamento de Química, Universidade Federal de Sergipe, São Cristóvão, SE, 49035-660, Brazil; E-Mails: periclesbalves@gmail.com (P.B.A.); pedro_elison@hotmail.com (P.E.S.N.)

* Author to whom correspondence should be addressed; E-Mail: bacci.ufs@gmail.com; Tel.: +55-79-2105-6981; Fax: +55-79-2105-6494.

Resumo: Plantas do gênero *Aristolochia* têm sido frequentemente relatadas como importantes plantas medicinais em diversas partes do mundo. Apesar do elevado potencial biativo das plantas deste gênero, até o momento, não se tem relatos dos seus efeitos sobre formigas cortadeiras. Assim, objetivou-se com este trabalho avaliar a atividade formicida do óleo essencial de *Aristolochia trilobata* e de seus compostos majoritários sobre as formigas cortadeiras *Atta sexdens* e *Acromyrmex balzani*. Para isso, foram realizados bioensaios de vias de exposição, toxicidade aguda, misturas binárias dos compostos majoritários e ensaios comportamentais. Foram identificados 25 compostos no óleo essencial de *A. trilobata* por CG/EM/DIC. Os constituintes em maiores proporções foram: acetato de sulcatila, limoneno, p-cimeno e linalol. O óleo essencial de *A. trilobata* e seus compostos majoritários isolados foram eficientes contra operárias de *A. balzani* e *A. sexdens* quando a via de exposição foi fumigação. Estes compostos demonstraram rápida e eficiente atividade formicida sobre as formigas. Os compostos atuaram de forma sinérgica e aditiva sobre *A. balzani* e *A. sexdens*, respectivamente; e causaram forte repelência / irritabilidade às formigas. Assim, nossos resultados mostram o grande potencial do óleo essencial de *A. trilobata* e dos seus compostos majoritários para o desenvolvimento de novos formicidas.

Palavras-chave: Aristolochiaceae; Formicidae; fumigação; sinergismo; repelência.

Abstract: Plants from *Aristolochia* genus have been frequently reported as important medicinal plants in mostly world. Despite the high bioactive potential of this plants, there were not reported effects against leaf-cutting ants. Thus, the aim of this work was to evaluate the ant activity of essential oil of *Aristolochia trilobata* and its major compounds on leaf-cutting ants *Atta sexdens* and *Acromyrmex balzani*. For that were performed bioassays of two exposure routes, acute toxicity, binary mixtures of major compounds and behavioral experiments. Twenty five compounds were identified in the essential oil of *A. trilobata* by GC/MS/FID. The constituents in higher proportions were sulcatyl acetate, limonene, p-cymene, and linalool. The essential oil of *A. trilobata* and their major compounds were effective against workers of *A. balzani* and *A. sexdens* when the route of exposure was fumigation. These compounds showed a fast and efficient ant activity against this species. The compounds acted synergistically and additively against *A. balzani* and *A. sexdens*, respectively; and caused strong repellency / irritability on ants. Thus, our results show the great potential of the essential oil of *A. trilobata* and its major compounds for the development of new insecticides.

Keywords: Aristolochiaceae; Formicidae; fumigation; synergism; repellency.

4.1. Introdução

As formigas cortadeiras (Hymenoptera: Formicidae) destacam-se como umas das mais importantes pragas nas regiões neotropicais devido à sua alta abundância, ampla distribuição e aos enormes prejuízos econômicos que causam à agricultura e silvicultura [1]. Um dos fatores responsáveis pelo crescimento das populações destes organismos em áreas antropizadas é atribuído ao aumento da densidade de plantas pioneiras (p. ex.: pobres em defesas químicas) em áreas de bordas florestais, o que ressalta a importância dos compostos do metabolismo secundário das plantas na regulação das populações de herbívoros. De fato, compostos de defesa presentes naturalmente em plantas têm sido apontados como promissores no manejo de formigas cortadeiras em detrimento dos inseticidas organossintéticos [2].

O uso indiscriminado de inseticidas convencionais tem resultado em uma gama de efeitos negativos, tais como: contaminação do ambiente, fragmentação das colônias e aumento do número de ninhos [3-4]. Assim, a busca por compostos ambientalmente mais seguros e ao mesmo tempo eficientes, tem sido crescente nos últimos anos. Neste contexto, encontram-se os óleos essenciais de plantas, os quais têm demonstrado toxicidade por diferentes vias de exposição e diversos efeitos comportamentais em insetos praga [5].

Os óleos essenciais de plantas são formados por vários compostos, em sua maioria mono- e sesquiterpenos de baixo peso molecular. Por serem constituídos por misturas complexas de diferentes compostos químicos, a probabilidade de surgimento de resistência em insetos é menor. Outras vantagens no uso desses produtos estão relacionadas à sua rápida degradação no ambiente, ação rápida no organismo alvo e menor toxicidade aos mamíferos [6]. Além destas características, outro diferencial dos óleos essenciais em relação aos outros produtos (p. ex.: isolados derivados de plantas e inseticidas convencionais) consiste na interação entre os componentes que compõem sua mistura. Interações sinérgicas, por exemplo, podem potencializar os efeitos biológicos dos óleos essenciais permitindo a aplicação de dosagens menores, e conseqüentemente redução dos custos de manejo e dos

riscos ambientais [7]. Ações sinérgicas podem ocorrer entre compostos majoritários presentes nos óleos essenciais promovendo assim aumento da eficácia do óleo [8-10].

A família Aristolochiaceae Juss. é constituída por aproximadamente 600 espécies de plantas distribuídas em regiões subtropicais, tropicais e temperadas [11], sendo frequentemente relatadas como importantes plantas medicinais [12]. Extratos de diferentes espécies de *Aristolochia* também apresentaram bioatividade contra insetos [12,13]. No entanto, o potencial de utilização dos óleos essenciais dessas plantas no controle de pragas ainda não foi estudado.

No presente estudo, avaliamos a atividade formicida de *Aristolochia trilobata* contra operárias das formigas cortadeiras *Acromyrmex balzani* e *Atta sexdens*, visando: (i) identificar e quantificar os compostos presentes no seu óleo essencial; (ii) estudar via de exposição destes insetos ao óleo essencial e aos seus compostos majoritários; (iii) avaliar a toxicidade do óleo essencial e de seus majoritários sobre as formigas; (iv) determinar se há efeito sinérgico, aditismo e/ou antagônico proveniente da mistura binária dos componentes majoritários do óleo essencial; e (v) observar as respostas comportamentais das operárias sob exposição ao óleo essencial e aos seus componentes majoritários. A partir dos resultados da presente investigação, o óleo essencial de *A. trilobata* e seus compostos majoritários - acetato de sulcatila, limoneno, p-cimeno e linalol - foram caracterizados por apresentarem atividade formicida por fumigação sobre *A. balzani* e *A. sexdens*, afetando a sobrevivência e o comportamento destas espécies.

4.2. Resultados e Discussão

4.2.1. Caracterização do óleo essencial

Vinte e cinco compostos representando 98,72% da composição do óleo essencial de *A. trilobata* foram identificados por CG/EM/DIC, sendo a sua maioria formada por monoterpenos (84,83%) (Tabela 1). Os constituintes em maiores proporções foram os monoterpenos: acetato de sulcatila (25,64%), limoneno (24,80%), p-cimeno (10,41%) e linalol (9,51%). Um total de 13 constituintes foram encontrados em concentrações inferiores a 1% e oito compostos tiveram seus percentuais variando entre 1 e 6% (Tabela 1). Os ácidos aristolóquicos comumente encontrados em plantas do gênero *Aristolochia* [14] não foram detectados aqui. Estudos revelam que estes compostos causam efeitos nefrotóxico, cancerígeno e mutagênico [15-17].

Os compostos majoritários encontrados no óleo essencial de *A. trilobata* foram os mesmos relatados por outros autores [18], embora no presente estudo estes se apresentaram em proporções mais elevadas. Tal variação é comumente relatada, sendo determinada por fatores genéticos e/ou ambientais [8,19]. O composto majoritário, acetato de sulcatila já foi considerado marcador para espécie [18]. Compostos ou classes de compostos podem ser considerados marcadores para uma espécie vegetal quando têm correlação com seu efeito biológico [20].

4.2.2. Bioensaios de vias de exposição

O óleo essencial de *A. trilobata* e seus compostos majoritários isolados foram eficientes contra operárias de *A. balzani* e *A. sexdens* quando a via de exposição foi fumigação. Estes compostos causaram mortalidades superiores a 80% por fumigação após 48 horas de exposição. Já na aplicação tópica por contato a mortalidade foi inferior a 70 e 20 % para as espécies *A. balzani* e *A. sexdens*, respectivamente (Figura 1).

Foi observado para o óleo essencial de *Pogostemon cablin* toxicidade por contato sobre as formigas *Camponotus melanoticus*, *Camponotus novogranadensis* e *Dorymyrmex thoracicus* [21]. O mesmo não foi verificado em nosso trabalho. Assim, devido à ausência de toxicidade do óleo essencial de *A. trilobata* e de seus compostos majoritários quando utilizados por contato, este resultado possivelmente indica que tais compostos não conseguiram atravessar o exoesqueleto em quantidades letais quando aplicados por esta via de exposição. Esta barreira à penetração pode ser determinada pela composição química da cutícula do inseto e/ou pelas propriedades físico-químicas dos compostos presentes no óleo essencial [8,22].

Por outro lado, todos os compostos analisados aqui mostraram forte efeito de fumigação. A escassez de estudos que avaliem a toxicidade por fumigação de óleos essenciais sobre formigas impede comparações. No entanto, pode-se afirmar que tais compostos são promissores como fumigantes, uma vez que causaram mortalidades superiores a 80% [23].

O efeito de fumigação dos óleos essenciais tem sido atribuído à penetração de seus compostos através dos espiráculos dos insetos [24]. Isto ocorre porque estas estruturas não constituem barreiras efetivas contra a penetração gasosa. Por esse motivo, a fumigação consiste na mais rápida e eficiente maneira dos mono- e sesquiterpenos atingirem o sistema nervoso dos insetos - provável sítio de ação destas substâncias [25-26]. Alguns óleos essenciais são relatados por apresentarem modo de ação neurotóxico por causarem hiperatividade, tremores e paralisia do inseto após o contato [27]. De fato, no presente estudo foi observado que o óleo essencial de *A. trilobata* e seus compostos majoritários causaram sintomas típicos de intoxicação neurotóxica, como perda de coordenação motora e interrupção das atividades normais das formigas [28].

Estudos prévios têm atribuído a toxicidade de mono- e sesquiterpenos presentes nos óleos essenciais de plantas a diversos mecanismos, tais como: atuação em sítios vulneráveis, como o citocromo P450 [22]; interferência nos canais de cálcio modulados pelo ácido gama-

aminobutírico – GABA [29]; e interferência na ação da octopamina, um neuromodulador encontrado somente em invertebrados [30]. No entanto, não se pode afirmar qual o mecanismo está atuando sobre os insetos estudados, sendo necessários estudos adicionais sobre os efeitos bioquímicos e farmacológicos.

4.2.3. Toxicidade aguda por fumigação

O óleo essencial de *A. trilobata* demonstrou eficiente atividade inseticida sobre as espécies *A. balzani* e *A. sexdens*. As concentrações do óleo e de seus compostos majoritários necessárias para causar 50% de mortalidade das operárias de *A. balzani* e *A. sexdens* por fumigação após 48 horas de exposição variaram de 2,18 a 5,72 $\mu\text{L L}^{-1}$ e 3,37 a 6,73 $\mu\text{L L}^{-1}$, respectivamente (Tabela 2).

Os monoterpenos linalol e acetato de sulcatila quando aplicados isoladamente foram 1,6 e 1,7 vezes mais tóxicos do que o óleo essencial de *A. trilobata* para *A. balzani*. O mesmo não ocorreu para p-cimeno e limoneno que causaram toxicidade inferior a esta espécie em relação ao óleo essencial. Já para *A. sexdens*, os compostos limoneno, linalol e acetato de sulcatila causaram toxicidade semelhante à observada para o óleo essencial de *A. trilobata*. Somente o monoterpeno p-cimeno foi 1,6 vezes mais tóxico do que o óleo para esta espécie (Tabela 2).

A tolerância entre as espécies de formigas foi variável em relação aos compostos estudados. Operárias de *A. sexdens* foram mais tolerantes ao óleo essencial de *A. trilobata* e aos compostos linalol e acetato de sulcatila. Já *A. balzani* resistiu mais ao monoterpeno p-cimeno. Limoneno causou toxicidade semelhante para ambas às espécies (Tabela 2).

A maior susceptibilidade de *A. balzani* (9,26 mg de massa corporal) em relação a *A. sexdens* (15,09 mg de massa corporal) pode estar associada ao seu menor volume corporal e consequente maior área específica, o que confere maior exposição aos compostos [31-33]. Uma vez que os voláteis penetram pelos espiráculos, a constituição química da cutícula

presente nestas estruturas também pode determinar uma maior ou menor penetração dos compostos presentes no óleo essencial de *A. trilobata* levando a variações na tolerância das espécies [22].

Alternativamente, a maior tolerância de *A. sexdens* pode estar associada com a insensibilidade do sítio-alvo ou metabolização mais eficiente por enzimas destoxificativas [22,31]. Considerando-se que muitos mono- e sesquiterpenos presentes no óleo essencial de *A. trilobata* atuam inibindo a enzima acetilcolinesterase nos insetos [30], alterações nesta enzima e/ou a velocidade com que ela catalisa a hidrólise do neurotransmissor acetilcolina podem também ser responsáveis pela maior tolerância das formigas do gênero *Atta* em relação a *Acromyrmex*. Da mesma forma, maiores taxas de metabolização dos terpenos de *A. trilobata* promovidas por enzimas como as monooxigenases dependentes do citocromo P-450, glutathione S-transferase e esterases podem ser responsáveis pela maior tolerância das formigas do gênero *Atta* [22,31].

A sobrevivência das operárias de *A. balzani* e *A. sexdens* expostas ao óleo essencial de *A. trilobata* e aos seus compostos majoritários isolados na CL_{90} foi significativamente reduzida ao longo do tempo (Teste de Log-rank: $\chi^2 = 463,2$; gl = 5, $P < 0,001$ e Teste de Log-rank: $\chi^2 = 338,0$; gl = 5, $P < 0,001$, respectivamente) (Figura 2). A rápida atividade formicida do óleo essencial de *A. trilobata* indica que a toxicidade é mediada principalmente por interação de seus constituintes com sítios alvos no sistema nervoso dos insetos [27].

A sobrevivência das espécies *A. balzani* e *A. sexdens* após 60 horas foi superior a 90% no tratamento controle. De forma geral, o óleo essencial de *A. trilobata* e seus compostos majoritários atuaram de forma mais rápida sobre *A. sexdens* em comparação a *A. balzani* (Figura 2). O maior tempo observado para causar morte de operárias de *A. balzani* quando expostas ao óleo essencial de *A. trilobata* e seus compostos majoritários sugere uma possível utilização futura desses produtos na forma de iscas granuladas, já que haveria tempo para os indivíduos carregarem os compostos tóxicos para dentro da colônia [9,34]. Por outro lado, a

rápida mortalidade observada para *A. sexdens* sugere uma possível utilização direta nos ninhos por meio do uso de pós-secos ou termonebulização. Contudo, a aplicação prática desses produtos necessita do desenvolvimento de formulações adequadas a cada forma de aplicação [35].

Os compostos p-cimeno e linalol causaram 100% de mortalidade em menos de 35 horas para ambas as espécies de formigas. O mesmo ocorreu para o óleo essencial de *A. trilobata* e limoneno para *A. sexdens*. Acetato de sulcatila também causou 100% de mortalidade a *A. sexdens*, mas este efeito levou 47 horas para ocorrer (Figura 2). Essas diferenças foram refletidas no tempo médio de sobrevivência (TL₅₀) observado para cada composto (Figura 3). O tempo médio de sobrevivência não foi estimado para insetos expostos ao tratamento controle devido à baixa taxa de mortalidade observada (<10%).

O óleo essencial de *A. trilobata* e seus compostos majoritários atuaram de forma muito rápida causando mortalidade na metade da população de *A. sexdens* em menos de 20 horas. Entretanto, foram necessárias 37,7; 43,5 e 35,8 horas para causar a mesma mortalidade em *A. balzani* quando expostas ao óleo essencial de *A. trilobata*, limoneno e acetato de sulcatila (Figura 3).

4.2.4. Toxicidade das misturas binárias

Bioensaios utilizando misturas binárias dos compostos majoritários do óleo essencial de *A. trilobata* revelaram que estes compostos atuam de forma sinérgica na toxicidade sobre *A. balzani* (Tabela 3). Já para a espécie *A. sexdens* a maioria das combinações entre os compostos exibiu efeito aditivo, exceto para p-cimeno + limoneno e limoneno e acetato de sulcatila que exibiram efeitos antagônico e sinérgico, respectivamente (Tabela 3). O efeito sinérgico observado entre os compostos majoritários para *A. balzani* pode ajudar a explicar porque o óleo essencial (p. ex. mistura de todos os compostos) foi mais tóxico para esta espécie do que para *A. sexdens*.

O sinergismo que ocorre entre os compostos presentes nos óleos essenciais de plantas pode resultar numa maior bioatividade do que a observada para os compostos isolados. Tais efeitos são comuns em terpenos, compostos hidrofóbicos que apresentam efeitos sinérgicos sobre outros compostos solubilizando-os e facilitando sua passagem através das membranas [30]. Assim, este tipo de ação aumenta a eficiência desses produtos permitindo a utilização de menores quantidades em uma mistura para atingir níveis satisfatórios de eficiência [36].

Além das interações entre os compostos majoritários, existe ainda a possibilidade de outras combinações também mostrarem efeitos sinérgicos. Constituintes minoritários podem atuar como agentes sinérgicos, aumentando a eficácia dos compostos majoritários [9]. Estes componentes desempenham importantes papéis em diversas características do óleo, tais como: atração hipo ou hidrofílica, fixação [8] e penetração em células [37].

Por outro lado, para *A. sexdens*, as misturas binárias mostraram efeito de aditismo, sem ocorrência de efeitos potencializados quando em conjunto. Estudos têm demonstrado que interações complexas entre os componentes dos óleos essenciais podem agir de diferentes formas [33,38]. Dessa forma, este resultado é possivelmente explicado pelas diferentes capacidades metabólicas e fisiológicas das espécies de formigas frente às misturas de compostos.

4.2.5. Bioensaios comportamentais

O comportamento de evitar superfícies tratadas com o óleo essencial de *A. trilobata* e seus compostos majoritários foi avaliado de duas formas - repelência (evitar sem contato) e irritabilidade (evitar após o contato) (Figuras 4 e 5).

O óleo essencial de *A. trilobata* e seus compostos majoritários foram repelentes a *A. balzani* e *A. sexdens*. Na média, os indivíduos destas espécies demoraram 53 e 46 % do tempo para realizar o primeiro contato com a superfície tratada, respectivamente (Figura 4). Não houve diferenças significativas na repelência observada entre os tratamentos para *A. balzani*

(Kruskal-Wallis: $\chi^2 = 6,61$; g.l. = 4; $p = 0,158$) e *A. sexdens* (Kruskal-Wallis: $\chi^2 = 2,36$; g.l. = 4; $p = 0,167$). O comportamento de evitar os compostos sem contato confirma que estes organismos detectam óleos essenciais e seus constituintes por comunicações químicas, evitando-os quando tem chance de escolha [39]. O potencial repelente dos metabólitos secundários de plantas tem sido demonstrado sobre as mais variadas ordens de insetos [9].

Todas as substâncias testadas causaram grande irritabilidade em *A. balzani* e *A. sexdens*. Não houve diferenças significativas no tempo que o inseto permaneceu no lado não tratado entre os tratamentos para *A. balzani* (Kruskal-Wallis: $\chi^2 = 2,93$; g.l. = 4; $p = 0,569$) e *A. sexdens* (Kruskal-Wallis: $\chi^2 = 6,81$; g.l. = 4; $p = 0,146$). De forma geral, os insetos passaram mais de 92% do tempo total (parado e movimentando) no lado não tratado após o contato (Figura 5). O comportamento de irritabilidade confirma que estes organismos, além de detectar óleos essenciais e seus constituintes por comunicações químicas também possuem sensilas uniporo responsáveis pela detecção destes compostos no contato [39].

Entender como esses organismos se comportam frente a produtos bioativos é essencial, uma vez que formigas cortadeiras possuem recursos para reduzir a ação de compostos químicos prejudiciais a elas e/ou ao fungo. Dentre os fatores comportamentais que podem constituir obstáculos ao controle, destacam-se a comunicação química, a sensibilidade olfativa, capacidade de aprendizagem, seletividade e produção de substâncias antibióticas [40]. Efeitos de repelência e/ou irritabilidade podem contribuir para evitar estes comportamentos em formigas cortadeiras nas áreas controle.

4.3. Material e Métodos

4.3.1. Local de coleta e material vegetal

O material vegetal foi coletado em área de manguezal no município de Pirambu, Sergipe, Brasil (10°40'42"S, 36°52'25"W). A média anual de temperatura e precipitação

pluviométrica da região é de 26°C e 1.650mm, respectivamente, com período chuvoso de março a agosto [41].

Caules de 1 cm de diâmetro da espécie *Aristolochia trilobata* foram coletados em plantas no estágio fenológico vegetativo das 9 às 12 horas durante os meses de fevereiro a setembro de 2014. O material vegetal foi seco a $60 \pm 1^\circ\text{C}$ por 4 dias em estufa de secagem (Marconi MA 037) [42]. Espécimen testemunha foi depositada no Herbário da Universidade Federal de Sergipe com número de registro ASE 35.723, Departamento de Biologia, CCBS, São Cristóvão, Sergipe, Brasil, 49100-000.

4.3.2. Obtenção e análise do óleo essencial

O óleo essencial foi obtido por hidrodestilação em aparelho tipo Clevenger [43]. Posteriormente, foi separado da fase aquosa e armazenado em frasco cor âmbar sendo mantido em freezer a -4°C até sua utilização.

A análise dos componentes do óleo essencial foi realizada utilizando CG/EM/DIC (GCMSQP2010 Ultra, Shimadzu Corporation, Kyoto, Japão) equipado com um amostrador com injeção automática AOC-20i (Shimadzu). As separações foram realizadas em uma coluna capilar de sílica fundida Rtx®-5MS Restek (5%-difenil-95%-dimetilpolisiloxano) 30 m x 0,25 mm de diâmetro interno, 0,25 mm de espessura de filme, em um fluxo constante de Hélio 5.0 com taxa de 1,0 mL min⁻¹.

A temperatura de injeção foi de 280 °C, 1,0 µL (10 mg mL⁻¹) de amostra foi injetado, com uma razão de *split* de 1:30. A programação de temperatura do forno iniciou-se a partir de 50 °C (isoterma durante 1,5 min), com um aumento de 4 °C min⁻¹, até 200 °C, em seguida, a 10 °C min⁻¹ até 300 °C, permanecendo por 5 min. Para o CG/EM as moléculas foram ionizadas por ionização por elétrons com energia de 70 eV. Os fragmentos analisados por um sistema quadrupolar programado para filtrar fragmentos/íons com *m/z* na ordem de 40 a 500 Da e detectados por um multiplicador de elétrons. O processamento de dados foi realizado

com software CGMS Postrun Analysis (Labsolutions- Shimadzu).

O processo de ionização para o CG/DIC foi realizado pela chama proveniente dos gases hidrogênio 5.0 (30 mL min⁻¹) e ar sintético (300 mL min⁻¹). As espécies coletadas e a corrente elétrica gerada foram amplificadas e processadas. O processamento de dados foi realizado utilizando o software CG Postrun Analysis (Labsolutions- Shimadzu).

A identificação dos constituintes foi realizada com base na comparação dos índices de retenção da literatura [44]. Para o índice de retenção foi utilizando a equação de Van den Dool e Kratz (1963) [45] em relação a uma série homóloga de *n*-alcanos (*n*C9- *n*C18). Também foram utilizadas três bibliotecas do equipamento WILEY8, NIST107 e NIST21 que permite a comparação dos dados dos espectros com aqueles constantes das bibliotecas utilizando um índice de similaridade de 80%.

4.3.3. Obtenção dos compostos majoritários

Foram considerados como majoritários os compostos do óleo essencial de *A. trilobata* que, individualmente, apresentaram-se em proporções acima de 6%: p-cimeno, limoneno, linalol e acetato de sulcatila (Figura 6).

Padrões dos compostos foram adquiridos da empresa Sigma-Aldrich® (Steinheim, Germany), com exceção do acetato de sulcatila, que foi obtido a partir da síntese de sulcatona. Para a obtenção do (±)-acetato de sulcatila foi feita a redução química do composto 6-metil-5-hepten-2-ona (sulcatona, 500 mg, 3,97 mmol, Sigma Aldrich®) (Figura 7).

A sulcatona foi adicionada em um balão de fundo redondo com capacidade de 50 mL, solubilizada em 10 mL de metanol e em seguida adicionou-se NaBH₄ (160 mg, 3,97 mmol). A mistura foi mantida sob agitação magnética à temperatura ambiente por uma hora. Após esse tempo a reação foi interrompida com adição de 1 mL de água destilada.

A extração do produto obtido [(±)-6-metil-5-hepten-2-ol 2 (sulcatol)] foi realizada com acetato de etila (20 mL). O acetato de etila foi removido por rotaevaporação. O sulcatol

foi completamente seco com N₂ com rendimento de 98% (500 mg, 3,91 mmol). Em seguida, o sulcatol) foi tratado com piridina (1 mL) e anidrido acético (1 mL) por 24 horas a temperatura ambiente. Após este tempo foram adicionados a mistura reacional 4 mL de HCl 10% e em seguida foi extraído com acetato de etila (20 mL) da mistura reacional o 2-acetil 6-metil-5-hepteno (acetato de sulcatila). O solvente foi removido por rotaevaporação. O acetato de sulcatila foi completamente seco com N₂ com um rendimento de 83% (550mg, 3,24mmol).

4.3.4. Insetos

Operárias de *Atta sexdens* e *Acromyrmex balzani* foram obtidas diretamente de ninhos provenientes do campus da Universidade Federal de Sergipe, São Cristóvão, Sergipe, Brasil (10°54' S, 37°04' W). As formigas foram mantidas nos fragmentos dos ninhos em recipientes plásticos redondos (50 x 20 cm) em condições ambiente (temperatura 25-27°C e umidade relativa 60±5%) por 24h antes da realização dos testes, sendo fornecida apenas água destilada durante este período.

4.3.5. Bioensaios

Os bioensaios foram conduzidos em laboratório na Universidade Federal de Sergipe, São Cristóvão-SE, Brasil. Todos os tratamentos foram diluídos no solvente acetona (Panreac, UV-IR-HPLC-GPC PAI-ACS, 99,9% pureza). Testes preliminares mostraram que este solvente não afetou a sobrevivência das formigas. Os tratamentos consistiram no óleo essencial de *A. trilobata* e seus compostos majoritários: p-cimeno, limoneno, linalol e acetato de sulcatila. No controle foi utilizado apenas o solvente acetona.

4.3.5.1. Vias de exposição

A toxicidade do óleo essencial de *A. trilobata* e de seus compostos majoritários foram avaliados por duas vias de exposição: aplicação tópica por contato e fumigação. Inicialmente

foram utilizadas a dose de $10 \mu\text{g mg}^{-1}$ no bioensaio de contato e a concentração de $10 \mu\text{L L}^{-1}$ no bioensaio de fumigação para determinar a eficiência dos tratamentos por estas vias de exposição. Testes preliminares com outras espécies de formigas indicaram serem esta dose e concentração boas indicadoras de eficiência. Testes posteriores foram realizados com a via de exposição mais eficiente.

Nos dois bioensaios o delineamento experimental foi inteiramente casualizado com quatro repetições. As unidades experimentais foram acondicionadas em estufa tipo B.O.D. com temperatura de $25 \pm 1^\circ\text{C}$, umidade relativa $>70\%$ e fotoperíodo de 12 horas. Os indivíduos utilizados foram padronizados no mesmo tamanho para cada espécie de formiga. Para cálculo da dose, as massas médias de *A. balzani* e *A. sexdens* foram obtidas medindo-se a massa de 30 indivíduos utilizando uma balança analítica de precisão de 0,01 mg (Shimadzu, AUW220D). Avaliações de mortalidade foram realizadas 48 horas após a montagem dos bioensaios. Foram considerados mortos os indivíduos que se mantiveram imóveis e não responderam a nenhum estímulo.

No bioensaio de aplicação tópica por contato, cada unidade experimental foi constituída por uma placa de Petri de vidro (9 x 2cm) forrada no fundo por papel filtro umedecido com 0,5 mL de água destilada contendo sete operárias. Testes prévios indicaram que este número de formigas por placa e a condição de umidade garantem maior tempo de sobrevivência dos indivíduos. As placas com as formigas foram mantidas em freezer a -4°C por 1 min para reduzir a atividade das mesmas e permitir a aplicação tópica dos tratamentos. Testes prévios indicaram que esta temperatura por este tempo não afetam a sobrevivência das formigas. Em cada indivíduo foi aplicado 1 μL do óleo essencial de *A. trilobata*, dos compostos majoritários e de acetona (controle) na região protorácica com o auxílio de uma microseringa Hamilton® de 10 μL . As placas contendo os insetos tratados foram cobertas com filme plástico de PVC e acondicionadas em estufa tipo B.O.D.

No bioensaio de fumigação cada repetição foi constituída por um pote de vidro (250

mL) forrado no fundo por papel filtro umedecido com 0,5 mL de água destilada contendo sete operárias. Testes prévios indicaram que este número de formigas por pote e a condição de umidade garantem maior tempo de sobrevivência dos indivíduos. Os tratamentos (óleo essencial de *A. trilobata* e os compostos majoritários) foram aplicados com o auxílio de uma microseringa Hamilton® de 10 µL sobre papel filtro de 1 cm² (Unifil, cod. 501.009) fixado por uma linha de tecido na parte inferior da tampa do pote. Pedaco de papel filtro de (1 cm²) foi o substrato de dispersão dos voláteis que recebeu o tratamento, uma linha manteve esse papel no centro do pote, fora do alcance das formigas, evitando assim o contato. Foram utilizados 10 µL da solução do óleo essencial de *A. trilobata* e de cada composto majoritário. Os potes foram fechados hermeticamente com tampa plástica e filme de PVC e posteriormente colocados em estufa incubadora tipo B.O.D.

4.3.5.2. Toxicidade aguda por fumigação

A toxicidade aguda por fumigação foi analisada por meio das concentrações e tempos letais do óleo essencial de *A. trilobata* e seus compostos majoritários sobre as duas espécies de formigas.

Para a determinação das concentrações letais (CL₅₀ e CL₉₀) os procedimentos empregados foram semelhantes aos utilizados no bioensaio de fumigação (ver item 4.3.5.1.). No entanto, foram utilizadas 14 e 10 concentrações do óleo essencial de *A. trilobata* e de cada composto majoritário para se determinar as curvas de concentração-mortalidade de *A. balzani* e *A. sexdens*, respectivamente.

Para determinação dos tempos letais (curvas de sobrevivência e TL₅₀) os procedimentos empregados foram semelhantes aos utilizados no bioensaio de fumigação (ver item 4.3.5.1.). No entanto, foi utilizada apenas uma concentração (CL₉₀ determinada bioensaio anterior para cada tratamento) com 10 repetições. As avaliações de mortalidade foram realizadas a cada 30 minutos nas duas primeiras horas após a montagem do

experimento, a cada 60 minutos até 7 horas, a cada 120 minutos até 23 horas e, posteriormente, a cada 240 minutos até 60 horas.

4.3.5.3. Toxicidade das misturas binárias

Os efeitos de toxicidade aguda por fumigação da mistura binária dos compostos majoritários de *A. trilobata* (p-cimeno, limoneno, linalol e acetato de sulcatila) foram determinados com procedimentos semelhantes aos utilizados no bioensaio de fumigação (ver item 4.3.5.1.).

Inicialmente, os valores das CL_{50} dos compostos mais eficazes determinadas no bioensaio de fumigação (ver Tabela 3) foram utilizados para determinar as concentrações utilizadas nestes bioensaios. Foram formados pares seguindo esta relação de eficiência utilizando as concentrações dos limites inferiores e superiores dos intervalos de confiança das CL_{50} dos compostos mais eficazes proporção de 1:1.

Os compostos majoritários foram aplicados isoladamente e em mistura nestas concentrações para cada espécie de formiga para permitir as comparações. Mortalidades reais foram comparadas com as mortalidades esperadas e os efeitos das misturas binárias foram classificados como aditismo, sinergismo ou antagonismo.

4.3.5.4. Bioensaios comportamentais

Os efeitos comportamentais do óleo essencial de *A. trilobata* e de seus compostos majoritários sobre operárias de *A. balzani* e *A. sexdens* foram divididos em repelência (evitar sem o contato) e irritabilidade (evitar após o contato) [46].

Os bioensaios foram realizados em arenas formadas por placas de Petri de vidro (9 e 2 cm) forradas no fundo por papel filtro dividido em metades tratada e não-tratada (somente acetona). O tratamento dos discos consistiu na aplicação de 0,4 mL da solução dos tratamentos a 1%. Esta concentração não causa mortalidade aos indivíduos durante o período

avaliado. As partes tratadas e não-tratadas foram colocadas em capela de exaustão por 5 minutos para evaporação do solvente. As metades do papel filtro (tratada e não-tratada) foram fixadas com fita dupla face no fundo das placas.

No centro das arenas foi inserida uma única operária adulta de *A. balzani* ou *A. sexdens*. Para cada combinação de espécie x tratamento foram realizadas 20 repetições, totalizando 200 arenas. As observações consistiram em registrar por 15 minutos ininterruptos o tempo que a formiga permaneceu parada e em movimento em cada lado da placa; e o tempo gasto para o primeiro contato com a área tratada. Foi considerado um contato quando a formiga permaneceu por mais de 1s na área tratada.

A repelência foi mensurada considerando-se o tempo gasto para a formiga ter contato com o lado tratado, sendo que quanto maior o tempo gasto maior a repelência do tratamento. Já a medida de irritabilidade consistiu no tempo em que a formiga permaneceu (parada e/ou caminhando) em cada lado da placa após o primeiro contato, sendo que quanto maior o tempo no lado não-tratado, maior a irritabilidade.

4.3.6. Análises estatísticas

Os resultados de mortalidade dos bioensaios de vias de exposição, toxicidade aguda por fumigação para determinação das CLs e toxicidade das misturas binárias foram corrigidos em relação à mortalidade ocorrida na testemunha usando-se a fórmula de Abbott (1925) [47].

Para determinação da eficiência da via de exposição foi utilizado o critério para registro de um inseticida no Ministério da Agricultura e Pecuária do Brasil, de que o mesmo cause mortalidade mínima de 80% [23].

Análises de Próbit foram realizadas para determinar as curvas concentração-mortalidade do óleo essencial de *A. trilobata* e dos compostos majoritários para cada espécie de formiga. Foram aceitas curvas com probabilidade maior que 0,05 de aceitação da hipótese de nulidade pelo teste χ^2 . Por meio destas curvas foram obtidas as concentrações letais (CL₅₀

e CL₉₀) com seus respectivos intervalos de confiança a 95% de probabilidade usando o software SAS [49]. As CLs foram comparadas pelo critério da não-sobreposição dos intervalos de confiança (IC₉₅) com a origem do intervalo.

Os resultados dos bioensaios de tempo letal foram submetidos à análise de sobrevivência usando o software SAS [48]. Este procedimento não-paramétrico permite a estimativa de curvas de sobrevivência obtidas através de estimadores de Kaplan-Meier gerados a partir da proporção de insetos sobreviventes do início até o fim do experimento. Foram determinados os tempos necessários para causar mortalidade em 50% das populações das espécies de formigas para cada tratamento.

Nos bioensaios de misturas binárias as mortalidades esperadas foram calculadas segundo a fórmula descrita por Hummelbrunner e Isman [10]:

$$E = Oa + Ob (1 - Oa),$$

onde: E é a mortalidade esperada e Oa e Ob são mortalidades observadas dos compostos puros.

Os efeitos das misturas binárias foram classificados por meio de comparações entre o χ^2 calculado e o χ^2 tabelado ($\chi^2_{\text{tab}} = 3,84$; g.l. = 1; $\alpha = 0,05$). O χ^2 foi calculado da seguinte forma:

$$\chi^2 = (Om - E)^2 / E,$$

onde: Om é a mortalidade observada da mistura binária.

Valor do par analisado com $\chi^2_{\text{cal}} < 3,84$ o efeito é de aditismo (também chamado não-efeito). Valor do par analisado com $\chi^2_{\text{cal}} > 3,84$ o efeito é de sinergismo ou antagonismo. Neste último caso deve-se observar as mortalidades esperadas e observadas das misturas binárias.

Os dados dos bioensaios de comportamento foram submetidos a análises para investigar as pressuposições de normalidade e homogeneidade de variância usando o software SAS [49]. Posteriormente, os dados de repelência e irritabilidade foram submetidos ao teste

não paramétrico de Kruskal-Wallis seguidos por Wilcoxon a $p < 0,05$ usando o software SAS [49].

4.4. Conclusões

O óleo essencial de *A. trilobata* e seus constituintes majoritários p-cimeno, limoneno, linalo e acetato de sulcatila apresentam rápida e elevada toxicidade por fumigação para as espécies de formigas cortadeiras *A. balzani* e *A. sexdens*. Além de todos os tratamentos reduzirem significativamente à sobrevivência das espécies de formigas, também causaram fortes efeitos comportamentais de repelência e irritabilidade. Para *A. balzani*, os compostos majoritários mostram efeito sinérgico, o que possibilita a utilização de dosagens menores para seu controle.

Estudos adicionais deverão ser realizados a fim de elucidar as atividades destes compostos em condições ambientais. Esse trabalho demonstra que o óleo essencial de *A. trilobata* e seus majoritários podem consistir em alternativas ao uso de inseticidas convencionais representando fontes promissoras para novas moléculas formicidas.

Agradecimentos

A técnica Marta C.V. Farias e a professora Ana Paula N. Prata do Herbário da Universidade Federal de Sergipe pela identificação da espécie *A. trilobata*. Ao professor Dr. Leandro de Sousa Souto pela identificação das formigas. A Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) e a Fundação de Apoio à Pesquisa e à Inovação Tecnológica do Estado de Sergipe (Fapitec) pelo suporte financeiro.

Contribuição de cada autor

Bruna Maria S. Oliveira e Carlisson R. Melo participaram do delineamento, realização dos bioensaios, análise dos dados e redação do manuscrito.

Péricles B. Alves participou da análise do óleo essencial, síntese do acetato de sulcatila e críticas intelectuais importantes sobre o conteúdo do manuscrito.

Abraão A. Santos, Alexandre P. Oliveira, Alisson da S. Santana, Pedro E.S. Nascimento participaram do delineamento, realização dos bioensaios e revisão do manuscrito.

Arie F. Blank participou da extração/análise do óleo essencial e críticas intelectuais importantes sobre o conteúdo do manuscrito.

Leandro Bacci participou da concepção, delineamento, análise/ interpretação dos dados e redação/ correção do manuscrito.

Conflito de interesse

Não existe conflito de interesses entre os autores.

Referências

1. Antunes, E.C.; Della Lucia, T.M.C. Consumo foliar em *Eucalytus urophylla* por *Acromyrmex laticeps nigrosetosus* FOREL (Hymenoptera, Formicidae). *Cienc. e Agrotec.* **1999**, 23, 298-211.
2. Della Lucia, T.M.C.; Marinho, C.G.S.; Ribeiro, M.M.R. Insetos Sociais - Da Biologia à Aplicação. In *Perspectivas no manejo de formigas-cortadeiras*. En: Vilela, F.E.; Andrade, I.; Schoereder, J.H.; Serrão, J.E.; Campos, L.A.; Lino-Neto, J. (Eds). Ed. UFV, Brasil, 2008, Capítulo 23. pp. 370-380.
3. Fonseca, A.R.; Batista, D.R.; Amoral, D.P.; Campos, R.B.F.; Silva, C.G. Formigas (Hymenoptera: Formicidae) urbanas em um hospital no município de Luz, Estado de Minas Gerais. *Acta Scientiarum. Health Sciences.* **2010**, 32, 29-34.
4. Knaak, N.; Fiuza, L.M. Potential of essential plant oils to control insects and microorganisms. *Neot. Biol and Cons.* **2010**, 5, 120-132.
5. 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 wood termites. *Ent. Experimentalis et Applicata.* **2015** (in press).
6. Machado, L.A.; Silva, V.B.; Oliveira, M.M. Uso de extratos vegetais no controle de pragas em horticultura. *Biológico, São Paulo.* **2007**, 69, 2, 103-106.
7. Ribeiro, B.M.; Guedes, R.N.C.; Oliveira, E.E.; Santos, J.P. Insecticide resistance and synergism in Brazilian populations of *Sitophilus zeamais* (Coleoptera: Curculionidae). *Jour. of Stor. Prod. Res.* **2003**, 39, 21-31.
8. Bakkali, F.; Averbeck, S.; Averbeck, D.; Idaomar, M. Biological effects of essential oils – A review. *Food Chem. Toxicol.* **2008**, 46, 446-475.
9. Nerio, L.S.; Olivero-Verbel, J.; Stashenko, E. Repellent activity of essential oils: A review. *Bioresour. Technol.* **2010**, 101, 372 – 378.
10. Hummelbrunner, L.A.; Isman, M.B. Acute, sublethal, antifeedant, and synergistic effects of monoterpenoid essential oil compounds on the tobacco cutworm, *Spodoptera litura* (Lep., Noctuidae). *J. Agric. Food Chem.* **2001**, 49, 715-720.
11. Heinicha, M.; Chana, J.; Wankeb, S.; Neinhuisb, C.; Simmonds, M.S. J. Local uses of *Aristolochia* species and content of nephrotoxic aristolochic acid 1 and 2 a global assessment based on bibliographic sources. *Jour. of Ethnopharmacology.* **2009**, 125, 108–144.

12. Messiano, G.B.; Vieira, L.; Machado, M.B.; Lopes, L.M.; Bortoli, S.A.; Zukerman – Schpector, J. Evaluation of Insecticidal Activity of Diterpenes and Lignans from *Aristolochia malmeana* against *Anticarsia gemmatilis*. *Jour. of Agric. and Food Chemistry*. **2008**, 56, 8.
13. Jbilou, R.; Ennabili, A.; Sayah, F. Insecticidal activity of four medicinal plant extracts against *Tribolium castaneum* (Herbst) (Coleoptera: Tenebrionidae). *Afri. Jour. of Biot.* **2006**, 5, 10, 936-940.
14. Jeude, S. Quality vs Quantity: The Effect of Aristolochic Acids on Preference and Performance of a Non-Specialist Herbivore. *Pursuit: The Journal of Undergraduate Research at the University of Tennessee*. **2011**, 2, 109-119.
15. FDA. Letter to Health Care Professionals - FDA Concerned About Botanical Products, Including Dietary Supplements, Containing Aristolochic Acid. U.S. Food and Drug Administration **2000**, Silver Spring, MD, USA.
16. Pacheco, A.G.; Silva, T.M.; Manfrini, R.M.; Sallum, W.S.T.; Duarte, L.P.; Piló-Veloso, D.; Alcântara, A.F.C. Estudo químico e atividade antibacteriana do caule de *Aristolochia esperanzae* Kuntze (aristolochiaceae) *Quim. Nova* **2010**, 33, 8, 1649-1652.
17. Hoang, M.L.; Chen, C.H.; Sidorenko, V.S.; He, J.; Dickman, K.G.; Yun, B.H.; Moriya, M.; Niknafs, N.; Douville, C.; Karchin, R.; Turesky, R.J.; Pu, Y.S.; Vogelstein, B.; Papadopoulos, N.; Grollman, A.P.; Kinzler, K.W.; Rosenquist, T. A. Rosenquist, Mutational Signature of Aristolochic Acid Exposure as Revealed by Whole-Exome Sequencing. *Sci. Transl. Med.* **2013**, 5, 197-202.
18. Santos, D.A.; Alves, P.B.; Costa, E.V.; Francob, C.R.P.; Nepelc, A.; Barisonc, A. Volatile constituents of *Aristolochia trilobata* L. (aristolochiaceae): a rich source of sulcatyl acetate *Quim. Nova* **2014**, 37, 6, 977-981.
19. Gobbo-Neto, L.; Lopes, N. P. Plantas medicinais: fatores de influência no conteúdo de metabólitos secundários. *Quim. Nova* **2007**, 30, 2, 374-381.
20. ANVISA. REGULAMENTO TÉCNICO PARA MEDICAMENTOS FITOTERÁPICOS Consulta Pública nº 94, de 6 de novembro de 2003. D.O.U de 07/11/2003, disponível: <[http://www4.anvisa.gov.br/base/visadoc/CP/CP\[5840-2-0\].PDF](http://www4.anvisa.gov.br/base/visadoc/CP/CP[5840-2-0].PDF)>, acesso em 22.01.2015.
21. Albuquerque, E.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 Trop.* **2013**, 127, 181-186.

22. Bacci, L.; Crespo, A.L.B.; Galvan, T.L.; Pereira, E.J.G.; Picanço, M.C.; Silva, G.A.; Chediak, M. Toxicity of insecticides to the sweetpotato whitefly (Hemiptera: Aleyrodidae) and its natural enemies. *Pest Manag. Sci.* **2007**, *63*, 699-706.
23. Silva, G.A.; Picanço, M.C.; Bacci, L.; Crespo, A.L.B.; Rosado, J.F.; Guedes, R.N.C. Control failure likelihood and spatial dependence of insecticide resistance in the tomato pinworm, *Tuta absoluta*. *Pest Manag. Sci.* **2011**, *67*, 913-920.
24. Yang, P.; Yajun, M.A.; Zheng, S. Adulticidal activity of five essential oils against *Culex pipiens quinquefasciatus*. *J. Pest. Sci.* **2005**, *30*, 84-89.
25. Pontes, W.J.T.; Oliveira, J.C.S.; Câmara, C.A.G.; Gondim-Junior, M.G.C.; Oliveira, J.V.; Schwartz, M.O.E. Atividade acaricida dos óleos essenciais de folhas e frutos de *Xylopia sericea* sobre o ácaro rajado (*Tetranychus urticae* KOCH). *Quim. Nova* **2007**, *30*, 838-841.
26. Sugiura, M.; Horibe, Y.; Kawada, H. Takagi, M. Insect spiracles as the main penetration route of pyrethroids. *Pest. Bio. and Physiology.* **2008**, *91*, 135-140.
27. Zhu, B.C.R.; Henderson, G.; Yu, Y.; Laine, R.A.A. Toxicity and repellency of patchouli oil and patchouli alcohol against formosan subterranean termites *Coptotermes formosanus* Shiraki (Isoptera: Rhinotermitidae). *J. Agric. Food Chem.* **2003**, *51*, 4585-4588.
28. Kostromytska, O.S.; Buss, E.A.; Scharf, M.E. Toxicity and neurophysiological effects of selected insecticides on the mole cricket, *Scapteriscus vicinus* (Orthoptera: Gryllotalpidae). *Pestic. Biochem. Physiol.* **2011**, *100*, 27-34.
29. Isman, M.B. Botanical insecticides, deterrents, and repellents in modern agriculture and an increasingly regulated world. *Annu. Rev. Entomol.* **2006**, *51*, 45-66.
30. Rattan, R.S. Mechanism of action of insecticidal secondary metabolites of plant origin. *Crop Prot.* **2010**, *29*, 913-920.
31. Bacci, L.; Picanço, M.C.; Silva, E.M.; Martins, J.C.; Chediak, M.; Sena, M.E. Seletividade fisiológica de inseticidas aos inimigos naturais de *Plutella xylostella* L. (Lepidoptera: Plutellidae) em brássicas. *Cienc. Agrotecnol.* **2009**, *33*, 2045-2051.
32. Leite, G.L.D.; Picanço, M.C.; Guedes, R.N.C.; Gusmão, M.R. Selectivity of insecticides with and without mineral oil to *Brachygastra lecheguana* (Hymenoptera: Vespidae): a predator of *Tuta absoluta* (Lepidoptera: Gelechiidae). *Ceiba* **1998**, *39*, 3-6.
33. Yu, S.J. Selectivity of insecticides to the spined bug (Heteroptera: Pentatomidae) and its lepidopterous prey. *J. Econ. Entomol.* **1988**, *81*, 119-122.

34. Della Luccia, T.M.C.; Araujo, M.S. Formigas cortadeiras: Atualidades nenhuma combate. In: *Manejo Integrado - Doenças, Pragas e plantas daninhas*. L. Zambolim, Ed. Suprema Gráfica, Minas Gerais, Brasil, **2000**; 26-31.
35. Trongtokit, Y.; Rongsriyam, Y.; Komalamisra, N.; Apiwathnasorn, C. Comparative repellency of 38 essential oils against mosquito bites. *Phytother res.* **2005**, 19, 303-309.
36. Kostić, I.; Petrović, O.; Milanović, S.; Popović, Z.; Stanković, S.; Todorović, G.; Kostić, M. Biological activity of essential oils of *Athamanta haynaldii* and *Myristica fragrans* to gypsy moth larvae. *Ind. Crops Prod.* **2013**, 41, 17-20.
37. Cal, K. Skin penetration of terpenes from essential oils and topical vehicles. *Planta med.* **2006**, 72, 311-316.
38. Khalfi, ; Sahraoul N; Bentahar F; Boutekedjiret C. Chemical composition and insecticidal properties of *Origanum glandulosum* (Desf) essential oil from Algeria. *J. Sci. Food Agric.*, **2008**, 89, 1562-1566.
39. Jayasekara, T.K.; Stevenson, P.C.; Hall, D.R.; Belmain, S.R. Effect of volatile constituents from *Securidaca longepedunculata* on insect pests of stored grain. *J. Chem. Ecol.* **2005**, 31, 303-313.
40. Marinho, C.G.S.; Della Lucia, T.M.C.; Pincanço, M.C. Fatores que dificultam o controle das formigas cortadeiras. *Bahia Agríc.* **2006**, 7, 2.
41. Bomfim, L.F.C.; Costa, I.V.G.; Benenuti, S.M.P. Projeto Cadastro da Infra-Estrutura Hídrica do Nordeste: Estado de Sergipe. Diagnóstico do Município de Pirambu. – Aracaju: CPRM, **2002**.
42. Sant'ana, T.C.P.; Blank, A.F.; Vieira, S.D.; Arrigoni-Blank, M.F.; Jesus, H.C.R.; Alves, P.B. Influencia do armazenamento de folhas secas no óleo essencial de patchouli (*Pogostemon cablin* BENTH.). *Quim. Nova* **2010**, 33, 1263–1265.
43. Ehlert, P.A.D.; Blank, A.F.; Arrigoni-Blank, M.F.; Paula, J.W.A.; Campos, D.A.; Alviano, C.S. Tempo de hidrodestilação na extração de óleo essencial de sete espécies de plantas medicinais. *Rev. Bras. Plantas Med.* **2006**, 8, 79-80.
44. Adams, R.P. *Identification of essential oil components by gas chromatography/mass spectroscopy*, 4th Edition. Illinois USA: Allured Publishing Corporation, Carol Stream. **2007**, 804.

45. Van Den Dool, H. & Kratz, P.D. A generalization of the retention index system including linear temperature programmed gas-liquid partition chromatography. *Jour. of Chromatography A*. **1963**, 11, 463-471.
46. Cordeiro, E.M.G.; Corrêa, A.S.; Venzon, M.; Guedes, R.N.C. Insecticide survival and behavioral avoidance in the lacewings *Chrysoperla externa* and *Ceraeochrysa cubana*. *Chemosphere*. **2010**, 81, 1352–1357.
47. Abbott, W.S. A method of computing the effectiveness of an insecticide. *Jour. of Econ. Ent.* **1925**, 18, 265-266.
48. SAS INSTITUTE. SAS user's guide: Statistics, version 8.2, 6. ed. SAS Institute: Cary NC. **1999-2001**.

Tabela 1. Composição do óleo essencial de *Aristolochia trilobata* caracterizado por CG/EM/DIC

Composto	Tempo de retenção (min)	Índice de retenção ^a	Área do pico (%) ^b
Triciclono	8,985	929	1,88±0,02
Cânfeno	9,469	944	3,24±0,012
b-pineno	10,353	973	1,05±0,02
Mirceno	10,681	984	0,68±0,03
6-Metil-5-hepten-2-ol*	10,728	985	0,64±0,08
<i>p</i> -cimeno	11,859	1020	10,41±0,03
Limoneno	12,021	1025	24,80±0,26
(<i>Z</i>)-b-ocimeno	12,546	1041	5,27±0,42
Linalol	14,257	1092	9,51±0,05
Acetato de sulcatila	15,220	1122	25,64±0,45
Borneol	16,568	1165	0,64±0,05
a-terpineol	17,328	1189	0,28±0,02
Acetato de bornila	20,222	1283	0,79±0,007
b-elemenol	23,345	1391	0,30±0,012
(<i>E</i>)-cariofileno	24,260	1424	1,15±0,03
Aromadendreno	24,633	1438	0,27±0,01
Allo-aromadendreno	25,415	1467	0,27±0,0
Germacreno D	25,922	1485	0,70±0,007
Biclogermacreno	26,343	1501	1,52±0,02
d-cadineno	26,933	1524	0,40±0,06
Espatulenol	28,508	1586	3,04±0,10
Globulol	28,695	1594	4,29±0,13
Viridiflorol	28,903	1602	0,49±0,03
Isoespatulenol	29,971	1646	0,94±0,05
a-Cadinol	30,348	1662	0,55±0,05
Monoterpenos (%)			84,83
Sesquiterpenos (%)			13,89
Total (%)			98,72

^a Índice de retenção calculado utilizando a equação de Van den Dool e Kratz 1963 em relação a uma série homóloga de *n*-alcanos (*n*C9- *n*C18).

^b Valores (± EPM) do conteúdo dos compostos obtido pela média de três diferentes determinações e foram obtidas por CG/EM/DIC.

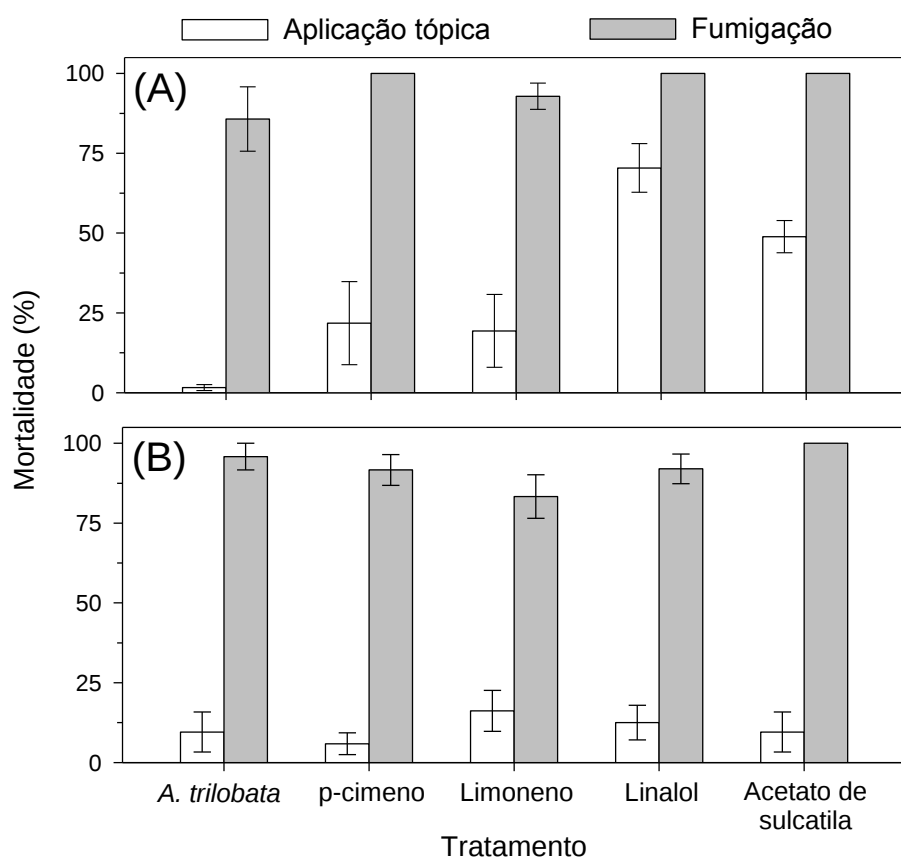


Figura 1. Toxicidade do óleo essencial de *Aristolochia trilobata* e seus compostos majoritários sobre operárias de *Acromyrmex balzani* (A) e *Atta sexdens* (B) por aplicação tópica ($10 \mu\text{g mg}^{-1}$) e fumigação ($10 \mu\text{L L}^{-1}$) após 48 horas de exposição.

Tabela 2. Toxicidade do óleo essencial de *Aristolochia trilobata* e seus compostos majoritários sobre operárias de *Acromyrmex balzani* e *Atta sexdens* por fumigação após 48 horas de exposição.

Tratamento	Nº de insetos	CL ₅₀ (IC 95%) (µL L ⁻¹)	CL ₉₀ (IC 95%) (µL L ⁻¹)	β^1	χ^2	p-valor
<i>Acromyrmex balzani</i>						
<i>A. trilobata</i>	239	3,76 (3,46-4,13)	9,33 (7,65-12,68)	3,24	0,15	0,98
<i>p</i> -cimeno	490	4,96 (4,41-5,56)	16,53 (13,08-22,83)	2,44	13,73	0,05
Limoneno	546	5,72 (5,32- 6,14)	10,34 (9,39-11,68)	4,98	0,61	0,74
Linalol	238	2,40 (1,92-3,21)	17,51 (10,35-40,99)	1,48	3,55	0,81
Acetato de sulcatila	266	2,18 (2,06-2,30)	3,38 (3,11-3,76)	6,75	1,67	0,56
<i>Atta sexdens</i>						
<i>A. trilobata</i>	476	5,48 (4,66-6,34)	20,94 (16,78-28,33)	2,20	0,24	0,88
<i>p</i> -cimeno	420	3,37 (2,69-4,04)	17,71 (13,38-26,86)	1,77	0,36	0,83
Limoneno	420	5,38 (4,56-6,28)	28,79 (21,33-44,74)	1,75	5,18	0,15
Linalol	308	5,34 (4,67-6,28)	19,88 (14,24-34,61)	2,24	1,72	0,57
Acetato de sulcatila	330	6,73 (5,41-10,40)	20,75 (12,56-60,72)	2,61	1,94	0,61

¹ β =inclinação da curva.

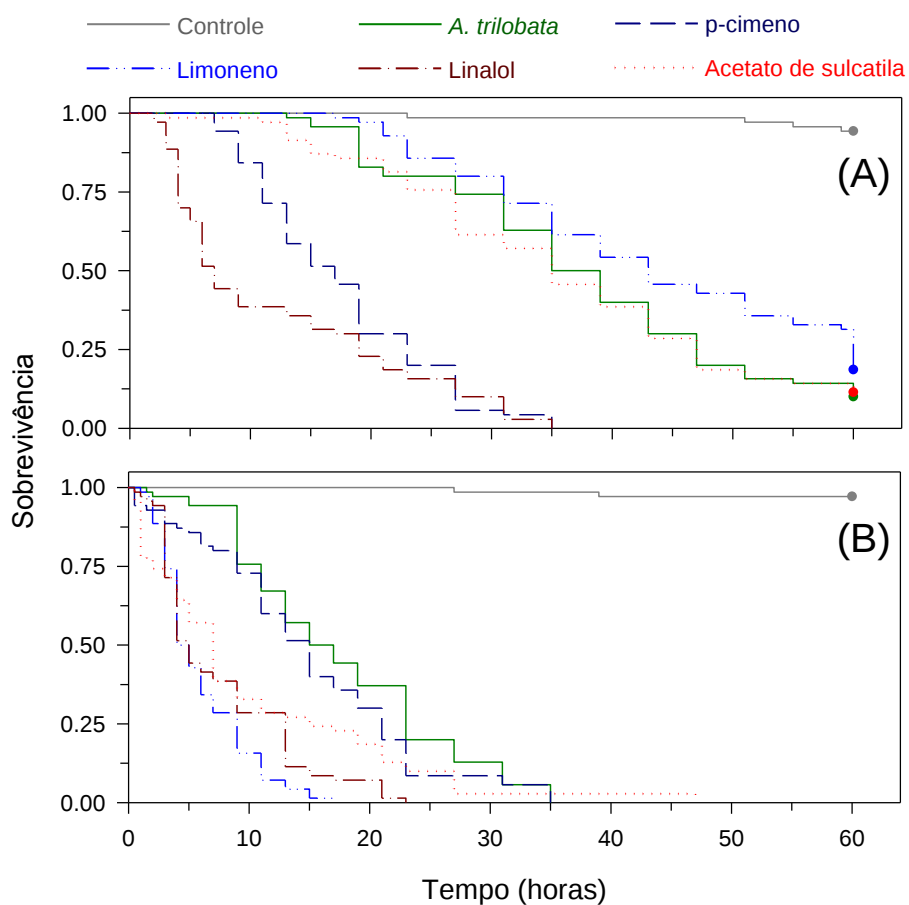


Figura 2. Curvas de sobrevivência do óleo essencial de *Aristolochia trilobata* e seus compostos majoritários sobre operárias de *Acromyrmex balzani* (A) e *Atta sexdens* (B) por fumigação na CL_{90} dos bioensaios de toxicidade.

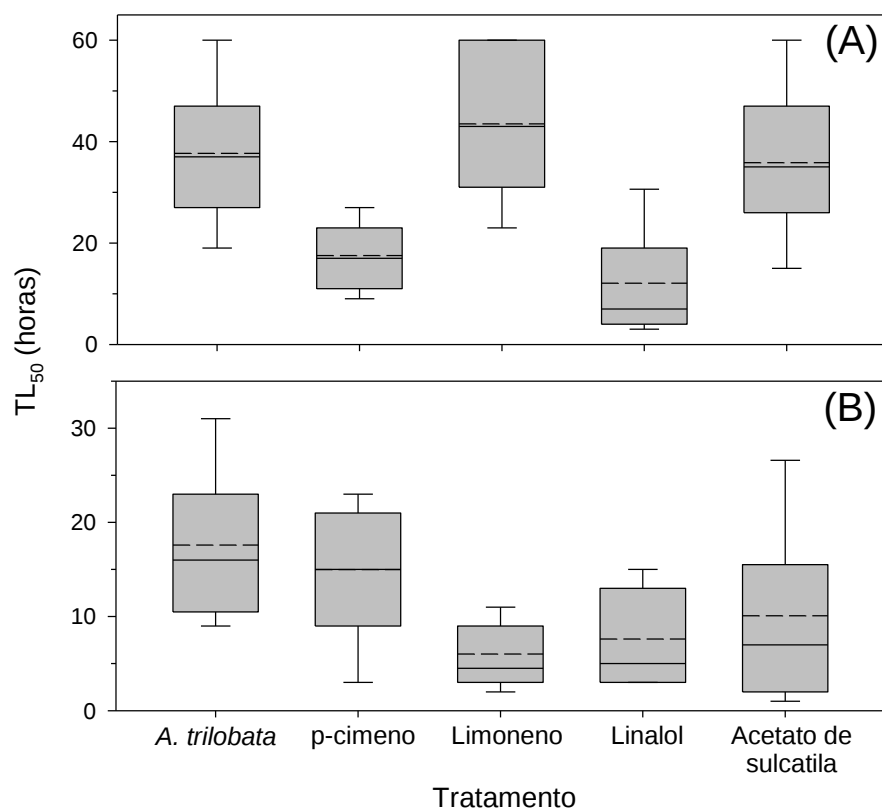


Figura 3. Tempo letal médio de operárias de *Acromyrmex balzani* (A) e *Atta sexdens* (B) expostas por fumigação na CL₉₀ dos bioensaios de toxicidade ao óleo essencial de *Aristolochia trilobata* e seus compostos majoritários. Os boxes indicam a mediana e a dispersão (quartis superior e inferior). A linha tracejada representa a média da TL₅₀.

Tabela 3. Efeito de misturas binárias dos compostos majoritários do óleo essencial de *Aristolochia trilobata* sobre operárias de *Acromyrmex balzani* e *Atta sexdens* por fumigação após 48 horas de exposição.

Composto A	Composto B	Conc. ¹ (µL L ⁻¹)	Mortalidade (%)				χ2	Efeito
			Composto puro		Mistura Binária			
			Observado A	Observado B	Esperado	Observado		
<i>Acromyrmex balzani</i>								
Acetato de sulcatila	Linalol	2,30+2,30	21,43	19,64	36,86	67,86	26,06	Sinergismo
Acetato de sulcatila	Linalol	2,06+2,06	7,14	10,71	17,09	39,29	28,82	Sinergismo
Acetato de sulcatila	p-cimeno	2,30+2,30	21,43	25,00	41,07	62,50	11,18	Sinergismo
Acetato de sulcatila	p-cimeno	2,06+2,06	7,14	5,36	12,12	23,21	10,16	Sinergismo
Acetato de sulcatila	Limoneno	2,30+2,30	21,43	3,57	24,23	46,43	20,32	Sinergismo
Acetato de sulcatila	Limoneno	2,06+2,06	7,14	3,57	10,46	32,14	44,95	Sinergismo
Linalol	p-cimeno	3,21+3,21	16,07	23,21	35,55	67,86	29,35	Sinergismo
Linalol	p-cimeno	1,92+1,92	10,71	3,57	13,90	30,36	19,47	Sinergismo
Linalol	Limoneno	3,21+3,21	16,07	5,36	20,57	66,07	100,67	Sinergismo
Linalol	Limoneno	1,92+1,92	10,71	5,36	15,50	26,79	8,22	Sinergismo
p-cimeno	Limoneno	5,56+5,56	51,79	14,29	58,67	87,50	14,16	Sinergismo
p-cimeno	Limoneno	4,41+4,41	44,64	17,86	54,53	82,14	13,99	Sinergismo
<i>Atta sexdens</i>								
p-cimeno	Linalol	4,04+4,04	89,29	75,00	97,32	78,57	3,61	Aditismo
p-cimeno	Linalol	2,69+2,69	32,14	64,29	75,77	60,71	2,99	Aditismo
p-cimeno	Limoneno	4,04+4,04	89,29	32,14	92,73	50,00	19,69	Antagonismo
p-cimeno	Limoneno	2,69+2,69	32,14	10,71	39,41	32,14	1,34	Aditismo
p-cimeno	Acetato de sulcatila	4,04+4,04	89,29	60,71	95,79	92,86	0,09	Aditismo
p-cimeno	Acetato de sulcatila	2,69+2,69	32,14	28,57	51,53	42,86	1,46	Aditismo
Linalol	Limoneno	6,28+6,28	75,00	78,57	94,64	100,00	0,30	Aditismo
Linalol	Limoneno	4,67+4,67	67,86	25,00	75,89	78,57	0,09	Aditismo
Linalol	Acetato de sulcatila	6,28+6,28	75,00	64,29	91,07	100,00	0,88	Aditismo
Linalol	Acetato de sulcatila	4,67+4,67	67,86	46,43	82,78	96,43	2,25	Aditismo
Limoneno	Acetato de sulcatila	6,28+6,28	78,57	64,29	92,35	82,14	1,13	Aditismo
Limoneno	Acetato de sulcatila	4,56+4,56	14,29	42,86	51,02	75,00	11,27	Sinergismo

¹ Limites do intervalo de confiança das CL₅₀ dos compostos determinadas no bioensaio de toxicidade.

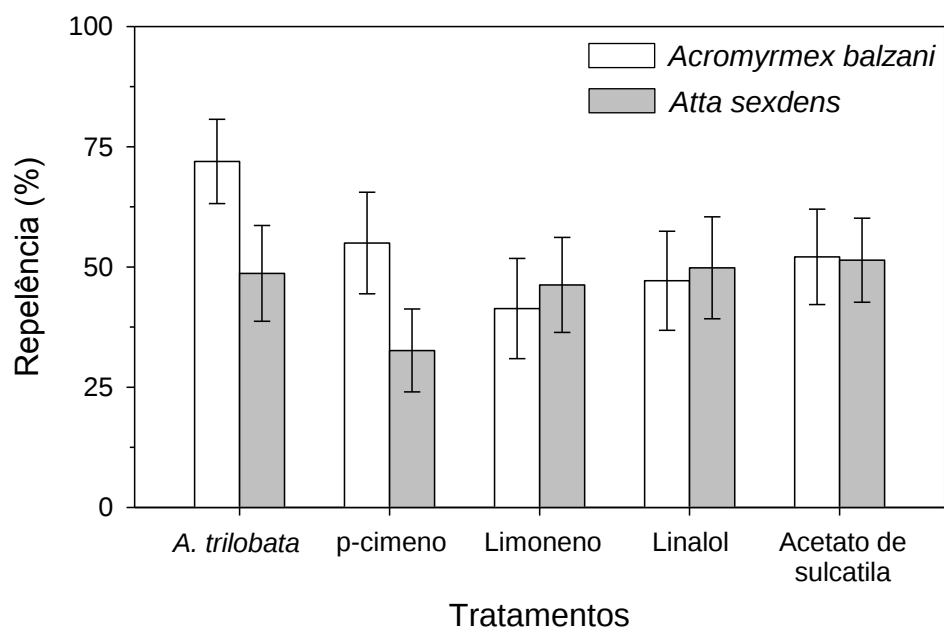


Figura 4. Repelência de operárias de *Acromyrmex balzani* e *Atta sexdens* expostas durante 15min ao óleo essencial de *Aristolochia trilobata* e seus compostos majoritários em arenas de papel de filtro (6 cm de diâmetro).

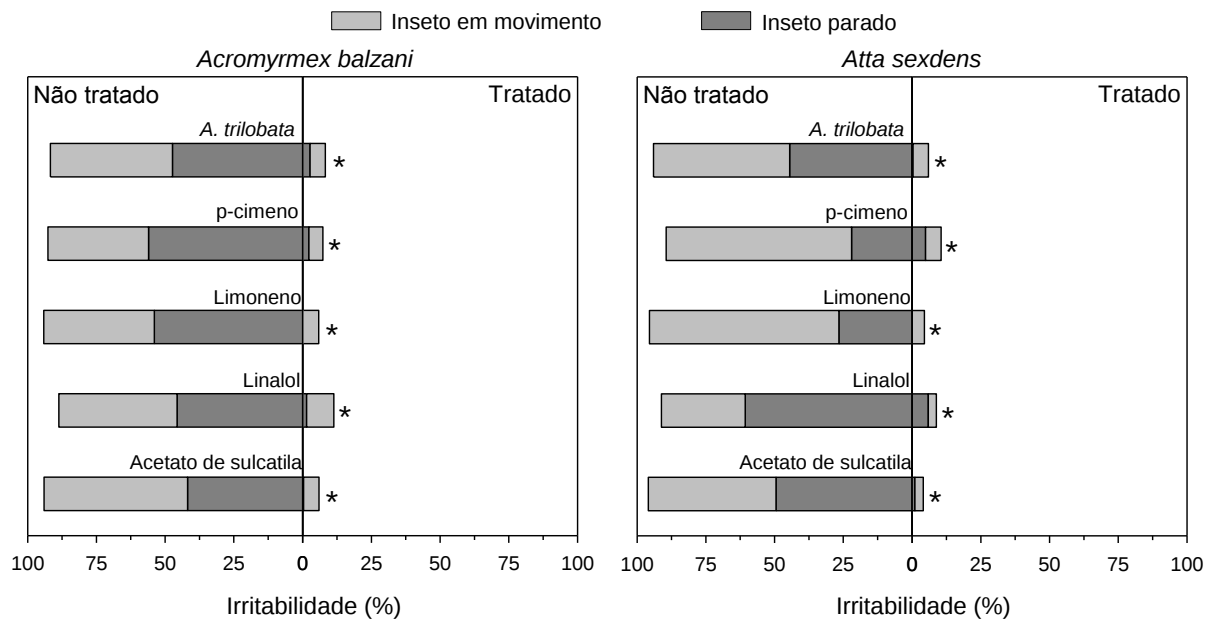


Figura 5. Irritabilidade de operárias de *Acromyrmex balzani* e *Atta sexdens* expostas durante 15min ao óleo essencial de *Aristolochia trilobata* e seus compostos majoritários em arenas de papel de filtro (6 cm de diâmetro). * Indica diferença significativa entre a área tratada e não tratada da arena (Teste de Kruskal-Wallis, $p < 0,05$).

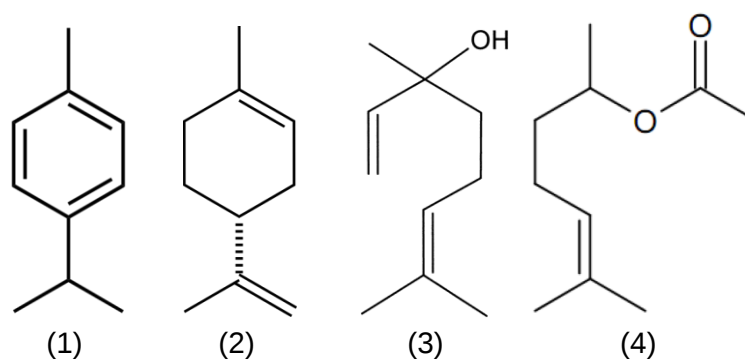


Figura 6. Compostos majoritários encontrados no óleo essencial de *Aristolochia trilobata*. (1) p-cimeno, (2) limoneno, (3) linalol e (4) acetato de sulcatila.

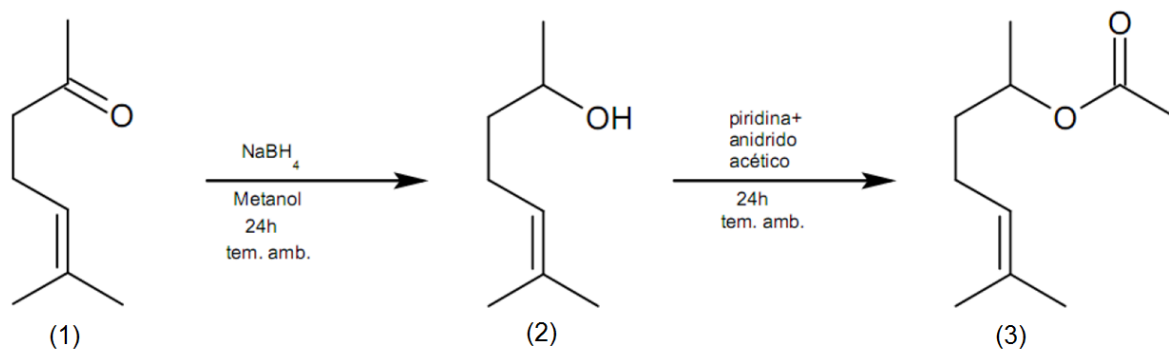


Figura 7. Esquema de síntese do acetato de sulcatila. (1) sulcatona, (2) sulcatol e (3) acetato de sulcatila.