



**UNIVERSIDADE ESTADUAL DO SUDOESTE DA BAHIA - UESB
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM GENÉTICA,
BIODIVERSIDADE E CONSERVAÇÃO**

**TOXICIDADE DE EXTRATOS DE ESPÉCIES VEGETAIS COLETADOS NA
BAHIA, BRASIL, FRENTE AS FORMIGAS-CORTADEIRAS E MOSCAS-DO-
MEDITERRÂNEO**

MARIANA DE CARVALHO AGUIAR RIBAS GOMES

Jequié-BA
2014

MARIANA DE CARVALHO AGUIAR RIBAS GOMES

**TOXICIDADE DE EXTRATOS DE ESPÉCIES VEGETAIS COLETADOS NA
BAHIA, BRASIL, FRENTE AS FORMIGAS-CORTADEIRAS E MOSCAS-DO-
MEDITERRÂNEO**

Dissertação de mestrado apresentada ao programa de Pós-Graduação em Genética, Biodiversidade e Conservação da Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia, para obtenção do título de Mestre em Genética, Biodiversidade e Conservação.

Orientadora:

Prof.^a Dra. Vanderlúcia Fonseca de Paula

Co-orientadores:

Prof.^a Dra. Maria Aparecida Castellani

Prof.^a Dra. Aldenise Alves Moreira

Jequié-BA
2014

DECLARAÇÃO DE APROVAÇÃO

Título: Toxicidade de extratos de espécies vegetais coletados na Bahia, Brasil, frente as formigas-cortadeiras e moscas-do-mediterrâneo

Autora: Mariana de Carvalho Aguiar Ribas Gomes

Orientadora: Profa. D. Sc. Vanderlúcia Fonseca de Paula

Co-Orientador: Profa. D. Sc. Aldenise Alves Moreira
Profa. D. Sc. Maria Aparecida Castellani

Aprovada como parte das exigências para obtenção do Título de MESTRE EM GENÉTICA, BIODIVERSIDADE E CONSERVAÇÃO ÁREA DE CONCENTRAÇÃO: GENÉTICA, BIODIVERSIDADE E CONSERVAÇÃO, pela Banca Examinadora:

Vanderlúcia Fonseca de Paula – Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia/ Jequié

Maria Aparecida Castellani – Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia /Vitória da Conquista

Maria Aparecida Leão Bittencourt – Universidade Estadual de Santa Cruz /Ilhéus

Data de realização: 31 de março de 2014.

PPGGGBC

*À Deus, porque têm sido tudo em minha vida.
Ao meu esposo e aos meus pais, pelo amor
incondicional.*

AGRADECIMENTOS

Primeiramente, agradeço a Deus, pela vida, saúde, felicidade e bênçãos dispensadas na minha vida. Sem Ele, nada eu teria conseguido e não alcançaria essa vitória.

Aos meus pais, Schebina e Zelita pelo amor incondicional, apoio e dedicação.

À Daniel, meu esposo, por todo amor, compreensão, companheirismo, paciência, apoio e colaboração nas atividades referentes ao mestrado.

Aos meus irmãos, Fabiana, Guilherme e Ester, pelo apoio moral, amizade e carinho que nos une. Em especial a Guilherme por me acompanhar nos domingos e feriados para a UESB.

Aos amigos pela amizade sincera e companheirismo, em especial a Kaislan e Luciana. E aos amigos adquiridos nessa jornada e que fizeram parte dessa conquista, em especial à Lícia e Priscila pelas conversas, suporte, aturar as neuroses, companhia, paciência e por serem excelentes ouvintes.

Ao pessoal do Laboratório de Produtos Naturais (LPN), que estiveram comigo nessa jornada. A Jamille, Lícia, Camila e Lauro pelas conversas, convivência e auxílio. Em especial a Jamille, pela paciência e pelo suporte mesmo distante.

À Gerisvaldo (Herbário), pelo auxílio nas coletas no campo.

Ao pessoal do laboratório de Entomologia, especialmente à Bruna, Alessandra, Jennifer e Liza pela colaboração na parte experimental.

Às professoras Maria Aparecida Castellani e Aldenise Alves Moreira pela oportunidade de trabalhar com elas e por ter aceitado fazer parte desse trabalho com a co-orientação, além das diversas contribuições.

À Christine Steneir São Bernardo, por ter me auxiliado e apoiado na disciplina de Estágio e Docência.

Ao professor Paulo Carneiro pelo auxílio nas análises estatísticas.

À Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia, que possibilitou a realização de duas etapas importantes na minha vida a graduação e o mestrado.

Ao Programa de Pós-graduação em Genética Biodiversidade e Conservação (PPGGBC) pela oportunidade e aos professores do PPGGBC pelos ensinamentos passados.

Ao Programa de Formação de Recursos Humanos da Petrobras pelo financiamento do projeto e concessão da bolsa, sem o qual o mesmo não teria sido realizado.

A pessoa que tornou possível a realização desse sonho: Vanderlúcia Fonseca de Paula, que mesmo sem me conhecer aceitou o desafio de orientar uma pessoa com outra formação

acadêmica. Professora lhe sou grata por isso, pois sem essa oportunidade eu não estaria aqui hoje, obrigada pela excelente orientação, dedicação, competência e auxílio.

Enfim, agradeço a todos que direta ou indiretamente contribuíram para essa vitória.

PPGGGBC

BIOGRAFIA

Meu nome é Mariana de Carvalho Aguiar Ribas Gomes, nascida em Salvador no Estado da Bahia no dia 24 de setembro de 1987. Técnica em Meio Ambiente em 2007 pelo antigo Centro Federação de Educação e Tecnologia da Bahia (CEFET), atual Instituto Federal da Bahia (IFBA). Graduada em Engenharia Florestal na Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia (UESB) em 2010. Especialista em Engenharia de Segurança do Trabalho pela Faculdade em Tecnologia e Ciências (FTC) em 2012.

PPGGGBC

PPGGGBC

“Por vezes sentimos que aquilo que fazemos não é senão uma gota de água no mar. Mas o mar seria menor se lhe faltasse uma gota” (Madre Teresa de Calcutá).

RESUMO

A utilização de espécies vegetais com potencial inseticida no combate das pragas é uma prática antiga, que tem sido retomada devido à baixa persistência no meio ambiente desses inseticidas naturais, além da seletividade que esses produtos apresentam. Duas pragas de importância reconhecida no Brasil são as formigas-cortadeiras e as moscas-do-mediterrâneo, que figuram entre as principais pragas do país, devido aos prejuízos econômicos que causam à atividade agrícola e silvicultural. O objetivo deste trabalho foi avaliar a toxicidade dos extratos de espécies vegetais coletadas no estado da Bahia, Brasil, frente às formigas-cortadeiras (*Atta sexdens*) e moscas-do-mediterrâneo (*Ceratitis capitata*), por meio de ensaios biológicos em laboratório. O material vegetal utilizado para preparação dos extratos foi coletado no município de Jequié-BA. As espécies vegetais e suas respectivas partes coletadas foram: *Aspidosperma spruceanum* Benth. ex Müll. Arg. (folha), *Casearia arborea* (Rich.) Urb. (folha e galho), *Casearia sylvestris* Swartz (folha e casca), *Erythroxylum affine* A. St.-Hil. (folha e galho), *Esenbeckia grandiflora* Mart. (folha e casca), *Ocotea brasiliensis* Coe-Teix (casca e galho), *Simarouba amara* Aubl. (casca), *Tabernaemontana bracteolaris* Mart. Ex Müll. Arg. (folha, casca e galho), *Zanthoxylum rhoifolium* Lam. (folha e galho) e *Metrodorea maracasana* Kaastra (galho e casca). Os ensaios biológicos com as formigas realizados por meio de aplicação tópica, mostraram que os extratos da folha e do galho de *Z. rhoifolium* e casca de *S. amara* são os mais promissores para novos estudos, por apresentaram o maior percentual de mortalidade. Nos ensaios com formigas, por meio de ingestão, o extrato do galho de *Z. rhoifolium* foi o que teve ação mais lenta, pois resultou em S_{50} de 10 dias. Nos ensaios biológicos com as moscas-do-mediterrâneo, onde estas foram separadas por sexo, os resultados apontaram que a diferença de sexo não influenciou na mortalidade, em todos os tratamentos estudados. Os extratos das folhas de *E. affine* e *A. spruceanum* e da casca de *M. maracasana* (ECMM) foram mais eficientes pois, provocaram mortalidade superior a 50%. Quando estes foram analisados em diferentes concentrações 1, 10 30 e 60 mg.mL⁻¹, percebeu-se a influência da concentração na mortalidade das moscas. Frações e substâncias isoladas de *M. maracasana* também foram avaliadas para investigação do(s) princípio(s) ativo(s) de ECMM. Dentre as substâncias testadas, isodontatina, citrutarina A e uma mistura de citrutarina A+dipetalolactona+isodontatina, apresentaram mortalidade de 97-100%, no primeiro dia de avaliação, podendo, portanto, serem as responsáveis pela atividade inseticida do extrato ECMM. Percebe-se que existe a necessidade de mais estudos químicos e biológicos com as espécies vegetais que foram mais ativas, para verificar a viabilidade de aplicação desses extratos em campo.

Palavras-chave: extratos vegetais, ensaios biológicos, *Ceratitis capitata*, *Atta sexdens*

ABSTRACT

The use of plant species with potential insecticide pest control is an ancient practice that has been taken due to low environmental persistence of these natural insecticides, beyond the selectivity that these products present. Two pests of importance recognized in Brazil are the leaf-cutting ants and medfly, which are among the major pests of the country due to the economic damage they cause to agricultural and silvicultural activity. The objective of this study was to evaluate the toxicity of extracts of plant species collected in the state of Bahia, Brazil, to the leaf-cutting ants (*Atta sexdens*) and medfly (*Ceratitis capitata*), by biological laboratory tests. The plant material used for preparation of the extracts were collected in Jequié - BA. Plant species and their parts were collected: *Aspidosperma spruceanum* Benth. ex Müll. Arg. (leaf), *Casearia arborea* (Rich.) Urb (leaf and twig), *C. sylvestris* Swartz (leaf and bark), *Erythroxylum affine* A. St.- Hil. (leaf and twig), *Esenbeckia grandiflora* Mart. (leaf and bark), *Ocotea brasiliensis* Coe - Teix (peel and twig), *Simarouba amara* Aubl. (bark), *Tabernaemontana bracteolaris* Mart. Ex Müll. Arg (leaf, bark and twig), *Zanthoxylum rhoifolium* Lam (leaf and twig) and *Metrodorea maracasana* Kaastra (twig and bark). Bioassays with ants performed by topical application, showed that extracts of *Z. rhoifolium* (twig and leaf) and *S. amara* (bark) are the most promising for further studies, because they showed the highest percentage of mortality. In tests with ants through ingestion, the extract of *Z. rhoifolium* branch was what had slower action because the S₅₀ was 10 days. In bioassays with the medfly, where they were separated by male and female, testing results showed that the sex difference did not influence mortality in all treatments. The extracts from the leaves of *E. affine* and *A. spruceanum* and bark of *M. maracasana* (ECMM) were more efficient therefore caused higher mortality at 50%. When these were analyzed at different concentrations 1, 10, 30 and 60 mg.mL⁻¹ was observed the influence of concentration on the mortality of flies. Fractions and compounds isolated from *M. maracasana* were also evaluated for investigation of principle actives of ECMM. Among tested the substances isodentatine, citrusarine A and a mixture of citrusarine A+dipetalolactone+isodentatine, a mortality rate of 97-100% on the first day of observation, and they may, therefore, be responsible for the insecticidal activity of the extract ECMM. It is noticed that there is a need for further chemical and biological studies on the plant species that were more active, to verify the feasibility of application of these extracts in the field.

Keywords: plant extracts, biological assays, *Ceratitis capitata*, *Atta sexdens*

LISTAS DE FIGURAS

Capítulo I:

Figura 01: Comparação das curvas de sobrevivência das operárias de *Atta sexdens* no ensaio de ingestão dos diferentes extratos vegetais. O tempo de sobrevivência média (S_{50}) foi colocado ao lado do nome dos extratos, entre parênteses. Diferentes letras minúsculas indicam diferença significativa entre as curvas de sobrevivência (dados obtidos com a aplicação do teste “log-rank”)67

Capítulo II:

Figura 01: Gráfico da análise de regressão das diferentes concentrações (1, 10, 30 e 60 mg.mL⁻¹) do extrato da folha de *Aspidosperma spruceanum*, no ensaio de aplicação tópica em *C. capitata*. O eixo x indica as concentrações sendo 1= 1 mg.mL⁻¹, 2 = 10 mg.mL⁻¹, 3= 30 mg.mL⁻¹, e 4=60 mg.mL⁻¹. No eixo y encontra-se o percentual de mortalidade. Equação da regressão: Mortalidade = - 14.750 + 23.5500 Tratamento..... 89

Figura 02: Gráfico da análise de regressão das diferentes concentrações (1,10, 30 e 60 mg.mL⁻¹) do extrato da folha de *Erythroxylum affine*, no ensaio de aplicação tópica em *C. capitata*. O eixo x indica as concentrações sendo 1= 1 mg.mL⁻¹, 2 = 10 mg.mL⁻¹, 3= 30 mg.mL⁻¹, e 4=60 mg.mL⁻¹. No eixo y encontra-se o percentual de mortalidade. Equação da regressão: Mortalidade = 1.000 + 18.4000 Tratamento..... 90

Figura 03: Gráfico da análise de regressão das diferentes concentrações (1,10, 30 e 60 mg.mL⁻¹) do extrato da casca de *Metrodorea maracasana*, no ensaio de aplicação tópica em *C. capitata*. O eixo x indica as concentrações sendo 1= 1 mg.mL⁻¹, 2 = 10 mg.mL⁻¹, 3= 30 mg.mL⁻¹, e 4=60 mg.mL⁻¹. No eixo y encontra-se o percentual de mortalidade. Equação da regressão: Mortalidade = - 19.000 + 27.2000 Tratamento.....91

Figura 04: Fórmula estrutural da cumarina isodontatina, isolada de *Metrodorea maracasana*.....92

LISTAS DE TABELAS

Capítulo I:

Tabela 01 – Mortalidade (%) de operárias de *Atta sexdens* tratadas com os extratos, na concentração de 1 mg.mL⁻¹, por aplicação tópica.....65

Tabela 02 – Mortalidade (%) de operárias de *Atta sexdens* alimentadas com os extratos na concentração de 0,2 mg.mL⁻¹.....66

Capítulo II:

Tabela 01 – Dados das espécies vegetais coletadas e usadas para preparação dos extratos.....83

Tabela 02 – Mortalidade observada para adultos de *C. capitata* após aplicação tópica de extratos vegetais, na concentração de 50 mg.mL⁻¹.....84

Tabela 03 - Mortalidade observada para adultos de *Ceratitis capitata* após aplicação tópica de frações e substâncias isoladas de *M. maracasana* na concentração de 10mg.mL⁻¹.....85

Tabela 04 - Mortalidade observada para adultos de *Ceratitis capitata* nos ensaios com diferentes concentrações do extrato da folha de *A. spruceanum* (EFAS).....86

Tabela 05 - Mortalidade observada para adultos de *C. capitata* nos ensaios com diferentes concentrações do extrato da folha de *E. affine* (EFEA).....87

Tabela 06 - Mortalidade observada para adultos de *C. capitata* nos ensaios com diferentes concentrações do extrato da casca de *M. maracasana* (ECMM)88

LISTAS DE ABREVIATURAS, SIGLAS E SÍMBOLOS

- EFAS – Extrato da folha de *Aspidosperma spruceanum*
EGAS – Extrato do galho de *Aspidosperma spruceanum*
EFCA – Extrato da folha de *Casearia arborea*
EGCA – Extrato do galho de *Casearia arborea*
EFCS – Extrato da folha de *Casearia sylvestris*
ECCS – Extrato da casca de *Casearia sylvestris*
EFGS – Extrato do galho de *Casearia sylvestris*
EFEA – Extrato da folha de *Erythroxylum affine*
EGEA – Extrato do galho de *Erythroxylum affine*
EFEG – Extrato da folha de *Esenbeckia grandiflora*
ECEG – Extrato da casca de *Esenbeckia grandiflora*
ECOB – Extrato da casca de *Ocotea brasiliensis*
EGOB – Extrato do galho de *Ocotea brasiliensis*
EFTB – Extrato da folha de *Tabernaemontana bracteolaris*
ECTB – Extrato da casca de *Tabernaemontana bracteolaris*
EGTB – Extrato do galho de *Tabernaemontana bracteolaris*
ECSA – Extrato da casca de *Simarouba amara*
EGZR – Extrato do galho de *Zanthoxylum rhoifolium*
EFZR – Extrato da folha de *Zanthoxylum rhoifolium*
ERZR – Extrato da raiz de *Zanthoxylum rhoifolium*
ECMM – Extrato da casca de *Metrodorea maracasana*
EGMM – Extrato do galho de *Metrodorea maracasana*
MM1 – Isodontatina
MM2 – Citrusarina A
MM3 – Mistura de citrusarina A+dipetalolactona+isodontatina
MM4 – 5-metoxixantiletina
MM5 – Nordentatina
MM6 – Mistura (5,8-dimetoxi-6,7-metilenodioxycumarina (40%) + luvangetina (60%))
MM7 – 5-hidroxixantiletina
MM8 – 5-metoxianisocumarina B
MM9 – Mistura de 2 triterpenos (isobauerenol + isomultiflorenol)
MM10 – Mistura de isopimpinellina (60%) + 5,8-dimetoxi-6,7-metilenodioxycumarina (40%)

MM11 – Mistura de bergapteno (50%)+ 5,7-dimetoxicumarina (50%)

PPGGGBC

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO.....	16
2. REVISÃO DE LITERATURA	18
2.1. Inseticidas de origem vegetal.....	18
2.2. Formigas-cortadeiras	22
2.3. Moscas-das-frutas	29
3. OBJETIVOS.....	34
3.1. Objetivo geral	34
3.2. Objetivos específicos	34
4. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	35
5. CAPÍTULO I.....	52
5.1. Resumo	52
5.2. Abstract.....	53
5.3. Introdução.....	53
5.4. Material e Métodos.....	55
5.5. Resultados e Discussão.....	56
5.6. Conclusões.....	59
5.7. Referências	60
6. CAPÍTULO II	68
6.1. Resumo	68
6.2. Abstract.....	69
6.3. Introdução.....	69
6.4. Material e Métodos.....	71
6.5. Resultados e Discussões	73
6.6. Conclusões.....	77
6.7. Referências	77
7. Conclusões Gerais	93

1. INTRODUÇÃO

A utilização desenfreada de pesticidas químicos é influenciada principalmente pelo crescimento populacional. Esse crescimento ocasiona uma elevada demanda na produção de alimentos e de produtos que sejam capazes de suprir as necessidades da população mundial, que tem hoje aproximadamente sete bilhões de habitantes. O sistema de cultivo por monocultura intensificou-se para atender a demanda por alimentos e outros produtos, em consequência, os problemas com as pragas são constantes e tendem a aumentar gradativamente. Isso gera vários impactos ambientais, pois os pesticidas com alta persistência ambiental são utilizados em larga escala para controlar as pragas e, assim, contribuir para obtenção de uma produção satisfatória.

Em virtude disso, a utilização de inseticidas naturais, originários de plantas, é uma alternativa para diminuir os impactos causados pelo uso indiscriminado desses agrotóxicos, que constituem um problema ao meio ambiente, devido à poluição ambiental, além dos impactos que eles geram sobre a saúde humana, principalmente na ingestão de alimentos contaminados.

Dessa maneira, o uso de inseticidas botânicos, no controle de pragas, apresentam vantagens pois são seletivos, possuem baixa toxicidade aos mamíferos e insetos benéficos, não são persistentes no ambiente, possuem múltiplos modos de ação, amplo espectro de uso, além de serem derivados de recursos renováveis. Usar partes de plantas para extração de substâncias com potencial inseticida é uma estratégia viável, pois, as mesmas produzem e acumulam diversas substâncias usadas para sua autoproteção. Essas substâncias, chamadas de metabólitos secundários são capazes de matar ou interferir no desenvolvimento dos insetos, incentivando a busca de novas substâncias de origem vegetal que sejam eficazes no combate às pragas.

As pragas são responsáveis por grandes perdas de produtividade na agricultura e silvicultura. É importante ressaltar que nem todos os insetos são pragas. Os insetos só podem ser considerados como praga, quando os mesmos causam um dano economicamente significativo à produção. Alguns insetos são benéficos, e por isso, usar inseticidas que sejam mais seletivos é primordial para manutenção do equilíbrio ecológico.

As formigas-cortadeiras (*Atta sexdens*) e as moscas-do-mediterrâneo (*Ceratitis capitata*), são insetos que possuem grande relevância no cenário atual de produção, pois devido aos prejuízos causados nas atividades agrosilvipastoris possuem grande importância econômica. As moscas-do-mediterrâneo são consideradas praga na fruticultura mundial principalmente devido ao ataque aos frutos. Já as formigas-cortadeiras estão entre os insetos que causam prejuízos econômicos às atividades agrícola e silvicultural do país.

Uma vez que as plantas são capazes de produzir uma grande diversidade de metabólitos secundários, e muitas espécies ainda não foram estudadas, do ponto de vista químico e biológico, é importante ampliar o conhecimento sobre a biodiversidade, em especial do semiárido baiano, visando aproveitar a flora dessa região e analisar o potencial inseticida dessas espécies na busca de princípios ativos que tenha como alvo apenas as espécies consideradas como pragas, fazendo com que o uso de extratos vegetais se torne uma alternativa viável e de baixo impacto ambiental no controle destes insetos.

Essa dissertação foi dividida em dois capítulos, escritos em forma de artigos, os quais se referem à toxicidade de espécies vegetais coletadas no semiárido baiano (*Aspidosperma spruceanum* Benth. ex Müll. Arg., *Casearia arborea* (Rich.) Urb., *Casearia sylvestris* Swartz, *Erythroxylum affine* A. St.-Hil., *Esenbeckia grandiflora* Mart., *Ocotea brasiliensis* Coe-Teix., *Simarouba amara* Aubl., *Tabernaemontana bracteolaris* Mart. Ex Müll. Arg., *Zanthoxylum rhoifolium* Lam., e *Metrodorea maracasana* Kaastra) em formigas-cortadeiras (*Atta sexdens*) e moscas-do-mediterrâneo (*Ceratitis capitata*). O primeiro capítulo descreve a avaliação da toxicidade de diversos extratos das espécies vegetais citadas acima, com exceção de *M. maracasana*, frente as operárias de *Atta sexdens* (Hymenoptera: Formicidae), por ingestão.

O segundo capítulo descreve a avaliação da toxicidade de extratos de nove das espécies vegetais citadas acima, com exceção de *O. brasiliensis*, e também de frações e substâncias isoladas de *M. maracasana* para *Ceratitis capitata* (Diptera: Tephritidae), por aplicação tópica.

Ambos capítulos foram descritos conforme as normas de submissão do periódico *Journal of Economic Entomology*.

Além dos ensaios mencionados nos dois capítulos, foram realizados outros ensaios que não foram incluídos na dissertação, os quais são brevemente apresentados a seguir:

1) Ensaios de ingestão com os extratos das folhas de *E. affine* e de *A. spruceanum* (EFEA e EFAS) nas concentrações de 5, 10 e 20 mg.mL⁻¹, para *C. capitata*, porém não houve diferença significativa em relação ao controle. Isso pode ter ocorrido devido à não dissolução completa desses extratos, tornando a metodologia utilizada inadequada.

2) Ensaios com seis substâncias isoladas de *Z. rhoifolium* (hesperidina, sesamina, flindisol, norqueleritrina, liquexantona e 6-hidroxiidrofagaridina) em *C. capitata*. Estes não diferiram significativamente do controle.

3) Ensaios com espécies vegetais, coletadas na região de Itamari-BA, para as quais foram preparados extratos da folha, galho e casca de *Rollinia bahiensis*, casca de *Virola bicuhyba* e galho de *Arapatiella psilophylla*. Estes foram testados por meio de aplicação tópica na concentração de 50 mg.mL⁻¹ *C. capitata*.

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1. Inseticidas de origem vegetal

As substâncias presentes nas plantas e que apresentam atividade inseticida são utilizadas pelo homem há muito tempo no controle de pragas. Existe um número extenso de plantas que tiveram suas propriedades inseticidas estudadas (Silva, 2009). Algumas espécies das famílias Meliaceae, Rutaceae, Asteraceae, Annonaceae, Labiatae e Canellaceae são as consideradas mais promissoras (Jacobson, 1989).

As plantas superiores produzem uma grande diversidade de metabólitos secundários e, muitos desses, apresentam importantes atividades biológicas, sendo produzidos pelas espécies vegetais para exercer alguma função ecológica. Estas substâncias podem possuir diversas finalidades, dentre elas, atuar como defesa ao ataque por insetos herbívoros (Harbone, 1997).

As substâncias químicas extraídas das plantas são classificadas em metabólitos primários e metabólitos secundários. Os metabólitos primários são substâncias amplamente distribuídas na natureza, ocorrendo em praticamente todos os organismos. Eles são essenciais à sobrevivência das plantas e apresentam como característica o fato de se concentrarem frequentemente nas sementes e nos órgãos de armazenamento. Podem ser usados como matéria prima industrial, alimento ou aditivo alimentar e incluem produtos como os óleos vegetais e carboidratos (Balandrin *et al.* 1985).

Os metabólitos secundários são substâncias produzidas por organismos vivos e derivam biossinteticamente dos metabólitos primários. Esses metabólitos são restritos a um determinado grupo de indivíduos de uma mesma família, gênero ou espécie. Eles são sintetizados principalmente em células especializadas e em diferentes estágios do desenvolvimento da planta. Aparentemente eles não possuem função no metabolismo primário das plantas, porém apresentam papel ecológico na atração de polinizadores, adaptação química à pressão ambiental, na defesa contra microrganismos, insetos e predadores superiores, e também são responsáveis pela alelopatia (Balandrin *et al.* 1985). Eles concentram-se em determinadas partes das plantas, por exemplo: raízes, folhas, caules, sementes, flores e casca, podendo ser encontrados em toda a planta, porém com maior concentração em uma parte específica (Gobbo-Neto & Lopes, 2007).

Tanto a extração quanto purificação dos metabólitos secundários são difíceis, pois os mesmos são armazenados pelas plantas em pequenas quantidades. Eles são considerados como substâncias químicas refinadas e são valorizados no mercado, tanto na indústria farmacêutica

sendo utilizados para fins terapêuticos, aromatizantes e flavorizantes, e também como pesticidas (Balandrin *et al.* 1985). Segundo Cardoso *et al.* (2001) alguns metabólitos secundários produzidos por plantas são os alcaloides, flavonoides, taninos, quinonas e constituintes de óleos essenciais. Larcher (2006) menciona que existem aproximadamente cem mil substâncias naturais eco-quimicamente ativas conhecidas.

A síntese dos metabólitos secundários é afetada por condições ambientais, sendo alguns dos principais fatores que podem coordenar ou alterar a taxa de produção desses metabólitos o desenvolvimento e sazonalidade; índice pluviométrico e sazonalidade, temperatura e altitude, entre outros. Existe uma relação inversa entre a alta atividade metabólica e produção de aleloquímicos, isto é, um decréscimo na produção de metabólitos secundários (principalmente derivados fenólicos) em períodos de crescimento tecidual rápido (Gobbo-Neto & Lopes, 2007).

O uso dos inseticidas naturais de origem orgânica e inorgânica ocorreu amplamente até a década de 40. Na classe dos inseticidas inorgânicos, os mais utilizados foram os arseniados de cálcio e de chumbo, derivados do cobre, enxofre em pó ou na forma de sulfatos, cal e outros. Entre os inseticidas de origem orgânica estavam os sintéticos: tiocianatos, ácido cianídrico, brometo de metila, dicloroetileno, e aqueles inseticidas cujas substâncias ativas eram os metabólitos secundários, destacando-se nesse período os piretroides, a nicotina e os rotenoides (Vivian, 2005).

O piretro, conhecido como pó da Pérsia, é um pó obtido pela trituração de flores de plantas de *Tanacetum cinerariaefolium* (Trevir.) Sch. Bip. e *Tanacetum coccineus* (Willd.) Grierson, foi usado na região do Cáucaso e norte do Irã ainda no século XVII. Os constituintes químicos responsáveis pela atividade inseticida dessas plantas são as piretrinas (Barbosa, 2004). As piretrinas apresentam como vantagem a baixa toxicidade aos mamíferos, ao contrário do que se observa nos insetos não alvo (Boyce, 1974). Devido a essa vantagem as piretrinas praticamente dominam o mercado de inseticidas para fins residenciais, podendo ser encontrada em diversas formas: líquidos, aerossóis e sólidos (Vieira *et al.* 2007). A maior desvantagem da utilização do piretro consiste em sua instabilidade à luz solar, o que limita a sua eficácia em campo. Por isso foram desenvolvidos os piretroides, seus similares sintéticos, que são fotoestáveis (Baird, 2002).

As piretrinas naturais são divididas em piretrinas, jasmolinas e cinerinas I e II. Esses produtos naturais foram muito usados até o final da década de 50, quando se tornaram obsoletos devido à baixa estabilidade, tanto fotoquímica como térmica. Desta forma, entre as décadas de 50 e 70 foi dado um grande impulso na síntese de análogos, buscando sempre a manutenção da baixa toxicidade aos mamíferos e peixes e a fotoestabilidade (Vieira *et al.* 2007).

Dentre os avanços conseguidos destaca-se a síntese dos analógos aletrina, fenotrina e remetrina, como também a deltametrina, fenvalerato e esfevalerato. A química sintética dos piretroides foi definida como uma das principais histórias de absoluto êxito no uso de produtos naturais como fonte, o que levou a vários processos de obtenção de derivados considerados não tóxicos ao homem (Henrick, 1995).

Os rotenoides, incluindo a rotenona como principal substância inseticida, foram usados pela primeira vez como inseticida no ano de 1848 na Malásia (Boyce, 1974). A rotenona ocorre principalmente em leguminosas, no gênero *Derris* na Malásia e Indonésia, e nos gêneros *Lonchocarpus*, *Tephrosia* e *Mundulea* na África e América do Sul. Na agricultura, um dos primeiros relatos da utilização dos rotenoides data de 1919, na Guiana Holandesa, no combate às formigas (*Dolichorus bidens* Linnaeus) (Vieira & Fernandes, 1999).

A nicotina, obtida das espécies de *Nicotiana tabacum* L. e *Nicotiana rustica* L., foi empregada como inseticida pela primeira vez no final do século XVII, sob a forma de lavagem de fumo na França. Esse alcaloide foi isolado em 1828 e foi largamente utilizado no início do século passado (Vieira & Fernandes, 1999). Porém, o alto custo de produção, odor desagradável, e toxicidade para animais e o homem foram as desvantagens apresentadas para a limitação do seu uso (Balandrin *et al.* 1985). O extrato aquoso das folhas de fumo foi bastante utilizado no controle de insetos sugadores em plantas de jardins (Barbosa, 2004).

A espécie *Ryania speciosa* Vahl (Flacourtiaceae sinônimo Salicaceae), junto a outras espécies do mesmo gênero, foi um dos poucos exemplos de sucesso comercial de inseticida natural encontrado a partir da triagem de extratos vegetais (Crosby, 1971). Essa espécie possui o maior efeito residual entre os inseticidas botânicos, apresentando atividade após duas semanas da aplicação e possui um largo espectro de ação (Cox, 2002).

O surgimento dos inseticidas sintéticos (organoclorados e fosforados) – desenvolvidos a partir da II Guerra Mundial – durante a Revolução Verde acabou substituindo o uso dos inseticidas botânicos, pois eles se mostravam mais eficientes no controle dos insetos por possuir amplo espectro de atividade. Dessa forma, a utilização de produtos químicos foi realizada em larga escala sem preocupações com seu impacto ambiental, porém os estudos comprovando os efeitos maléficos e os problemas gerados como a contaminação ambiental, resíduos nos alimentos, efeitos prejudiciais sobre organismos benéficos e o aparecimento de insetos resistentes, provou necessário à retomada nos estudos envolvendo os extratos vegetais (Vendramim, 1997).

Desde a proibição dos organoclorados houve uma crescente busca por novos compostos para o controle de pragas, assim como a busca por inseticidas que sejam seletivos e menos

agressivos ao ambiente. A retomada do uso dos inseticidas naturais nos últimos anos, ocorreu por vários motivos, sendo um deles, a capacidade de adaptação da natureza em relação à sistemática de controle de insetos imposta pelo homem, ou seja, pelo uso de organoclorados e fosforados de forma absolutamente indiscriminada. Ficou evidente que o processo de seleção natural escolhia os insetos resistentes e com a reprodução destes, novas variedades eram criadas, e como resposta, novos inseticidas. Porém, a simples introdução de novos agentes cada vez mais tóxicos não garantia o controle a médio e, às vezes, em curto prazo, além da crescente poluição ambiental (Vieira *et al.* 2007).

A própria percepção da opinião pública de que os produtos produzidos com a aplicação de inseticidas botânicos são mais seguros, do que os produzidos com inseticidas sintéticos, tem sido um dos principais incentivos à busca de novos inseticidas de origem natural (Vieira *et al.* 2007).

As pesquisas com plantas que possuem potencial inseticida são feitas normalmente com o objetivo de descobrir novas moléculas que permitam a formulação de produtos sintéticos e a obtenção de inseticidas botânicos naturais para uso direto no controle de pragas (Vendramim, 1997). Usar plantas com atividade inseticida apresenta vantagens em comparação ao uso de produtos sintéticos, pois os inseticidas naturais são obtidos de recursos renováveis, não são persistentes, não deixam resíduos nos alimentos, são de fácil acesso e obtenção pelos agricultores, o que representa um menor custo de produção. Além do fato de por serem substâncias compostas da associação de vários princípios ativos, a resistência dos insetos a essas substâncias é um processo lento (Roel, 2001).

É importante ressaltar que a toxicidade de uma planta contra insetos, não a qualifica necessariamente como um inseticida. Vários aspectos devem ser levados em consideração para que a espécie seja considerada inseticida, tais como: forma de extração e conservação dos extratos, eficácia em baixas concentrações, ausência de toxicidade para mamíferos e animais superiores, fácil obtenção, manipulação, aplicação e viabilidade econômica (Viegas Junior, 2003).

Para um inseticida botânico ser considerado comercialmente viável ele deve preencher uma série de requisitos: ser eficaz, seletivo contra inimigos naturais, baixa toxicidade em mamíferos, biodegradabilidade e ausência de fitotoxicidade. Alguns critérios práticos também devem ser preenchidos, entre eles: fonte de matéria-prima abundante, baixo custo, facilidade para padronização dos compostos ativos em variedades naturais da planta-fonte e potencial para patentear a tecnologia de obtenção de compostos inseticidas (Vieira *et al.* 2007).

Os inseticidas botânicos podem causar diversos efeitos sobre os insetos, os mais frequentes são: repelência, inibição da oviposição e alimentação, alterações hormonais, causando distúrbios no desenvolvimento, deformações, infertilidade e mortalidade nas diversas fases. A depender da espécie vegetal e do tipo de utilização, os derivados de origem vegetal podem ser utilizados sob forma pura, em estado de maceração, em forma de pós ou de extratos (Roel, 2001).

A maioria dos trabalhos referentes ao controle de pragas com produtos botânicos destaca que o uso dessas substâncias é compatível com outras táticas de manejo, principalmente, com o controle biológico. Gallo *et al.* (2002) afirmam que o objetivo principal do uso de extratos vegetais é reduzir o crescimento da população de pragas, sendo, a mortalidade do inseto, apenas um dos efeitos.

Entre as principais plantas com atividade inseticida atualmente destaca-se a ação da *Azadirachta indica* A. Juss. (Meliaceae), conhecida popularmente como nim e produtora de azadiractina (Vieira & Fernandes, 1999). Os derivados dessa planta têm sido usados tradicionalmente por agricultores, na Ásia e África, contra insetos nocivos à produção agrícola. Possui amplo espectro de atividade e é capaz de exercer diversos modos de ação sobre os insetos, tais como: inibição alimentar, inibição da síntese do ecdisônio, inibição da biossíntese da quitina, deformações em pupas e adultos, redução da fecundidade e longevidade de adultos, alterações na capacidade de percepção dos feromônios, esterilização e inibição de oviposição, diminuição da transmissão de vírus e mortalidade (Koul *et al.* 1990; Mordue-Luntz & Backell, 1993; Schmutterer, 1988).

Como nas últimas décadas o controle de pragas na agricultura tem sido feito basicamente com o uso de inseticidas sintéticos, que além de gerarem altos custos e riscos ambientais, muitos deles já são ineficientes, devido à seleção de algumas espécies de insetos resistentes, o uso de substâncias naturais, produzidas por plantas têm sido uma esperança e, também uma alternativa de interesse econômico e ecológico para o controle integrado de pragas, visando à implantação de uma agricultura sustentável (Prates, 2000).

2.2. Formigas-cortadeiras

As formigas pertencentes a ordem Hymenoptera, família Formicidae, são insetos eussociais, pois compartilham o cuidado com a prole, a divisão de tarefas entre castas reprodutiva e estéril, além de sobrepor gerações de adultos dentro de um mesmo ninho (Hölldobler & Wilson, 1990).

São encontradas praticamente em qualquer tipo de vegetação que incluem: florestas subtropicais, tropicais e equatoriais úmidas ou secas, cerrados, pampas, desertos, caatingas e restingas (Mehdiabadi & Schultz, 2010). Elas são adaptadas tanto em ambientes nativos quanto em áreas antropizadas ou de uso intensivo por atividade agrícolas (Delabie *et al.* 2011).

As formigas do gênero *Atta* Fabricius e *Acromyrmex* Mayr são consideradas as verdadeiras formigas-cortadeiras, pois todas as espécies desses gêneros utilizam partes frescas de vegetais, principalmente folhas, no cultivo do fungo *Leucoagaricus gongylophorus* (Möelller) Heim. (Fowler, 1983). Ele é cultivado numa estrutura chamada jardim de fungo, composta basicamente de fragmentos de substrato vegetal, líquido fecal das formigas, além do micélio (Pagnocca *et al.* 2011). Esse fungo é usado como alimento e fonte de enzimas auxiliares no processo digestivo das formigas (Hölldobler & Wilson, 2009). Além dessa fonte alimentar, as operárias também se alimentam da seiva no momento do corte dos vegetais (Silva *et al.* 2003) e pela troca de alimentos entre os indivíduos denominada trofalaxia, que além de ser uma troca nutricional, é uma forma de comunicação, realizada com a função de proteger o ninho (Moreira *et al.* 2011).

Atta e *Acromyrmex* pertencem à tribo Attini. Esta tribo é de ocorrência exclusiva nas Américas, sendo considerada endêmica do Novo Mundo (Mehdiabadi & Schultz, 2010), compreendendo 17 gêneros com cerca de 292 espécies de formigas (Sosa-Calvo *et al.* 2013). A poliandria (múltiplos acasalamentos) diferencia esses gêneros de todos os outros, e é um dos fatores que permitem o longo tempo de vida das colônias (Hölldobler & Wilson, 1990).

As colônias de formigas-cortadeiras são organizadas por grupos de indivíduos morfológicamente diferentes (polimorfismo), de acordo com o trabalho ou as funções que desempenham (polietismo). O polietismo é complexo, ocorrendo variação de tamanho, de secreção das glândulas exócrinas e de espinhos corporais (Della Lucia *et al.* 1993). O polimorfismo está associado à noção de casta, termo utilizado para designar as categorias de indivíduos encontrados nos formigueiros pelo seu fenótipo (aparência física). A casta temporária é constituída por fêmeas e machos alados que são encontrados no interior das colônias em determinadas épocas do ano. As castas permanentes, no caso de *Atta*, abrangem uma fêmea áptera, fundadora do saueiro, e as inúmeras operárias, que realizam a atividade de manutenção da colônia ao longo de sua vida (Souza *et al.* 2011).

O forrageamento, realizado pelas formigas forrageadoras, casta responsável pela alocação de recursos alimentares, é formado pelo estabelecimento e manutenção da trilha, eficiente procura por recursos alimentares de alta qualidade e o corte destes em fragmentos (Kost *et al.* 2005).

Alguns fatores podem influenciar a atividade de forrageamento, como sazonalidade, revoadas, tamanho do formigueiro, queimadas, distribuição espacial entre colônias, hora do dia, presença de parasitoides, precipitação pluviométrica e temperatura (Ribeiro & Marinho, 2011). Tonhasca Jr. e Bragança (2000) verificaram a influência da temperatura nessa atividade, pois perceberam que durante o dia, as operárias de *Atta sexdens rubropilosa* Forel (1908), forrageiam lentamente e quando a temperatura atingia 30 °C, esta atividade era interrompida.

Nessa espécie após o forrageamento, as operárias generalistas lambem e repicam as folhas em pedaços, para as operárias menores mastigarem esse material ao longo das bordas até a redução das folhas em uma polpa úmida, que será inserida no jardim de fungo (Andrade *et al.* 2002).

Apesar de serem tratadas principalmente pelo hábito de cortar a vegetação fresca e de escavar ninhos e galerias profundas às formigas-cortadeiras também apresentam benefícios (Della Lucia & Sousa, 2011), pois exercem efeitos múltiplos, sobre populações de plantas e sobre o ecossistema como um todo, sendo, por isso, chamadas de espécies-chave (Fowler, 1983) e engenheiros do ecossistema (Wirth *et al.* 2003).

Devido à grande remoção do solo durante a construção dos ninhos, as propriedades químicas e físicas dos solos são alteradas, promovendo a ciclagem de nutrientes em favor do crescimento das plantas criando micro-habitat ricos em nutrientes e favorecendo a vegetação adjacente aos ninhos (Forti *et al.* 2011). Em relação às propriedades físicas do solo, a presença de galerias melhoram a penetração de raízes, bem como aeração e drenagem destes (Della Lucia & Sousa, 2011). Já em relação às propriedades químicas o material depositado nas câmaras de lixo sofrem mineralização da matéria orgânica e liberam nutrientes para a solução do solo (Moutinho, 1995; Farji-Brener & Illes, 2000).

Outra característica benéfica das cortadeiras no ecossistema é a dispersão secundária de sementes, fato verificado em estudo realizado por Peterneli *et al.* (2009), que abordou a capacidade que as cortadeiras têm, de transportarem sementes que possuem elaiosoma, dispersando-as e aumentando suas taxas de germinação.

Moutinho *et al.* (2003) ressaltam que o papel ecológico desempenhado pela formigas-cortadeiras é frequentemente esquecido, enquanto que segundo Forti *et al.* (2011) a condição praga na agricultura é sempre a mais lembrada devido à grande quantidade de vegetação de plantas de importância econômica que essas formigas cortam para cultivar o fungo simbiote.

Relatos dos danos causados por essas formigas no Brasil são antigos e foram mencionados em cartas do Padre Anchieta para Portugal em 1560, onde ele citava a existência

de espécies de formigas (chamadas de iças) que causavam estragos às árvores e quando esmagadas cheiravam a limão (Mariconi, 1970).

Segundo Wilson (1986), as cortadeiras cortam mais vegetação do que qualquer outra espécie herbívora, inclusive mamíferos, pássaros e outros insetos, e por isso são consideradas como herbívoros dominantes no Neotrópico (Hölldobler & Wilson, 1990). Elas coletam anualmente, até 15% da vegetação (Wirth *et al.* 2003; Urbas *et al.* 2007) e cerca de 50% das espécies de plantas (Wirth *et al.* 2003) dentro das suas áreas de forrageamento. O ataque das formigas às folhas corresponde a aproximadamente de 12 a 17% da produção anual de uma floresta tropical e têm um efeito direto na produtividade primária da vegetação pela perda de biomassa (Buckley 1982; Majer, 1989).

A herbivoria por saúvas e quenquéns em ambientes agrícolas afeta a sobrevivência, o crescimento e a reprodução de plantas cultivadas (Hernández & Jaffé, 1995), além de provocar a redução da resistência das plantas à ação de outras pragas ou patógenos (Zanetti, 2007). Suspeita-se que a ocorrência de altas taxas de herbivoria está relacionada ao fato do fungo simbionte não ser capaz de degradar a lignina e celulose, fazendo com que apenas pequena fração da biomassa vegetal transportada para o ninho seja aproveitada (Abril & Bucher, 2002).

Estimativas dos danos causados por formigas-cortadeiras feitas em áreas de reflorestamento em 2005 já atingiam cerca de 3,4 milhões de hectares de florestas plantadas com eucalipto, 1,8 milhões de hectares com Pinus e 326 mil com outras espécies (Pereira *et al.* 2008). Um estudo feito por Alípio (1989) estimou que nesses plantios, cerca de 30% dos gastos com manejo da plantação até o terceiro ciclo foram causados pelas cortadeiras.

Prejuízos causados pelas formigas-cortadeiras também foram notórios no cultivo de cana-de-açúcar. Reduções equivalentes a 3,6 toneladas de cana-de-açúcar por ano, equivalente à perda de 300 litros de álcool, foram causadas apenas por um formigueiro adulto de *Atta bisphaerica* Forel (DOW Agrosiences, 1998)

Em pastagens, as cortadeiras de gramíneas, além dos danos diretos, provocam danos indiretos como a erosão do solo nu ao redor do formigueiro em desenvolvimento, a possibilidade de causarem danos físicos aos animais e ao equipamento mecânico e a possível redução no valor das terras de pastagens infestadas (Della Lúcia, 1999).

Mesmo sendo consideradas polífagas, muitas espécies de plantas não são selecionadas para o corte pelas formigas-cortadeiras, indicando que estas fazem discriminação entre os vegetais (Viana-Bailez *et al.* 2011). A presença de compostos secundários, que são tóxicos para as formigas, para o fungo ou ambos, constitui uma característica de plantas que influencia na seleção dos vegetais para o corte (Feeny, 1970). Hubbel *et al.* (1984), apresentam a teoria de

que formigas evitam plantas por estas serem impalátaveis, mesmo que apresentem base nutricional aceitável para o crescimento do fungo.

As formigas-cortadeiras são orientadas para o forrageamento, por estímulos do meio, a exemplo do odor de plantas. Elas usam as pistas de odor como critério para decidir cortar ou não. A escolha é feita através da percepção de voláteis liberados pelas plantas no ambiente e que podem ser captados pelas antenas que possuem pelos com capacidade olfativa (Ribeiro & Marinho, 2011). Hölldobler e Wilson (1990) explicam que as formigas realizam a escolha tocando com as antenas os vegetais. Esse contato físico lhes permitirá a realização de escolhas de acordo com os constituintes químicos presentes no vegetal em questão (Ribeiro & Marinho, 2011).

Ao longo do processo evolutivo as formigas-cortadeiras desenvolveram um complexo sistema de defesa, incluindo mecanismos comportamentais, fisiológicos e associações com outros organismos (Souza *et al.* 2011). Uma dessas medidas de defesa é o “autogrooming” (lambadura de si mesmas) e o “allogrooming” (lambadura de suas companheiras de ninho). As operárias praticam também a lambadura do jardim do fungo, do substratos e da rainha. Esse comportamento é profilático, pois ele ocorre após a lambadura da glândula metapleurale, a qual é fonte de várias substâncias antibióticas (Fernandez-Marin *et al.* 2006). Os antibióticos produzidos por essa glândula possuem propriedades bactericidas e fungicidas (Lacerda *et al.* 2010).

Essas formigas têm atraído a atenção de vários pesquisadores devido à sua importância econômica. A complexa organização social desses insetos lhes confere uma surpreendente capacidade de adaptação às mais variadas mudanças ambientais, dificultando a elaboração de métodos de controle eficiente (Viana-Bailez *et al.* 2011).

Os métodos de controle para as formigas-cortadeiras do gênero *Atta* podem ser mecânicos, culturais, biológicos e químicos. O controle mecânico manual não é muito utilizado pois sua aplicação é restrita a pequenas áreas (Boaretto & Forti, 1997). Ele pode ser feito mediante escavação do ninho para matar a rainha, sendo eficiente se realizado até três meses após a revoada, pois nessa época o ninho está próximo à superfície do solo (Zanetti *et al.* 2002). No controle cultural, práticas de manejo como aração e gradagem do solo são utilizadas, porém funcionam somente com ninhos recém-fundados (Araújo, 2011).

O controle biológico natural, através de predadores, parasitoides e microrganismos patogênicos, é importante na regulação das populações destes insetos. Dentre os inimigos naturais estão as aves silvestres e domésticas por isso não é recomendado a prática de supressão

do sub-bosque pois afeta negativamente às populações de aves e outros organismos benéficos (Almeida *et al.* 1983).

Técnicas de controle comportamental baseadas no uso de feromônios é uma alternativa de grande potencialidade. Os feromônios podem ser utilizados para causar desorganização do sistema social da colônia (feromônio de conhecimento parental ou de alarme), ou para atuar como atrativos em iscas granuladas que veiculam inseticidas (Viana-Bailez *et al.* 2011).

Apesar da existência de diversos métodos e dos avanços em pesquisas sobre o controle das formigas-cortadeiras, o método mais utilizado continua sendo o químico (Costa *et al.* 2008), com destaque para o uso de iscas granuladas e a termonebulização (Pereira, 2007).

A termonebulização ocorre através da atomização do ingrediente ativo veiculado em óleo diesel ou mineral sob a ação do calor, produzindo uma “fumaça” tóxica dentro do formigueiro. A aplicação é realizada utilizando termonebulizadores em um olheiro ativo do saueiro até a saturação do formigueiro, sendo os demais olheiros tampados à medida que se observa a saída da fumaça deles. É um método que apresenta alta eficiência para formigueiros grandes, especialmente nas operações de combate inicial, durante a implantação de florestas cultivadas (Boaretto & Forti, 1997). A manutenção do termonebulizador é considerada uma de suas desvantagens tanto operacional quanto econômica (Zanetti *et al.* 2008).

No Brasil, o controle de formigas-cortadeiras têm sido realizado, principalmente, com o uso de iscas tóxicas em combate localizado (aplicação de formicidas diretamente no saueiro) e sistemático (as iscas são distribuídas de forma sistemática nas áreas) (Del Piero, 2012).

O uso de iscas granuladas é o método mais prático e econômico (Costa *et al.* 2008), essa isca compreende um substrato atrativo (que pode ser polpa cítrica desidratada) misturado com um princípio ativo tóxico. O emprego de iscas granuladas é considerado um método eficiente, prático e econômico, uma vez que oferece segurança ao operador, dispensa mão-de-obra especializada, equipamentos especiais e possibilitam o tratamento de formigueiros em lugares de difícil acesso (Boaretto & Forti, 1997). A isca para ser considerada ideal deve ser atrativa à distância, carregada rapidamente para dentro do ninho, ação tóxica retardada, ser específica e apresentar baixa toxicidade a mamíferos e aves (Nagamoto *et al.* 2004).

A busca por princípios ativos que pudessem substituir o dodecacloro, proibido no território nacional pela Portaria 91 de 30/11/1992 do Ministério da Agricultura, por ser persistente no ambiente e cumulativo na cadeia alimentar (Boaretto & Forti, 1997), culminou com a descoberta da molécula de sulfluramida (N-etil perfluooctano sulfonamida), caracterizada como sendo uma molécula de baixa toxicidade aguda, subcrônica e crônica para a maioria dos seres vivos (Sousa, 1996).

Em 2005 na Convenção de Estocolmo, a sulfluramida por ser uma substância do grupo dos perfluorooctano sulfonato, foi classificada como poluente orgânico e enquadrada no anexo A da Convenção de Estocolmo sobre Poluentes Orgânicos Persistentes (POPs). Em 2009 com a decisão SC-4/17 o “Fluoreto de Perfluorooctano sulfonila” (PFOSF), intermediário na fabricação da sulfluramida, foi incluído no anexo B da Convenção de Estocolmo, tendo finalidade aceitável para a produção de Sulfluramida para a fabricação de iscas inseticidas para o controle de formigas cortadeiras *Atta spp* e *Acromyrmex spp* (United Nations Treaty Collection, 2009).

O Brasil conseguiu a derrogação da proibição do uso de sulfluramida em iscas formicidas e já notificou à Secretaria da Convenção, a intenção de produzir e usar o PFOSF para a produção sulfluramida, não havendo nenhuma determinação legal para sua eliminação, proibição e nem prazo determinado para a substituição (Painel Florestal, 2014).

Estudos realizados pela EPA (Agência de Proteção Ambiental) dos Estados Unidos em 2008, concluíram que a sulfluramida se metaboliza rapidamente em PFOS e não pode ser posteriormente quebrada. O PFOS, possui como característica a persistência no ambiente, efeitos negativos sobre o desenvolvimento e reprodução de animais, além de potencial efeito cancerígeno.

Devido a esses motivos torna-se de suma importância a procura por novos princípios ativos para iscas formicidas que possuam eficácia similar ou superior à sulfluramida. Desta forma, técnicas ou métodos alternativos de controle que permitam reduzir as quantidades do princípio ativo utilizado ou aumentem sua eficácia no controle, aliados a estratégias de controle alternativo, como controle mecânico, biológico, cultural e comportamental, devem ser exploradas e interligadas para aumentar as possibilidades de gerar métodos alternativos de controle dessa praga. Conferir maior atratividade às iscas granuladas com o uso de feromônios das próprias formigas seria uma forma de reduzir o uso desses produtos químicos. Outra maneira seria buscar substitutos para a molécula de sulfluramida, que tenham origem no meio ambiente, integrando compostos vegetais nocivos às formigas nas formulações dessas iscas (Araújo, 2011).

Bueno *et al.* (1990) sugeriram que compostos (metabólitos secundários) de origem vegetal que podem ser tóxicos para as formigas, para o fungo ou ambos e que os compostos que tenham como alvo os dois organismos podem ter uma boa perspectiva no controle das formigas-cortadeiras. Espécies vegetais como *Ipomoea batatas* L. (Hebling *et al.* 2000), *Ricinus communis* L. (Hebling *et al.* 1996, Acácio-Bigi *et al.* 1998, Bigi *et al.* 2004; Alonso & Silva, 2013), *Sesamum indicum* L. (Pagnocca *et al.* 1990; Bueno *et al.* 1995, Ribeiro *et al.* 1998;

Morini *et al.* 2005), *Cedrela fissilis* Vell (Bueno *et al.* 2005), *Heliecta puberalla* RE Fr. (Almeida *et al.* 2007), *Simarouba versicolor* St. Hil. (Peñaflor *et al.* 2009), *Canavalia ensiformis* L. (DC) (Hebling *et al.* 2000, Takahashi-Del-Bianco, 2002) e mais recentemente *Jatropha curcas* L. (Alonso & Silva, 2013) apresentaram efeitos deletérios a *Atta sexdens* e ao seu fungo simbiote.

A toxicidade dessas espécies vegetais é uma característica importante para que sejam desenvolvidas pesquisas no intuito de identificar os componentes químicos que possibilitam essa atividade, com a intenção de criar inseticidas naturais específicos contra essas formigas que sejam menos danosos à saúde das pessoas e do meio ambiente (Araújo, 2011). Sendo uma alternativa que está de acordo com o modelo preconizado para a agricultura do futuro, visto que a maioria das substâncias extraídas de plantas apresentam alta especificidade, não demonstram efeito deletério às espécies nãoalvo e os resíduos químicos não são liberados no meio ambiente nem depositados nos alimentos produzidos (Vilela, 1994).

2.3. Moscas-das-frutas

As moscas-das-frutas pertencem a ordem Díptera, família Tephritidae. Esta família possui aproximadamente 4.448 espécies distribuídas em 484 gêneros (Norrbom, 2004). Os gêneros *Ceratitis*, *Bactrocera*, *Anastrepha* e *Rhagoletis*, são considerados os principais por incluírem espécies que figuram entre as principais pragas da fruticultura mundial (White & Elson-Harris, 1994), com restrição quarentenária no comércio internacional, podendo causar impactos econômicos por embargos fitossanitários (Clarke *et al.* 2005).

As moscas-das-frutas são insetos fitófagos conhecidas como pragas-chave e de importância quarentenária, devido às altas taxa de fecundidade, capacidade de dispersão, natural e antrópica, elevada em adultos favorecendo a capacidade de crescimento populacional sob diferentes condições ecológicas (Raga *et al.* 2006). A existência de grande diversidade de hospedeiros, com frutos amadurecendo em diferentes estações do ano, mantém alta a densidade destes tefritídeos (Raga *et al.* 1996).

De acordo com a FAO (2006) uma praga quarentenária é uma praga de expressão econômica potencial para uma área posta em perigo (com potencial de introdução e estabelecimento), onde ainda não está presente (quarentenária A1) ou se está, é oficialmente controlada, com distribuição limitada (quarentenária A2).

As moscas-das-frutas pertencentes aos gêneros *Anastrepha* e *Ceratitis* são as pragas mais importantes para a fruticultura brasileira devidos aos danos causados pelas fêmeas e pelas

larvas em desenvolvimento exclusivamente em frutos (Zucchi, 2000). As fêmeas reconhecem os frutos por meio de estímulos visuais e químicos na busca e discriminação do hospedeiro (Joachim-Bravo *et al.* 2001).

Os impactos econômicos negativos desses insetos estão associados aos danos diretos causados quando as fêmeas perfuram a epiderme do fruto com o seu ovipositor para colocar os ovos (punctura) (Nascimento & Carvalho, 2000). Após isso as larvas eclodem e consomem a polpa, tornando-os impróprios tanto para consumo *in natura* como para industrialização, entretanto quanto a infestação é discreta é possível a comercialização dos frutos (Cunha *et al.* 2000). Já os danos indiretos são causados devido a possível contaminação por microorganismos (fungos e bactérias), no local onde a epiderme foi perfurada, provocando o apodrecimento dos frutos atacados, ocasionando a queda destes e favorecendo a ocorrência de outros problemas fitossanitários, já que a pupação ocorre no solo e emergem os adultos (Nascimento & Carvalho, 2000).

O gênero *Ceratitis* é composto por 78 espécies (De Meyer, 2000), que ocorrem principalmente na África Tropical (Zucchi, 2000). Entre as espécies de importância econômica, destaca-se *Ceratitis capitata* Wiedemann, mosca-do-mediterrâneo ou moscamed, nativa da região noroeste da África e está distribuída na maioria das regiões tropicais e temperadas do mundo (Bateman, 1972; Carey, 1991; Christenson & Foote, 1960).

Essa espécie causa mais prejuízos à agricultura do que qualquer outra, sendo considerada a espécie mais nociva entre os tefritídeos (Malavasi, 2009). O sucesso biológico dessa espécie provém da sua elevada plasticidade ecológica, invadindo com grande facilidade novos habitats (Rohde *et al.* 2013) e de várias características adaptativas (morfológicas, fisiológicas e comportamentais), envolvidas em cada estágio do seu ciclo de vida (Yuval & Hendrichs, 2000) passando a ser considerada uma importante praga a nível mundial de frutos frescos.

Devido à sua distribuição local e a grande variedade de hospedeiros, mais de 260 diferentes espécies de frutos, flores, legumes e nozes são atacados por *C. capitata* (Thomas *et al.* 2013). No Brasil, essa espécie foi registrada pela primeira vez no estado de São Paulo, em 1901, (Zucchi, 2001). Ela ocorre em 22 estados no território nacional, comumente nas regiões Sudeste e Sul, sendo associada a 84 espécies hospedeiras pertencentes a 25 famílias botânicas, destas as famílias que possuem um maior número de hospedeiros são a Myrtaceae (20 espécies), Rutaceae (12) e Rosaceae (9) (Zucchi, 2012).

A importância atribuída a essa mosca do ponto de vista do dano econômico à fruticultura mundial (Malavasi *et al.* 2000) é devido às implicações econômicas para os produtores e

exportadores, pois sua existência reduz o rendimento das culturas, aumenta os custos de gestão e afeta negativamente o comércio entre os países ou dentro do mesmo país (Siebert *et al.* 1995). Além disso, estudos tem mostrado que elas afetam a saúde humana pela capacidade de transmitir a bactéria *Escherichia coli* para frutos comerciais (Sela *et al.* 2005).

Não existem estimativas reais de danos causados pela mosca-do-mediterrâneo no Brasil, porém os altos índices populacionais de *C. capitata*, verificados em pomares localizados no semi árido brasileiro, tem dificultado as exportações de frutos *in natura*, por exemplo a manga, onde um dos principais requisitos para exportação é que os pomares apresentem índices populacionais de moscas-das-frutas inferior a 1 Mosca/Armadilha/Dia (MAD) (Barbosa *et al.* 2005). Em função da densidade populacional, região, variação anual, variedades, verificou-se que a produção pode ser reduzida aproximadamente de 30% a 50% (Orlando & Sampaio, 1973 apud Zucchi, 2001). Foram registrados ataque aos frutos de pêsego, citros, maçã, manga entre outros (Malavasi *et al.* 1980).

O conhecimento prévio das espécies e seus hospedeiros na área é fundamental para o estabelecimento de um programa de controle de moscas-das-frutas (Uramoto, 2002). Monitoramentos para detecção destas têm sido realizados com armadilhas dos tipos McPhail e Jackson. Nas armadilhas do tipo MacPhail, utiliza-se atrativo alimentar (proteína hidrolisada a 7%), capturando moscas-das-frutas de forma genérica, independentemente da espécie. Para captura específica de *C. capitata* utiliza-se armadilha tipo Jackson, com atrativo sexual atraindo especialmente machos (Nascimento & Carvalho, 2000). Um maior nível de precisão na estimativa das populações de moscas-das-frutas e a rapidez na detecção são os principais requisitos para detectar movimentos migratórios, mortalidade ou reprodução destas (Ros *et al.* 2002), provendo assim informações para o Manejo Integrado de Pragas que têm incentivado o uso de vários métodos e táticas de controle, principalmente o controle biológico, que deve ser usado com o intuito de reduzir a densidade populacional das moscas-das-frutas e favorecer o aumento da população de seus inimigos naturais (Walder, 2000).

De acordo com Malavasi (2009) os programas de controle de moscas-das-frutas dispõem dos seguintes métodos para o controle: controle químico com o uso de iscas tóxicas com atrativo alimentar (emprega-se atualmente o uso de inseticida orgânico a base de espinosade que atua por ingestão e é associado com um atrativo alimentar); iscas tóxicas associando um atrativo sexual para atração dos machos que após ingerirem a mistura morrem em poucos minutos; Técnica do Inseto Estéril (TIE) que consiste na liberação de um grande número de machos estéreis no ambiente onde eles copulam com as fêmeas da natureza, transferindo espermatozoides inviáveis; métodos culturais com remoção de frutos maduros

caídos sobre o solo para impedir a emergência e reprodução das moscas; e eliminação das plantas hospedeiras que não sejam destinadas à comercialização.

Urbaneja *et al.* (2009) menciona que a principal forma de reduzir rapidamente as populações dessas moscas, é com a aplicação de inseticida, que pode ser realizado através de pulverização em cobertura total ou aplicação de isca tóxica a base de melado de cana-de-açúcar ou proteína hidrolisada que visa atrair e eliminar a fêmea adulta, que necessita de proteínas e carboidratos no período de pré-oviposição. Atualmente, em nível mundial utiliza-se o malathion, lufenuron, fipronil e espinosade, inseticidas eficazes no controle de moscas-das-frutas (Chang, *et al.* 2011).

Embora essa técnica de controle seja efetiva, a utilização indiscriminada de inseticidas no controle desses insetos ocasionam graves desequilíbrios ecológicos, desencadeia o surgimento de populações de outras pragas ao eliminar os inimigos naturais, além de acarretar a contaminação humana e do meio ambiente (Mendes *et al.* 2007). Devido ao uso intensivo desses produtos, a aceitação da fruta *in natura* é prejudicada, pois alguns destes produtos podem deixar resíduos tóxicos sobre os frutos (Nascimento *et al.* 2002).

O controle de *C. capitata* é realizado principalmente por esse método devido a sua eficiência, porém devido aos danos ao meio ambiente e a saúde humana, além da adição de resíduos ao produto (Carvalho *et al.* 2000), surge a necessidade de pesquisas com novas formas de controle eficazes e menos impactantes. Métodos de controle alternativos, como o uso de armadilhas, técnica do inseto estéril e uso de inimigos naturais (parasitoides e nematoides entomopatogênicos) são utilizados visando uma rápida ação sobre a *C. capitata* de forma a obter a redução da população para níveis economicamente aceitáveis (Tavares, 2011).

Destas a mais recomendada é o controle biológico. O controle biológico de moscas-das-frutas em programas de diversos países baseia-se na produção e liberação de parasitoides em grande escala, visando uma rápida ação sobre a praga para que se obtenha redução da população para níveis economicamente aceitáveis (Alves, 2010). O controle com o uso de nematoides entomopatogênicos, considerado excelentes agentes de controle biológico é uma alternativa para um controle eficaz e mais seguro da mosca-do-mediterrâneo. (Chang *et al.* 2011).

Nematoides entomopatogênicos, pertencentes às famílias Heterorhabditidae e Steinernematidae, são considerados excelentes agentes de controle biológico. Estes entomopatogênicos são seletivos a um grande número de insetos não alvo, apresentam inocuidade ao meio ambiente e aos demais seres vivos, sendo um ótimo recurso a ser utilizado como componente do manejo integrado de pragas (Georgis *et al.* 2006; Shapiro-Ilan *et al.* 2006).

Em alguns trabalhos observa-se a utilização de nematoides entomopatogênicos aliado ao uso de extratos vegetais, e isso tem se mostrado uma alternativa promissora para o controle dessa praga em programas de manejo integrado dessas moscas. A adoção destas duas formas de controle isoladas ou em mistura em uma mesma área pode melhorar a eficiência de controle dessa praga (Rodhe *et al.* 2013).

O desafio atual da agricultura é manter a produtividade dos cultivos e ao mesmo tempo melhorar a qualidade biológica (valor nutritivo) e a sanidade dos alimentos (ausência de resíduos tóxicos), além de conservar os recursos naturais de produção (solo, água, ar e organismos) para as gerações futuras (Aguiar-Menezes, 2003). Aliado a isso, a necessidade de novos produtos no combate as pragas, devido à resistência das mesmas aos produtos em uso, e também com a finalidade de atender a demanda dos mercados de fruta *in natura* que são extremamente exigentes no que diz respeito à qualidade da fruta em relação à ausência de agrotóxicos.

Essas exigências forçam o produtor a adotar no controle das pragas, um conjunto de medidas que incluem práticas integradas de controle de menor impacto sobre o agroecossistema (Corsato, 2004). Dentro dessa perspectiva, o controle com produtos de origem vegetal se destaca como importante ferramenta em programas de manejo integrado de pragas, devido à eficiência e a facilidade de obtenção pelos produtores (Martins *et al.* 1995), além de poder ser usado juntamente com os nematoides anatomopatológicos. No entanto, para a utilização integrada dessas formas de controle, é necessário conhecer o grau em que os nematoides podem ser afetados pelos extratos, determinando assim a compatibilidade entre as mesmas (Rodhe *et al.* 2013).

Em relação aos extratos vegetais, alguns trabalhos em condições de laboratório revelaram a ação inseticida de *Citrus limonia* Osbeck, *Cestrum parque* (Lam) L Hér., *Melia azedarach* L., *Ruta graveolens* L., *Zingiber officinales* Valetton, *Allium sativum* L. e *Citrus arautium* L. sobre as diferentes fases de desenvolvimento de *C. capitata* (Salvatore *et al.* 2004; Zappata *et al.* 2006; Siskos *et al.* 2009; Rohde, 2011).

3. OBJETIVOS

3.1. Objetivo geral

O objetivo geral desse trabalho consistiu em avaliar a atividade inseticida de extratos de espécies vegetais coletadas no estado da Bahia, Brasil frente as formigas-cortadeiras e mosca-do-mediterrâneo, além de avaliar a atividade inseticida de frações e substâncias isoladas de *Metrodorea maracasana* frente as moscas-do-mediterrâneo.

3.2. Objetivos específicos

Preparar extratos vegetais com diferentes espécies coletadas em Brejo Novo, Município de Jequié, Bahia, Brasil.

Realizar ensaios biológicos por ação de contato (aplicação tópica) e ingestão para avaliar a toxicidade dos extratos vegetais preparados para as formigas-cortadeiras.

Realizar ensaios biológicos por ação de contato (aplicação tópica) para avaliar a toxicidade dos extratos vegetais preparados para a mosca-do-mediterrâneo.

Testar frações e substâncias isoladas de *Metrodorea maracasana* para avaliar a toxicidade destas as formigas-cortadeiras por meio de aplicação tópica.

4. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ABRIL, AB. & BUCHER, EH. 2002. Evidence that the fungus cultured by leaf-cutting ants does not metabolize cellulose. *Ecology Letters*, vol. 05, no. 3, p. 325-328.
- ACÁCIO-BIGI, MFM.; HEBLING, MJA.; BUENO, OC.; PAGNOCCA, FC.; DA SILVA, OA.; FERNANDES, JB. & VIEIRA, PC. 1998. Toxicidade de extratos foliares de *Ricinus communis* L. para operárias de *Atta sexdens* L., 1908 (Hymenoptera, Formicidae). *Revista Brasileira de Entomologia*, vol. 41, no. 2, p. 239-243.
- AGUIAR MENEZES, EL. 2003. Controle biológico de pragas: princípios e estratégias de aplicação em ecossistemas agrícolas. Seropédica: Embrapa Agrobiologia. 44 p.
- ALIPIO, AS. 1989. Controle de formigas-cortadeiras. Normas Técnicas da Pains Florestal. 8 p.
- ALMEIDA, AF.; ALVES, JEM.; MENDES FILHO, JMA. & LARANJEIRO, AJ. 1983. A avifauna e o sub-bosque como fatores auxiliares no controle biológico das saúvas em florestas implantadas. *Silvicultura*, vol. 8, no. 28, p. 145-150.
- ALMEIDA, RNA.; PEÑAFLORES, MFGV.; SIMOTE, SY.; BUENO, OC.; HEBLING, MJA.; PAGNOCCA, FC.; FERNANDES, JB.; VIEIRA, PC. & DA SILVA, MFGF. 2007. Toxicity of substances isolated from *Helietta puberula* RE Fr. (Rutaceae) to the leaf-cutting ant *Atta sexdens* L. (Hymenoptera: Formicidae) and the symbiotic fungus *Leucoagaricus gongylophorus* (Singer) Möller. *BioAssay*, vol. 2, no. 2, p. 1-8.
- ALONSO, EC. & SANTOS, DYAC. 2013. *Ricinus communis* and *Jatropha curcas* (Euphorbiaceae) seed oil toxicity against *Atta sexdens rubropilosa* (Hymenoptera: Formicidae). *Journal of Economic Entomology*, vol. 106, no. 2, p. 742-746.
- ALVES, VES. 2010. Dinâmica populacional de moscas-das-frutas (Diptera: Tephritidae) antes e após a liberação de *Diachasmimorpha longicaudata* (Hymenoptera: Braconidae) em área de intersecção de pomar cítrico e Mata secundária. Botucatu: Faculdade de Ciências Agronômicas da Universidade Estadual Paulista “Júlio De Mesquita Filho”. Tese de doutorado em Agronomia. 90 p.

ANDRADE, APP.; FORTI, LC.; MOREIRA, AA.; BOARETTO, MAC.; RAMOS VM. & MATOS, CAO. 2002. Behavior of *Atta sexdens rubropilosa* (Hymenoptera: Formicidae) workers during the preparation of the leaf substrate for symbiont fungus culture. *Sociobiology*, vol. 40, no. 2, p. 293-306.

ARAÚJO, GDFT. 2011. Incremento da eficiência de iscas destinadas ao controle da formiga-cortadeira *Atta sexdens rubropilosa* (Hymenoptera: Formicidae) mediante o uso de extrato de glândula de veneno e farinha foliar de gergelim. Rio de Janeiro: Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro. Dissertação de Mestrado em Produção Vegetal. 56 p.

BAIRD, C. 2002. Química Ambiental. 2ª ed. Porto Alegre: Bookman. 622 p.

BALANDRIN, MF.; KLOCKE, JA.; WURTELE, ES. & BOLLINGER, WH. 1985. Natural plant chemicals: Sources of industrial and medicinal materials. *Science*, vol. 228, no. 4704, p. 1154-1160.

BARBOSA, FR.; GONÇALVES, ME.; MOREIRA, WA.; ALENCAR, JA.; SOUZA, EA.; SILVA, CS.; SOUZA, AM. & MIRANDA, IG. 2005. Artrópodes praga e predadores (Artropoda) associados à cultura da mangueira no Vale do São Francisco, Nordeste do Brasil. *Neotropical Entomology*, vol. 34, no. 3, p. 471-474.

BARBOSA, LCA. 2004. Os pesticidas, o homem e o meio ambiente. 1ª ed. Viçosa: Editora Universidade Federal de Viçosa. 215 p.

BATEMAN, MA. 1972. The ecology of fruit flies. *Annual Review of Entomology*, vol. 17, no. 1, p. 493-518.

BIGI, MFMA.; TORKOMIAN, VLV.; GROOTE, STCS.; HEBLING, MJA.; BUENO, OC.; PAGNOCCA, FC.; FERNANDES, JBP.; VIEIRA, C. & DA SILVA, MFGF. 2004. Activity of *Ricinus communis* (Euphorbiaceae) and ricinine against the leaf-cutting ant *Atta sexdens rubropilosa* (Hymenoptera:Formicidae) and the symbiotic fungus *Leucoagaricus gongylophorus*. *Pest Management Science*, vol. 60, no. 9, p.933-938.

BOARETTO, MAC. & FORTI, LC. 1997. Perspectiva de formigas-cortadeiras. Serie técnica IPEF, vol. 11, no. 30, p. 31–46.

BOYCE, AM. 1974. Historical aspects of insecticide development. In: METCALF, RL. & MCKELVEY JR., JJ. The future for insecticides needs and prospects: proceedings of a Rockefeller Foundation Conference. New York: Wiley Interscience. p. 469-488.

BRANDÃO, CRF.; MAYHÉ-NUNES, AJ. & SANHUDO, CED. 2011. Taxonomia e Filogenia das Formigas-Cortadeira. In: DELLA LUCIA, TMC. Formigas-cortadeiras: da bioecologia ao manejo. Viçosa: Editora Folha de Viçosa. p. 27-48.

BUCKLEY, R. 1982. Ant-plant interactions in Australia. The Hangu. 1ª ed. Boston: Dr. W. Junk Publisher. 162 p. Geobotany, no. 4.

BUENO, FC.; GODOY, MP.; LEITE, AC.; BUENO, OC.; PAGNOCCA, FC.; FERNANDES, JB.; HEBLING, MJA.; BACCI JR, M.; VIEIRA, PC. & SILVA, MFGF. 2005. Toxicity of *Cedrela fissilis* to *Atta sexdens rubropilosa* (Hymenoptera: Formicidae) and its symbiotic fungus. Sociobiology, vol. 45, no. 2, p. 389-399.

BUENO, OC.; HEBLING, MJA.; SILVA, OA. & MATENHAUER, AMC. 1995. Effect of sesame (*Sesamum indicum*) on nest development of *Atta sexdens* L. (Hym: Formicidae). Journal of Applied Entomological, vol. 119, no. 1, p. 341-343.

BUENO, OC.; HEBLING-BERALDO, MJA.; SILVA, OA.; PAGNOCCA, FC. & FERNANDES, JB. 1990. Toxic effect of plants on leaf-cutting ants and their symbiotic fungus, In: VANDER MEER, RK., JAFFÉ, K. & CEDENO A. Applied Mirmecology: a world perspective. San Francisco: Westview Press Boulder. p. 420-426.

CARDOSO, MG.; SHAN, AYKV. & SOUZA, JA. 2001. Fitoquímica e química de produtos naturais. Lavras: Editora UFLA. 67 p.

CAREY, JR. 1991. Establishment of the mediterranean fruit fly in California. Science, vol. 253, no. 5026, p. 1369-1373.

- CARVALHO, RS.; NASCIMENTO, AS. & MATRANGOLO, WJR. 2000. Controle biológico. In: MALAVASI, A. & ZUCCHI, RA. Moscas-das-frutas de importância econômica no Brasil: conhecimento básico e aplicado. Ribeirão Preto: Editora Holos. p. 113-117.
- CHANG, CL.; CHO, IK. & LI, QX. 2011. Laboratory evaluation of the chemosterilant lufenuron against the fruit flies *Ceratitis capitata*, *Bactrocera dorsalis*, *B. cucurbitae*, and *B. latifrons*. *Journal of Asia-Pacific Entomology*, vol.15, no. 1, p.13–16.
- CHRISTENSON, LD. & FOOTE, RH. 1960. Biology of fruit flies. *Annual Review of Entomology*, vol. 5, no. 1, p. 171-192.
- CLARKE, AR.; ARMSTRONG, KF.; CARMICHAEL, AE.; MILNE, JR.; RAGHU, S.; RODERICK, GK. & YEATS, DK. 2005. Invasive phytophagous pests arising through a recent tropical evolutionary radiation: The *Bactrocera dorsalis* complex of fruit flies. *Annual Review of Entomology*, vol. 50, no. 1, p. 293-319.
- CORSATO, CDA. 2004. Moscas-das-frutas (Díptera: Tephritidae) em pomares de goiaba no norte de Minas Gerais: biodiversidade, parasitoides e controle biológico. Piracicaba: Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Universidade de São Paulo. Tese de doutorado em Fitotecnia. 83 p.
- COSTA, EC.; AVILA, M.; CANTARELLI, EB.; MURARI, AB. & MANZONI, CG. 2008. *Entomologia Florestal*. Santa Maria: Editora Universidade Federal Mato Grosso do Sul. 240p.
- COX, C. Pyrethrins/Pyrethrum. 2002. *Journal of Pesticide Reform*, vol. 22, no. 1, p. 14-20.
- CROSBY, DG. 1971. Minor Insecticides of Plant Origin. In: JACOBSON, M. & CROSBY, DG. *Naturally Occurring Insecticides*. New York: Marcel Dekker Inc. p. 17-239.
- CUNHA, MM.; FILHO, SHP. & NASCIMENTO, AS. 2000. Manga: fitossanidade. Brasília: Embrapa Comunicação para Transferência de Tecnologia. 104 p. *Frutas do Brasil*, no. 6.

DE MEYER, M. 2000. Phylogeny of the genus *Ceratitis* (Dacinae: Ceratidini). In: ALUJA, M. & NORRBOM, AL. Fruit flies (Tephritidae): phylogeny and evolution of behavior. Boca Raton: CRC Press. p. 409-428.

DEL PIERO, FHMO. 2012. Dimensões do orifício de abastecimento e área real de saueiros de *Atta sexdens rubropilosa* (Hymenoptera: Formicidae), precisão dos métodos e implicações no controle com iscas formicidas. Botucatu: Faculdade de Ciências Agrônômicas da UNESP. Dissertação de Mestrado em Ciências Florestais. 92 p.

DELABIE, JHC.; ALVES, HSR.; REUSS-STRENZEL, GM.; CARMO, AFR. & NASCIMENTO, IC. 2011. Distribuição das formigas-cortadeiras dos gêneros *Acromyrmex* e *Atta* no Novo Mundo. In: DELLA LUCIA, TMC. Formigas-cortadeiras: da bioecologia ao manejo. Viçosa: Editora Folha de Viçosa. p. 80-101.

DELLA LUCIA, TMC. & SOUZA, DJ. 2011. Importância e história de vida das formigas-cortadeiras. In: DELLA LUCIA, TMC. Formigas-cortadeiras: da bioecologia ao manejo. Viçosa: Editora Folha de Viçosa. p. 13-26.

DELLA LUCIA, TMC. 1999. *Atta Bisphaerica*: uma ilustre desconhecida. *Naturalia*, São Paulo, vol. 24, no. 1, p. 53-59.

DELLA LUCIA, TMC.; FOWLER, HG. & ARAÚJO, MS. 1993. Castas de formigas-cortadeiras. In: DELLA LUCIA, TMC. As formigas cortadeiras. Viçosa: Editora Folha de Viçosa. p. 43-59.

DOW AGROSCIENCES. 1998. Controle de formigas-cortadeiras. (Folheto). 1 p.

EPA (Environmental Protection Agency). 2008. Sulfluramid registration review final decision. Registration Review Case 7411. Disponível em: < <http://www.fluoridealert.org/wp-content/pesticides/sulfluramid.epa.june.2008.pdf>>. Acesso em 28 de dezembro de 2013.

FAO (Food and Agriculture Organization). 2006. Glossary of phytosanitary terms. Secretariat of the International Plant Protection Convention of the Food and Agriculture Organization

(FAO) of the United Nations. In: ISPM no. 5. Secretariat of the International Plant Protection Convention. Rome. 23p.

FARJI-BRENER, AG. & ILLES, AE. 2000. Do leaf-cutting ant nests make “bottom-up gaps in neotropical rainforests?: a critical review of the evidence. *Ecology Letters*, vol. 3, no. 3, p. 219-227.

FEENY, PP. 1970. Seasonal changes in oak leaf tannins and nutrients as a cause of spring feeding by winter moth caterpillars. *Ecology*, vol. 51, no. 4, p. 565-581.

FERNANDEZ-MARIN, H.; ZIMMERMAN, JK.; REHNER, SA. & WCISLO, WT. 2006. Active use of the metapleural glands by ants in controlling fungal infection. *Proceeding of the Royal Society B. Biological Sciences*, vol. 237, no. 1594, p. 1689-1695.

FORTI, LC.; MOREIRA, AA.; ANDRADE, APP.; CASTELLANI, MA. & NÁDIA, C. 2011. Nidificação e arquitetura de ninhos de Formigas-cortadeiras. In: DELLA LUCIA, TMC. *Formigas-cortadeiras: da bioecologia ao manejo*. Viçosa: Editora Folha de Viçosa. p. 102-125.

FOWLER, HG. 1983. Latitudinal gradients and diversity of the leaf-cutting ants (*Atta* and *Acromyrmex*) (Hymenoptera: Formicidae). *Revista de Biologia Tropical*, vol. 31, no. 2, p. 213-344.

GALLO, D.; NAKANO, O.; SILVEIRA NETO, S.; CARVALHO, RPL.; BAPTISTA, GC.; BERTI FILHO, E.; PARRA, JRP.; ZUCCHI, RA.; ALVES, SB.; VENDRAMIM, JD.; MARCHINI, LC.; LOPES JR, S. & OMOTO, C. 2002. *Entomologia Agrícola*. 1ª ed. Piracicaba: Fundação de Estudos Agrários Luiz Queiroz. 920 p.

GEORGIS, R.; KOPPENHÖFER, AM.; LACEY, LA.; BÉLAIR, G.; DUNCAN, LW.; GREWAL, PS.; SAMISH, M.; TAN, L.; TORR, P. & VAN TOL, RWHM. 2006. Successes and failures in the use of parasitic nematodes for pest control. *Biological Control*, vol. 38, no. 1, p. 103-123.

GOBBO-NETO, L. & LOPES, BP. 2007. Plantas medicinais: fatores de influência no conteúdo dos metabólitos secundários. *Química Nova*, vol. 30, no. 2, p. 374-381.

HARBORNE, JB. 1997. Introduction to Ecological Biochemistry. 4^a ed. London: Academic. 318 p.

HEBLING, MJA.; BUENO, OC.; MAROTI, PS.; PAGNOCCA, FC. & DA SILVA, OA. 2000. Effects of leaves of *Ipomoea batatas* (Convolvulaceae) on nest development and on respiratory metabolism of leaf-cutting ants *Atta sexdens* L. (Hymenoptera: Formicidae). Journal of Applied Entomology, vol. 124, no. 5, p. 249-252.

HEBLING, MJA.; BUENO, OC.; PAGNOCCA, FC.; DA SILVA, OA. & MAROTI, PS. 2000. Toxic effects of *Canavalia ensiformes* L. (Leguminosae) on laboratory colonies of *Atta sexdens* L. (Hym., Formicidae). Journal of Applied Entomology, vol. 124, no. 1, p. 33-35.

HEBLING, MJA.; MAROTI, PS.; BUENO, OC.; DA SILVA, OA. & PAGNOCCA, FC. 1996. Toxic effects of leaves of *Ricinus communis* (Euphorbiaceae) to laboratory nests of *Atta sexdens rubropilosa* (Hymenoptera: Formicidae). Bulletin of Entomological Research, vol. 86, no. 3, p. 253-256.

HENRICK, CA. 1995. Pyrethroids. In: GODFREY, CRA. Agrochemicals from Natural Products. New York: Marcel Dekker, Inc. p. 147-213.

HERNANDEZ, JV. & JAFFÉ, K. 1995. Dano econômico causado por populações de formigas *Atta laevigata* em plantações de *Pinus caribaea* Mor. e elementos para o manejo da praga. Anais da Sociedade Entomológica do Brasil, vol. 24, no. 2, p. 287-298.

HÖLLDOBLER, B. & WILSON, EO. 1990. The ants. Cambridge: Belknap Press of the Harvard University Press. 732 p.

HÖLLDOBLER, B. & WILSON, EO. 2009. The superorganism: the beauty, elegance, and strangeness of insect societies. New York: W.W. Norton & Company, Inc. 544 p.

HUBBELL, SP.; HOWARD, JJ. & WIEMER, DF. 1984. Chemical leaf repellency to an Attini ant: season distribution among potential host plant species. Ecology, vol. 65, no. 4, p.1067-1076.

JACOBSON, M. 1989. Botanical pesticides: past, present and future. In: ARNASON, JT.; PHILOGÈNE, BJR. & MORAND, P. Insecticides of Plant Origin. Washington: American Chemical Society. p. 1-10.

JOACHIM-BRAVO, IS.; FERNANDES, OA.; BORTOLI, AS. & ZUCOLOTO, FS . 2001. Oviposition behavior of *Ceratitis capitata* Wiedemann (Diptera: Tephritidae): association between oviposition preference and larval performance in individual females. Neotropical Entomology, vol. 30, no. 4, p. 559-564.

KOST, C.; OLIVERIA, EG.; KNOCH, TA. & WIRTH, R. 2005. Spatio-temporal permanence and plasticity of foraging trails in young and mature leaf-cutting ant colonies (*Atta* spp.). Journal of Tropical Ecology, vol. 21, no. 1, p. 677-688.

KOUL, O.; ISMAN, MB. & KETKAR, CM. 1990. Properties and uses of neem, *Azadirachta indica*. Canadian Journal of Botany, vol. 68, no. 1, p. 1-11.

LACERDA, FG.; DELLA LUCIA, TMC.; PEREIRA, OL. & TÓTOLA, MR. 2010. Mortality of *Atta sexdens rubropilosa* (Hymenoptera: Formicidae) workers in contact with colony waste from different plant sources. Bulletin of Entomological Research, vol. 100, no. 1, p. 99-103.

LARCHER, W. 2006. Ecofisiologia Vegetal. 2^a ed. São Carlos: Rima Artes e Textos. 550 p.

LIQUIDO, N.J.; S HINODA, L.A. & C UNNINGHAM, RT. 1991. Host plants of the Mediterranean fruit fly (Diptera: Tephritidae): an annotated world review. Miscellaneous Publications of the Entomological Society of America, vol.77, no. 1, p.1-52.

MAJER, JD. 1989. Animals in primary succession. The role of fauna in reclaimed lands. Cambridge: Cambridge University Press. 547 p.

MALAVASI, A.; MORGANTE, JS. & ZUCCHI, RA. 1980. Biologia de “moscas-das-frutas” (Diptera: Tephritidae). Lista de hospedeiros e ocorrência. Revista Brasileira de Biologia, vol. 40, no. 1, p. 9-16.

MALAVASI, A.; ZUCCHI, RA. & SUGAYAMA, R.L. 2000. Biogeografia. In: MALAVASI, A. & ZUCCHI, RA. Moscas-das-frutas de importância econômica no Brasil – conhecimento básico e aplicado. Ribeirão Preto: Holos Editora. p. 41-48.

MALAVASI, A. 2009. Programas de Controle de Moscas-das-Frutas no Continente Americano. In: MALAVASI, A. & VIRGINIO, J. Biologia, monitoramento e controle. Curso internacional de capacitação em moscas-das-frutas. Juazeiro: Editora Biofábrica Moscamed Brasil. p. 57-61.

MARICONI, FAM. 1970. As saúvas. São Paulo: Editora Agronômica Ceres. 167 p.

MARTINS, ER.; CASTRO, DM.; CASTELLANI, DC. & DAS, JE. 1995. Plantas medicinais. Viçosa: Imprensa Universitária. 25 p.

MEHDIABADI, NJ. & SCHULTZ, TR. 2010. Natural history and phylogeny of the fungus-farming ants (Hymenoptera: Formicidae: Myrmicinae: Attini). Myrmecological News, vol. 13, no. 1, p. 37-55.

MENDES, P.; AMBROSANO, E.; GUIRADO, N.; ROSSI, F.; ARÉVALO R. & GROppo, G. 2007. Avaliação populacional de moscas-das-frutas (Díptera: Tephritidae) e de seus parasitoides larvais (Hymenoptera: Braconidae). Resumos do II Congresso Brasileiro de Agroecologia. Revista Brasileira de Agroecologia, vol. 02, no. 1, p. 690-693.

MJA. 2003. Survival of *Atta sexdens* workers on different food sources. Journal Insect Physiology, vol. 49, no. 1, p. 307-313.

MORDUE-LUNTZ, A.J. & BLACKWELL, A. 1993. Azadirachtin: an update. Journal of Insect Physiology, vol. 39, no. 11, p. 903-924.

MOREIRA, DDO.; ERTHAL, M. & SAMUELS, RI. 2011. Alimentação de digestão em formigas-cortadeiras In: DELLA LUCIA, TMC. Formigas-cortadeiras: da bioecologia ao manejo. Viçosa: Editora Folha de Viçosa. p. 204-226.

MORINI, MSC.; BUENO, OC.; BUENO, FC.; LEITE, AC.; HEBLING, MJA.; PAGNOCCA, FC.; FERNANDES, JB.; VIEIRA, PC. & SILVA, MFGV. 2005. Toxicity of sesame seed to leaf-cutting ant *Atta sexdens rubropilosa* (Hymenoptera: Formicidae). *Sociobiology*, vol. 45, no. 1, p. 195-204.

MOUTINHO, P.; NEPSTAD, DC. & DAVIDSON, EA. 2003. Influence of leaf-cutting ant nest on secondary forest growth and soil properties in Amazonic. *Ecology*, vol. 84, no. 5, p. 1265-1276.

MOUTINHO, PRS. 1995. Acabar com a saúva, mas nem tanto. *Ciências Hoje*, vol. 18, no.106, p. 10-11.

NAGAMOTO, NS.; FORTI, LC.; ANDRADE, APP.; BOARETTO, MAC. & WILCKEN, CF. 2004. Method for the evaluation of insecticidal activity over time in *Atta sexdens rubropilosa* workers (Hymenoptera: Formicidae). *Sociobiology*, vol. 44, no. 2, p. 413-431.

NASCIMENTO, AS. & CARVALHO, RS. 2000. Manejo integrado de mosca-das-frutas. In: MALAVASI, A. & ZUCCHI, RA. Moscas-das-frutas de importância econômica no Brasil: conhecimento básico e aplicado. Ribeirão Preto: Editora Holos. p. 169-174.

NASCIMENTO, AS.; CARVALHO, RS.; MENDONÇA, MC. & BRAGA SOBRINHO, R. 2002. Pragas e seu controle. In: GENÚ, PJC. & PINTO, CAQ. A cultura da mangueira. Brasília: EMBRAPA. p. 279-297.

NORRBOM, A.L. 2004. Fruit fly (Diptera: Tephritidae) classification and diversity. Disponível em: <<http://www.sel.barc.usda.gov/diptera/tephriti/Tephclas.htm>>. Acesso em 10 de janeiro de 2013.

PAGNOCCA, FC.; RODRIGUES, A & BACCI JR. M. 2011. Microrganismos associados às formigas-cortadeiras. In: DELLA LUCIA, TMC. Formigas-cortadeiras: da bioecologia ao manejo. Viçosa: Editora Folha de Viçosa. p. 262-283.

PAGNOCCA, FC.; SILVA, OA.; HEBLING-BERALDO, MJ. & BUENO, OC. 1990. Toxicity of sesame extracts to the symbiotic fungus of leaf-cutting ants. *Bulletin of Entomological Research*, vol. 80, no. 3, p. 349-352.

PAINEL FLORESTAL. 2014. Disponível em: <<http://www.painelflorestal.com.br/arquivo/sulfloramida-e-essencial-para-os-setores-florestal-e-agricola-e-nao-tem-substituto-1f3f1b1a7be40d1c78a21d5fbac7d946>>. Acesso em 28 de dezembro de 2013.

PEÑAFLORES, MFGV.; ALMEIDA, RNA.; SIMOTE, SY.; YAMANE, E.; BUENO, OC. & HEBLING, MJA.; FERNANDES, JB.; VIEIRA, PC.; DA SILVA, MFGF. & PAGNOCCA, FC. Toxicity of Substances Isolated from *Simarouba versicolor* St. Hil. (Simaroubaceae) to the Leaf-cutting Ant *Atta sexdens* L. (Hymenoptera: Formicidae) and the Symbiotic Fungus *Leucoagaricus gongylophorus* (Singer) Möller. *Bioassay*, vol. 04, no. 1, p. 1-7.

PEREIRA, JMM. & SANTOS, GP. 2008. Aspectos socioeconômicos do setor florestal brasileiro. *Informe Agropecuário, EPAMIG*, vol. 29, no. 242, p. 7-13.

PEREIRA, LGB. 2007. Dossiê Técnico: Estratégias de controle de formigas -cortadeiras. Minas Gerais: Fundação Centro Tecnológico de Minas Gerais. 22 p.

PETERNELLI, EFO.; DELLA LUCIA, MTC.; PETERNELLI, LA. & MOREIRA, NC. 2009. Seed transport and removal of the elaiosome of *Mabea fistulifera* by workers of *Atta sexdens rubropilosa* (Hymenoptera: Formicidae). *Sociobiology*, vol. 53, no. 1, p. 275-290.

PRATES, HT. 2000. Aplicação de Produtos Naturais na Agricultura. Disponível em: <<http://www.s bq.org.br/PN-NET>>. Acesso em 07 de abril de 2012.

RAGA, A.; SOUZA FILHO, MF.; PRESTES, DAO.; AZEVEDO FILHO, JA. & SATO, ME. 2006. Susceptibility of guava genotypes to natural infestation by *Anastrepha* spp. (Diptera: Tephritidae) in the municipality of Monte Alegre do Sul, state of São Paulo, Brazil. *Neotropical Entomology*, vol. 35, no. 1, p. 121-125.

RAGA, A.; SOUZA FILHO, MF.; SATO, ME. & CERÁVOLO, LC. 1996. Dinâmica populacional de adultos de moscas-das-frutas (Diptera: Tephritidae) em pomar de citros de Presidente Prudente, SP. Arquivos do Instituto Biológico, vol. 63, no. 2, p. 23-28.

RIBEIRO, MMR. & MARINHO, CGS. 2011. Seleção e forrageamento em formigas-cortadeiras. In: DELLA LUCIA, TMC. Formigas-cortadeiras: da bioecologia ao manejo. Viçosa: Editora Folha de Viçosa. p. 189-203.

RIBEIRO, SB.; PAGNOCCA, FC.; VICTOR, SR.; BUENO, OC.; HEBLING, MJA.; BACCI JUNIOR, M.; SILVA, OA.; FERNANDES, JB. & VIEIRA, PC. 1998. Activity of sesame leaf extracts against the symbiotic fungus of *Atta sexdens* L. Anais da Sociedade Entomológica, vol. 27, no. 3, p. 421-426.

ROEL, AR. 2001. Utilização de plantas com propriedade inseticidas: uma contribuição para o desenvolvimento rural sustentável. Revista Internacional de desenvolvimento Local, vol. 1, no. 2, p. 43-50.

ROHDE C.; MOINO, AJr.; MERTZ, NR.; KRUPA, P. & RAMALHO, KRO. 2013. Compatibilidade de nematóides entomopatogênicos e extratos vegetais aquosos visando o controle da mosca-das-frutas *Ceratitis capitata* (Wiedemann) (Diptera: Tephritidae). Ciências Agrárias, vol. 34, no. 3, p. 1033-1042.

ROHDE, C. 2011. Avaliação de nematoides entomopatogênicos e extratos vegetais aquosos para o controle da moscas-das-frutas *Ceratitis capitata* (Wiedemann) (Diptera: Tephritidae). Lavras: Universidade Federal de Lavras. Tese de doutorado em Entomologia. 120 p.

ROS, JP.; WONG, E.; OLIVERO, J. & CASTILLO, E. 2002. Mejora de los mosqueros, atrayentes y sistemas de retención contra la mosca mediterránea de la fruta *Ceratitis capitata* Wied. - Como hacer de la Técnica de Trampeo Masivo una buena herramienta para controlar esta plaga. Boletín Sanidad Vegetal y Plagas, vol. 28, no. 04, p. 591-597.

SALVATORE, A.; BORKOSKY, S.; WILLINK, E. & BARDON, A. 2004 Toxic effects of lemon peel constituents on *Ceratitis capitata*. Journal of Chemical Ecology, vol. 30, no. 2, p. 323-333.

SCHMUTTERER, H. 1988. Potencial of azadirachtin containing pesticides for integrated pest control in developing and industrialized countries. *Journal of Insect Physiology*, vol. 34, no. 7, p. 713-719.

SELA, S.; NESTEL, D.; PINTO, R.; NEMNY-LAVY, E. & BAR-JOSEPH, M. 2005. Mediterranean fruit fly as a potential vector of bacterial pathogens. *Applied and Environmental Microbiology*, vol. 71, no. 7, p. 4052-4056.

SHAPIRO-ILAN, DI.; GOUGE, DH.; PIGGOTT, SJ. & FIFE, JP. 2006. Applications technology and environmental considerations for use of entomopathogenic nematodes in biological control. *Biological Control*, vol. 38, no. 1, p. 124-133.

SIEBERT, J. & COOPER, T. 1995. Embargo on California produce would cause revenue Job loss. *California Agriculture*, vol. 49, no. 4, p. 7-12.

SILVA, A.; BACCI JR. M.; SIQUEIRA CG.; BUENO OC.; PAGNOCCA FC. & HEBLING SILVA, AB. 2009. Aspectos biológicos e toxicidade de produtos de origem vegetal a *Euborellia annulipes*. Areia: Universidade Federal da Paraíba - Centro de Ciências Agrárias, Tese de Doutorado em Agronomia. 122 p.

SISKOS, EP.; KONSTANTOPOULOU, MA. & MAZOMENOS, BE. 2009: Insecticidal activity of *Citrus aurantium* peel extract against *Bactrocera oleae* and *Ceratitis capitata* adults (Diptera: Tephritidae). *Journal of Applied Entomology*, vol. 133, no. 2, p. 108-116.

SOSA-CALVO, J.; SCHULTZ, TR.; BRANDÃO, CRF.; KLINGENBERG, C.; FEITOSA, RM.; RABELING, C.; BACCI JR. M.; LOPES CAUÊ T. & VASCONCELOS, HL. 2013. *Cyatta abscondita*: Taxonomy, Evolution, and Natural History of a new fungus-farming ant genus from Brazil. *Plos one*, vol. 8, no. 11, p. 1-20.

SOUSA, NJ. 1996. Avaliação do uso de três tipos de porta-isca no controle de formigas-cortadeiras, em áreas preparadas para a implantação de povoamentos de *Pinus taeda* L. Curitiba: Universidade Federal do Paraná. Dissertação de Mestrado em Engenharia Florestal. 88 p.

SOUZA, DJ.; SANTOS, JFL. & DELLA LUCIA, TMC. 2011. Organização social das formigas-cortadeiras. In: DELLA LUCIA, TMC. Formigas-cortadeiras: da bioecologia ao manejo. Viçosa: Editora Folha de Viçosa. p. 126-140.

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

TAVARES, LM. 2011. Contribuição para o Controlo Biológico de *Ceratitis capitata* Wiedemann (Diptera: Tephritidae) – Ilha de São Miguel, Açores. Ponta Delgada: Universidade dos Açores. Dissertação de mestrado em Biotecnologia em Controlo Biológico. 79 p.

THOMAS, MC.; HEPPNER, JB.; WOODRUFF, RE.; WEEMS, HV.; STECK GJ. & FASULO, TR. 2013. Mediterranean Fruit Fly, *Ceratitis capitata* (Wiedemann) (Insecta: Diptera: Tephritidae). Disponível em: <<http://edis.ifas.ufl.edu/in371>>. Acesso em 05 de janeiro de 2014.

TONHASCA, AJR. & BRAGANÇA, MAL. 2000. Forager size of the leaf cutting ant *Atta sexdens* (Hymenoptera: Formicidae) in a mature eucalyptus forest in Brazil. *Revista de Biología Tropical*, vol. 48, no. 4, p. 983–988.

UNITED NATIONS TREATY COLLECTION. 2009. Stockholm Convention On Persistent Organic Pollutants. Disponível em: <<http://treaties.un.org/doc/Publication/CN/2009/CN.524.2009-Eng.pdf>> Acesso em 10 de janeiro de 2014.

URAMOTO, K. 2002. Biodiversidade de moscas-das-frutas do gênero *Anastrepha* (Diptera: Tephritidae) no Campus Luiz de Queiroz, Piracicaba, São Paulo. Piracicaba: Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Universidade de São Paulo. Dissertação de mestrado em Ciências. 85 p.

URBANEJA, A.; CHUECA, P.; MONTÓN, H.; PASCUAL-RUIZ, S.; DEMBILIO, O.; VANACLOCHA, P.; ABAD-MOYANO, R.; PINA, T. & CASTÁNERA, P. 2009. Chemical alternative to malathion for controlling *Ceratitis capitata* (Diptera: Tephritidae), and their side effects on natural enemies in Spanish citrus orchards. *Journal of Economic Entomology*, vol. 102, no. 1, p.144-151.

URBAS, P.; ARAÚJO, JR.; LELA IR. & WIRTH, R. 2007. Cutting more from cut forests – edge effects on foraging and herbivory of leaf-cutting ants. *Biotropica*, vol. 39, no. 4, p.489-495.

VENDRAMIM, JD. 1997. Plantas inseticidas. In: Resumos do 16º Congresso Brasileiro de Entomologia, Cruz das Almas, Bahia, Brasil. p. 10.

VIANA-BAILEZ, AM.; BAILEZ, O. & MALAQUIAS, KS. 2011. Comunicação química em formigas-cortadeiras. In: DELLA LUCIA, TMC. Formigas-cortadeiras: da bioecologia ao manejo. Viçosa: Editora Folha de Viçosa. p. 141-164.

VIEGAS JUNIOR, C. 2003. Terpenos com atividade inseticida: uma alternativa para o controle químico de insetos. *Química Nova*, vol. 26, no. 3, p. 390-400.

VIEIRA, PC. & FERNANDES, BJ. 1999. Plantas inseticidas. In: SIMÕES, CMO. & PETROVICK, PR. Farmacognosia – da planta ao medicamento. Porto Alegre/Florianópolis: Universidade Federal do Rio Grande do Sul e Universidade Federal de São Carlos. p. 739-754.

VIEIRA, PC.; MAFEZOLI, J. & BIOVATTI, MW. 2007. Inseticidas de origem vegetal. In: CORRÊA, AG. & VIEIRA, PC. Produtos naturais no controle de insetos. 2ª ed. São Carlos: Editora da Universidade Federal de São Carlos. p. 69-105.

VILELA, EF. 1994. Feromônio no controle de formigas cortadeiras. In: Anais do III Curso de Controle de Formigas Cortadeiras, Viçosa, Minas Gerais. p. 11-13.

VIVIAN, MP. 2005. Uso do cinamomo (*Melia azedarach*) como alternativa aos agroquímicos no controle do carrapato bovino (*Boophilus microplus*). Florianópolis: Universidade Federal de Santa Catarina. Dissertação do Mestrado em Agroecossistemas. 72 p.

- WALDER, JMM. 2000. Técnica do inseto estéril: controle genético. In: MALAVASI, A. & ZUCCHI, RA. Moscas-das-frutas de importância econômica no Brasil: conhecimento básico e aplicado. Ribeirão Preto: Editora Holos. p. 151-158.
- WHITE, IM. & ELSON-HARRIS, MM. 1994. Fruit flies of economic significance: their identifications and bionomic. Wallingford: CAB International. 601 p.
- WILSON, EO. 1986. The defining traits of fire ant and leaf-cutting ants. In: LOFGREN, CS., & VANDER MEER, RC. Fire ants and leaf-cutting ants: biology and management. Boulder: Westview Press. p. 1-9.
- WIRTH, R.; HERZ, H.; RYEL, RJ.; BEYSCHLAG, W. & HÖLLDOBLER, B. 2003. Herbivory of leaf-cutting ants: a case study on *Atta colombica* in the tropical rainforest of Panama. Ecological Studies 164. 230 p.
- YUVAL, B. & HENDRICH, J. 2000. Behavior of flies in the genus *Ceratitis* (Dacinae: Ceratidini). In: ALUJA, M. & NORRBOOM, AL. Fruit flies (Tephritidae): phylogeny and evolution of behavior. Boca Raton: CRC Press. p. 429-457.
- ZANETTI, R. 2007. Manejo Integrado de Formigas Cortadeiras e Cupins em Áreas de Eucalipto da CENIBRA. Laudo Técnico FSC-CENIBRA. Disponível em: <<http://www.cenibra.com.br/pdf/LaudoFSC-Cenibra.pdf>>. Acesso em 02 dezembro de 2013.
- ZANETTI, R.; CARVALHO, GA.; SANTOS, A.; SOUZA SILVA, A. & GODOY, MS. 2002. Manejo integrado de formigas cortadeiras. Disponível em: <http://www.den.ufla.br/attachments/article/73/Aula6_MIP_FORMIGAS.pdf>. Acesso em 02 dezembro de 2013.
- ZANETTI, R.; ZANUNCIO, JC.; SOUZA-SILVA, A.; MENDONÇA, LA.; MATTOS, JOS. & RIZENTAL, MS. 2008. Eficiência de produtos termonebulígenos no controle de *Atta laevigata* (Hymenoptera: Formicidae) em plantio de eucalipto. Ciência Agrotécnica, vol. 32, no. 4, p. 1313-1316.

ZAPPATA, N.; BUDIA, F.; VINUELA, E. & MEDINA, P. 2006. Insecticidal effects of various concentrations of selected extractions of *Cestrum parquion* adult and immature *Ceratitis capitata*. *Journal of Economic Entomology*, vol. 99, no. 2, p. 359-365.

ZUCCHI, RA. 2000. Taxonomia. In: MALAVASI, A. & ZUCCHI, RA. Moscas-das-frutas de importância econômica no Brasil: Conhecimento básico e aplicado. Ribeirão Preto: Editora Holos. p. 13-24.

ZUCCHI, RA. 2001. Mosca-do-mediterrâneo, *Ceratitis capitata* (Diptera: Tephritidae). In: VILELA, EF.; ZUCCHI, RA. & CANTOR, F. Histórico do impacto das pragas introduzidas no Brasil. Ribeirão Preto: Editora Holos. p. 15-22.

ZUCCHI, RA. 2012. Fruit flies in Brazil - Hosts and parasitoids of the Mediterranean fruit fly. Disponível em: < www.lea.esalq.usp.br/ceratitis/>. Acesso em 10 janeiro de 2014.

5. CAPÍTULO I

Toxicidade de extratos de espécies vegetais da Bahia, Brasil, para operárias de *Atta sexdens* (Hymenoptera: Formicidae)

5.1. Resumo

As formigas-cortadeiras figuram entre os principais insetos que causam prejuízos econômicos à atividade agrícola e silvicultural do Brasil. Estas formigas são controladas principalmente pelo método químico, com o uso de inseticidas sintéticos, necessitando de alternativas como o uso de inseticidas de origem vegetal, que seja eficaz no combate a esse inseto. O objetivo deste trabalho foi avaliar a toxicidade das espécies *Aspidosperma spruceanum* Benth. ex Müll. Arg. (folha e galho), *Casearia arborea* (Rich.) Urb. (folha e galho), *Casearia sylvestris* Swartz (folha e casca), *Erythroxylum affine* A. St.-Hil. (folha e galho), *Esenbeckia grandiflora* Mart. (folha e casca), *Ocotea brasiliensis* Coe-Teix (casca e galho), *Simarouba amara* Aubl. (casca), *Tabernaemontana bracteolaris* Mart. Ex Müll. Arg. (folha, casca e galho) e *Zanthoxylum rhoifolium* Lam. (folha e galho), coletadas no estado da Bahia, Brasil, frente a esses insetos. Os extratos preparados foram utilizados em ensaios biológicos por aplicação tópica na concentração de 1,0 mg.mL⁻¹ e por ingestão na concentração de 0,2 mg.mL⁻¹. Os dados foram analisados pela comparação das curvas de sobrevivência usando o teste estatístico "log rank". Os resultados indicam que no ensaio com a aplicação tópica, os extratos da folha e do galho de *Z. rhoifolium*, e da casca de *S. amara* foram os mais tóxicos, por provocarem um menor tempo de sobrevivência média. No ensaio por ingestão, o extrato do galho de *Z. rhoifolium* foi o mais eficaz para ser utilizado em posteriores estudos com iscas tóxicas, por ter tido uma ação mais retardada em comparação aos que apresentaram toxicidade. Os extratos da folha e do galho de *Z. rhoifolium*, foram os únicos que apresentaram toxicidade por ambas metodologias, sendo promissor principalmente para futuros estudos no controle de formigas, usando termonebulização.

Palavras-chave: *Atta sexdens*, extratos vegetais, ensaios biológicos.

5.2. Abstract

The leaf-cutting ants are among the main insects that cause economic agricultural and silvicultural Brazil's losses. These ants are controlled mainly by the chemical method, with the use of synthetic insecticides, requiring alternatives such as the use of insecticides of plant origin, which is effective against this insect. The objective of this study was to evaluate the toxicity of the species *Aspidosperma spruceanum* Benth. ex Müll. Arg. (leaf and twig), *Casearia arborea* (Rich.) Urb (leaf and stem), *C. sylvestris* Swartz (leaf and bark), *Erythroxylum affine* A. St.-Hil. (leaf and twig), *Esenbeckia grandiflora* Mart. (leaf and bark), *Ocotea brasiliensis* Coe - Teix (peel and stick), *Simarouba amara* Aubl. (bark), *Tabernaemontana bracteolaris* Mart. Ex Müll. Arg. (leaf, bark and twig) and *Zanthoxylum rhoifolium* Lam (leaf and twig), collected in the state of Bahia, Brazil, against these insects. The extracts were prepared in biological assays used topically at a concentration of 1.0 mg.mL⁻¹ and intake at a concentration of 0.2 mg.mL⁻¹. Data were analyzed by comparing survival curves using the log rank statistic test. The results indicate that the test with topical application, the extracts of leaf and twig *Z. rhoifolium*, and the bark of *S. amara* were the most toxic, to cause a lower average survival time. In the trial by ingestion, the extract of *Z. rhoifolium* branch was the most effective to be used in subsequent studies with baits, to have had more action delayed in comparison to that exhibited toxicity. The extracts of leaf and twig *Z. rhoifolium*, were the ones who showed toxicity through both methods, being particularly promising for future studies in the control of ants, using fogging.

Keywords: *Atta sexdens*, plant extracts, biological assays

5.3. Introdução

As formigas pertencentes ao gênero *Atta* e *Acromyrmex* são consideradas as verdadeiras formigas-cortadeiras, pois todas as espécies desses gêneros utilizam partes frescas de vegetais, principalmente folhas, no cultivo do fungo *Leucoagaricus gongylophorus* (Fowler 1983).

Elas estão disseminadas em todo o território nacional e atacam praticamente todas as plantas cultivadas, causando prejuízos à agricultura, ao reflorestamento e às pastagens (Loeck e Grützmacher 2001). Devido ao comportamento de cortar folhas verdes é atribuída grande importância a esse grupo de insetos, uma vez que essas formigas interagem com espécies de

plantas de valor econômico, afetando a sobrevivência, o crescimento e a reprodução destas, sendo considerada assim uma importante praga agrícola (Victoria et al. 2011).

Em florestas, essas formigas são as principais pragas de *Pinus* e *Eucalyptus* (Boaretto e Forti 1997). Estimativas dos danos causados por formigas-cortadeiras em áreas de reflorestamento em 2005 indicam perdas aproximadas de 3,4 milhões de hectares de florestas plantadas com eucalipto, 1,8 milhões de hectares com *Pinus* e 326 mil com outras espécies (Pereira et al. 2008). Analisando o nível de dano econômico em função do índice de produtividade florestal de eucaliptais em uma região de Mata Atlântica foi observado que as injúrias das saúvas influenciam negativamente o crescimento em diâmetro das árvores (Souza et al. 2011).

Existem vários métodos utilizados para o controle de formigas cortadeiras, porém Laranjeiro e Zanúncio (1995) afirmam que somente com o uso de produtos químicos é conseguido o controle eficiente dessas formigas, principalmente na forma de iscas. No entanto, a termonebulização poderia ser empregada como alternativa ao uso dessas iscas, principalmente em períodos chuvosos (Cruz et al. 1984). O efeito de termonebulização pode ser além de contato também por ingestão, ou seja, a formiga que não morrer quando em contato com o veneno, morrerá quando for se alimentar, pois acabará contaminando a panela do fungo (Mendes Filho e Suiter Filho, 1970).

No Brasil utilizam-se cerca de 13 a 16.000 toneladas por ano de iscas granuladas tóxicas (Delabie et al. 2000) e, atualmente, o princípio ativo mais utilizado e eficaz em iscas formicidas é a sulfluramida (*N*-etil perfluorooctano sulfonamida). As sulfluramidas foram enquadradas no anexo B da Convenção de Estocolmo sobre Poluentes Orgânicos Persistentes (POPs) como poluente orgânico (United Nations Treaty Collection, 2011) e se tratando do princípio ativo mais usado e eficaz no controle das cortadeiras, torna-se urgente a procura por novos princípios ativos para iscas formicidas de eficácia similar ou superior à sulfluramida. Encontrar extratos tóxicos a essas formigas e moléculas naturais é muito importante devido a seletividade dos produtos de origem vegetal aos insetos-alvo, aliado a biodegradabilidade.

Devido à sua importância econômica, a formiga-cortadeira têm atraído à atenção de vários pesquisadores e estudos foram desenvolvidos em busca de plantas que possuam substâncias tóxicas para as cortadeiras (Hebling et al. 2000, Bigi et al. 2004, Araújo et al. 2008, Almeida et al. 2007, Peñaflor et al. 2009, Gouvêa et al. 2010, Pereira et al. 2010), no qual várias espécies tem se mostrado com efeitos deletérios para as mesmas. A toxicidade é baseada na produção de metabólitos secundários por algumas espécies vegetais, que podem ser tóxicos para as formigas, para o fungo ou ambos (Hubbel et al. 1994).

Em trabalho recente, Alonso e Santos (2013) testaram o óleo da semente de *Ricinus communis* L. e *Jatropha curcas* L. em diferentes concentrações, por meio de ingestão e aplicação tópica em *Atta sexdens* Forel, em ensaios biológicos em laboratório, obtendo altas taxas de mortalidade, indicando assim, a toxicidade desses óleos.

Em virtude da necessidade de alternativas que possam ser eficazes no combate as formigas-cortadeiras o objetivo deste trabalho consistiu em avaliar a toxicidade de extratos de diversas espécies vegetais coletadas no estado da Bahia, Brasil, para formigas-cortadeiras (*Atta sexdens* L.), por meio de aplicação tópica e ingestão, em condições de laboratório.

5.4. Material e Métodos

Obtenção do material vegetal e preparo dos extratos. A coleta das espécies vegetais foi realizada em um fragmento de floresta estacional localizado na Fazenda Brejo Novo (13°56'41"S e 40°06'33.9"W) entre 617 m e 755 m de altitude, a 9 km de Jequié-BA. Foram preparados os extratos utilizando diferentes partes vegetais, das seguintes espécies, representados por suas respectivas siglas: folha (EFAS) e galho (EGAS) de *Aspidosperma spruceanum* Benth. ex Müll. Arg., folha (EFCA) e galho (EGCA) de *Casearia arborea* (Rich.) Urb., folha (EFCS) e casca (ECCS) de *Casearia sylvestris* Swartz, folha (EFEA) e galho (EGEA) de *Erythroxylum affine* A. St.-Hil., folha (EFEG) e casca (ECEG) de *Esenbeckia grandiflora* Mart., casca (ECOB) e galho (EGOB) de *Ocotea brasiliensis* Coe-Teix, casca (ECSA) de *Simarouba amara* Aubl., folha (EFTB), casca (ECTB) e galho (EGTB) de *Tabernaemontana bracteolaris* Mart. Ex Müll. Arg. e folha (EFZR), galho (EGZR) e raiz (ERZR) de *Zanthoxylum rhoifolium* Lam. Essas espécies pertencem as famílias: Apocynaceae (*A. spruceanum*), Salicaceae (*C. arborea* e *C. sylvestris*), Erythroxylaceae (*E. affine*), Lauraceae (*O. brasiliensis*), Simaroubaceae (*S. amara*) e Rutaceae (*E. grandiflora* e *Z. rhoifolium*). O material vegetal foi seco em estufa a 40 °C por 48 h, e submetido à extração com metanol, à frio. O extrato foi filtrado e concentrado sob vácuo, em evaporador rotativo, à 50 °C.

Os ensaios biológicos foram realizados utilizando operárias de *Atta sexdens*, coletadas de diversos ninhos do Laboratório de mimercologia da Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia. Foram selecionadas operárias forrageadoras de mesmo porte, observando a largura da cápsula cefálica.

Ensaio de toxicidade por contato. Foi realizado mediante metodologia usada por Araújo et al. (2008). A avaliação da atividade formicida foi realizada com a utilização de 18 extratos preparados das partes vegetais coletadas de cada espécie. O extrato foi diluído em etanol, na

concentração de 1,0 mg.mL⁻¹. Cada operária foi tratada topicamente com 1,0 µL dessa solução no pronoto, usando uma microseringa graduada de 10 µL (Hamilton, modelo 701N). Nesse experimento foram preparados dois controles: um sem aplicação e outro com aplicação de 1,0 µL do solvente (etanol). As formigas utilizadas em cada tratamento foram acondicionadas em placas de Petri contendo um chumaço de algodão embebido em água destilada. Foram realizados 18 tratamentos, sendo cada tratamento realizado em triplicata, com dez formigas em cada unidade amostral. O número de indivíduos mortos foi verificado após 24, 48 e 72 horas da aplicação dos tratamentos.

Ensaio de toxicidade por ingestão. Neste ensaio as formigas foram alimentadas com uma dieta sólida, com a seguinte composição (g.L⁻¹): glicose (50), peptona bacteriológica (10), extrato de levedura (1,0), e agar (10), dissolvidos em água destilada. Esta foi autoclavada a 120 °C por 15 minutos (Bueno et al. 1997). As dietas experimentais, à exceção do controle, foram obtidas adicionando os extratos EFEG, ECEG, EFEA, EFZR, EGZR, EFCA, ECCS, ECSA, EFAS na concentração de 0,2 mg.mL⁻¹, à mesma ainda quente, logo após a sua retirada da autoclave. O líquido foi derramado nas placas de Petri já identificadas e mantido sob refrigeração durante 25 dias. A avaliação da mortalidade foi realizada diariamente durante 25 dias. As placas foram forradas com papel filtro, previamente umedecidos com água destilada. Diariamente a dieta era trocada e 0,4 g da dieta artificial eram oferecidos às formigas. Para cada tratamento, foram utilizadas 50 operárias, 10 por placa, com cinco repetições para cada tratamento. O controle foi realizado com dieta pura (sem a adição do extrato), totalizando 10 tratamentos.

Em ambos ensaios as placas de Petri (90 mm, diâmetro) foram mantidas em ambiente com a temperatura de 25 ± 1 °C e umidade relativa entre 70% e 80%.

Análise dos dados. As médias dos tratamentos foram submetidos a análise de variância e comparadas pelo teste de Tukey ($p < 0,05$) utilizando o programa SAS para as análises estatísticas. Os dados da análise de ingestão foram analisados graficamente, pela comparação das curvas de sobrevivência dos tratamentos com o controle, por meio do teste estatístico “log-rank test”, utilizando o programa PRISMA 6.0 (GraphPad Software). Para cada tratamento, o tempo de sobrevivência média (S_{50}) foi determinado considerando o dia em que foi observado 50% de sobrevivência das operárias.

5.5. Resultados e Discussão

No ensaio de aplicação tópica os extratos que apresentaram diferença significativa em relação ao controle foram os extratos da folha e do galho de *Z. rhoifolium* (EFZR e EGZR),

casca de *S. amara* (ECSA), galho de *A. spruceanum* (EGAS) e folha de *C. arborea* (EFCA). Esses resultados indicam a possibilidade da presença de algum metabólito secundário tóxico a *A. sexdens* nestes extratos. Os resultados de mortalidade (%) diária (Tabela 01) mostram que as formigas tratadas com EGZR, EFZR e ECSA apresentaram o maior percentual de mortalidade (33 – 37%), quando comparadas àquelas submetidas aos demais tratamentos. Dessa forma, eles são os mais promissores para serem usados em posteriores ensaios em campo com termonebulização.

S. amara é conhecida por apresentar em sua composição quassionoides, conhecidos por serem as substâncias mais ativas usadas na medicina popular, apresentando efeitos inibitórios contra organismos nocivos (Fiaschetti et al. 2011). A espécie *Simarouba versicolor* em ensaios biológicos apresentou toxicidade às formigas-cortadeiras nas concentrações de 2,0, 1,6 e 0,3 mg.mL⁻¹ (Peñaflor et al. 2009).

O gênero *Casearia* é conhecido por apresentar espécies com propriedades terapêuticas e nessa espécie o composto ativo presente no extrato alcoólico são os diterpenos, chamados de casearinas (Beutler et al. 2000). Entretanto, não foram encontrados na literatura relatos de atividade inseticida para *C. arborea*.

As espécies do gênero *A. spruceanum* são amplamente utilizadas na medicina (Oliveira et al. 2009a). Esse gênero é conhecido por serem importantes fontes de alcaloides, principalmente os alcaloides indólicos (Oliveira et al. 2009b). Além de suas propriedades terapêuticas, algumas espécies desse gênero apresentaram atividade bactericida e leishmanicida (Tanaka et al. 2006a; Tanaka et al. 2006b). Porém, não foram encontrados estudos que mencionem atividade em insetos envolvendo *A. spruceanum*.

Araújo et al. (2008), testando a toxicidade de extratos das folhas de cinco espécies usadas na medicina popular, por meio da aplicação tópica, na concentração de 1 mg.mL⁻¹, observaram que apenas os extratos de arruda (*Ruta graveolens* L.) e mentrasto (*Ageratum conyzoides* L.) induziram maior mortalidade em operárias.

No ensaio biológico realizado por ingestão, a comparação realizada das curvas de sobrevivência do controle com as dos extratos da folha e do galho de *Z. rhoifolium* (EFZR e EGZR), da folha de *E. grandiflora* (EFEG) e da casca de *C. sylvestris* (ECCS) (Figura 02), mostraram diferença significativa em relação ao tempo de sobrevivência média das operárias. Os tratamentos utilizando os extratos EFCA, ECEG, EFAS, ECSA e EFEA não apresentaram diferença significativa quando comparados ao controle (Tabela 02).

O tempo de sobrevivência média dos EFEG, ECCS, EFZR e EGZR, foram de 7, 8, 8, e 10 dias, respectivamente, evidenciando a influência desses extratos na mortalidade das

cortadeiras, quando tratadas por ingestão, indicando que esses extratos foram relativamente tóxicos para as mesmas. Considerando o tempo de sobrevivência média, EGZR apresentou ação retardada em relação aos demais, sendo dessa maneira, considerado o mais promissor para uso futuro.

Entretanto vários outros ensaios serão necessários para efetivar o uso desses extratos em campo, pois um extrato para ser usado em campo na forma de aplicação por isca tóxica deve apresentar como característica a ação preferencialmente por ingestão, ação tóxica retardada, ser letal em baixas concentrações, não causar danos ambientais, ser inodoro e não repelente (Boaretto e Forti 1997).

Em ensaios de ingestão outras espécies vegetais também têm se mostrado com toxicidade às formigas-cortadeiras, tais como *Ipomoea batatas* L. (Hebling et al. 2000), *Ricinus communis* L. (Bigi et al. 2004), *Sesamum indicum* L. (Morini 2005), *Cedrela fissilis* Vell (Bueno et al. 2005), *Helietta puberalla* RE Fr. (Almeida et al. 2007), *Simarouba versicolor* St. Hil. (Peñaflor et al. 2009), *Jatropha curcas* L. e *Ricinus communis* L. (Alonso e Santos 2013). Entretanto, não existe na literatura qualquer relato de toxicidade por ingestão, às formigas-cortadeiras, para nenhuma das espécies estudadas neste trabalho.

C. sylvestris é amplamente utilizada na medicina popular como agente antitumoral (Bolzani et al. 1999) e antiofídico (Borges et al. 2001), vários estudos realizados com essa espécie mostram atividade leishmanicida e tripanomicida (Mesquita et al. 2005). Essa espécie apresenta em sua composição química os diterpenos, compostos com atividade biológica (Oberlies et al. 2002).

De *E. grandiflora* já foram isolados alcaloides (Januário et al. 2009), e também cumarinas que em testes se mostraram tóxicas para o estágio larval do *Aedes aegypti* (Oliveira et al. 2005). A presença destes metabólitos também podem justificar a toxicidade desta espécie as formigas-cortadeiras (Guilhon et al. 1994).

Os extratos da folha e galho de *Z. rhoifolium*, apresentaram toxicidade mediante ambas metodologias testadas. Estudos demonstram a existência de atividade biológica para essa espécie sendo atribuídas propriedades antifúngica, antibacteriana (Silva et al. 2006), antimalárica (Jullian et al. 2006) e efeito antitumoral em óleo volátil (Silva et al. 2007). Os alcaloides nitidina e avicina têm sido descritos como os constituintes farmacologicamente ativos desta espécie (Ferreira et al. 2002, Jullian et al. 2006). Os alcaloides têm sido considerados como promissoras moléculas para o controle de formigas cortadeiras devido aos seus efeitos deletérios a elas, sendo considerado como substâncias responsáveis pela atividade biológica de diversos extratos vegetais (Bigi et al. 2004, Almeida et al. 2007).

Como mencionado, o extrato de *Z. rhoifolium* (galho e folha), apresentou toxicidade por ingestão e aplicação tópica. Essa informação é relevante pois, devido a isto, o mesmo se mostra promissor para futuros estudos visando o seu uso na termonebulização, visto que apresentou toxicidade por ambas metodologias, ou seja, a formiga que não morrer quando em contato com o veneno, morrerá quando for se alimentar, pois fatalmente os fungos das panelas também estarão contaminados pelo produto utilizado na termonebulização (Mendes Filho e Suiter Filho 1970). O EGZR deverá ser usado em estudos futuros visando principalmente sua utilização em iscas tóxicas, uma vez que uma característica importante é que o modo de ação seja preferencialmente por ingestão (Boaretto e Forti 1997). Porém, como esse extrato apresentou atividade por aplicação tópica e ação tóxica retardada por ingestão, futuros estudos serão necessários para elucidar essa questão e não comprometer sua possível utilização.

As espécies de *Z. rhoifolium* e *E. grandiflora*, pertencem à família Rutaceae, esta família é considerada diversa na produção de metabólitos secundários (Jacobson 1989). Outras espécies do gênero Rutaceae, apresentaram toxicidade em formigas-cortadeiras, tais como *Citrus* sp. (Fernandes et al. 2002), *Raulinoa echinata* R.S. Cowen (Biavatti et al. 2005) e *Helietta puberula* R. E. Fr. (Almeida et al. 2007).

5.6. Conclusões

Dentre os extratos que apresentaram diferença significativa em relação ao controle por aplicação tópica, o extrato da folha e do galho de *Zanthoxylum rhoifolium* e da casca de *Simarouba amara*, são os mais promissores para novos estudos, por apresentaram o maior percentual de mortalidade.

Dentre os extratos que apresentaram diferença significativa em relação ao controle pelo método de ingestão o galho de *Z. rhoifolium*, foi o mais promissor por apresentar ação retardada em relação aos demais, sendo o tempo de sobrevivência média de 10 dias.

O extrato da folha e galho de *Z. rhoifolium* foram os únicos que apresentaram toxicidade tanto por contato, quanto por ingestão, indicando ser esta uma espécie promissora para outros estudos, principalmente por ação de contato, devido aos motivos apresentados.

Dos extratos estudados, dois eram de espécies pertencentes a família Rutaceae, e portanto, deve-se considerar a possibilidade de utilizar outras espécies dessa família em testes de toxicidade frente às formigas-cortadeiras.

Observou-se que as espécies que apresentaram toxicidade as formigas, tem em sua constituição alcaloides, retificando assim a informação de que essas substâncias apresentam toxicidade as cortadeiras.

5.7. Referências

- Almeida, R.N.A., M.F.G.V. Peñafior, S.Y. Simote, O.C. Bueno, M.J.A. Hebling, F.C. Pagnocca, J.B. Fernandes, P.C. Vieira, e M.F.G.F. Da Silva. 2007. Toxicity of substances isolated from *Helietta puberula* (Rutaceae) to the leaf-cutting ant *Atta sexdens* (Hymenoptera: Formicidae) and the symbiotic fungus *Leucoagaricus gongylophorus* (Singer) Möller. *BioAssay* 2: 1-8.
- Alonso, E.C. e D.Y.A.C. Santos. 2013. *Ricinus communis* and *Jatropha curcas* (Euphorbiaceae) seed oil toxicity against *Atta sexdens rubropilosa* (Hymenoptera: Formicidae). *J. Econ. Entomol.* 106: 742-746.
- Araújo, M.S., T.M.C., Della-Lucia, M.D. Moreira, e M.C. Picanço. 2008. Toxicidade de extratos hexânicos de plantas às operárias de *Atta laevigata* e *Acromyrmex subterraneus subterraneus* (Formicidae: Attini). *Revista Brasileira de Agrociência.* 14: 106-114.
- Beutler, J.A., K.L Mccall, K. Herbert, D.L. Herald, G.R. Pettit, T. Johnson, R.H. Shoemaker, e M.R. Boyd. 2000. Novel cytotoxic diterpenes from *Casearia arborea*. *J. Nat. Prod.* 63: 657-661.
- Biavatti, M.W., R. Westerlon, P.C. Vieira, M.F.G.F. Silva, J.B. Fernandes, M.F.G.V. Peñafior, O.C. Bueno, e J. Ellena. 2005. Leaf-cutting ants toxicity of limonexic acid and degraded limonoids from *Raulinoa euchinata*. X-ray structure of epoxy-fraxinellone. *J. Braz. Chem. Soc.* 16: 1443-1447.
- Bigi, M.F.M.A., V.L.V. Torkomian, S.T.C.S. Groote, M.J.A. Hebling, O.C. Bueno, F.C. Pagnocca, J.B. Fernandes, P.C. Vieira, e M.F.G.F. da Silva. 2004. Activity of *Ricinus communis* (Euphorbiaceae) and ricinine against the leaf-cutting ant *Atta sexdens rubropilosa* (Hymenoptera: Formicidae) and the symbiotic fungus *Leucoagaricus gongylophorus*. *Pest Manag. Sci.* 60: 933-938.
- Boareto, M.A.C., e L.C. Forti. 1997. *Perspectiva de formigas-cortadeiras.* Instituto de Pesquisas e Estudos Florestais (IPEF). 11: 31-46.
- Bolzani, V.S., M.C.M. Young, M. Furlan, A.J. Cavalheiro, A.R. Araújo, D.H Silva, e M.N. Lopes. 1999. Search for antifungal and anticancer compounds from native plant species of Cerrado and Atlantic Forest. *An. Acad. Bras. Cienc.* 71: 181-187.

- Borges, M.H., A.M. Soares, V.M. Rodrigues, F. Oliveira, A.M. Fransheschi, A. Rucavado, J.R. Giglio, e M.I. Homs-Brandeburgo. 2001. Neutralization of proteases from Bothrops snake venoms by the aqueous extract from *Casearia sylvestris* (Flacourtiaceae). *Toxicon*. 39: 1863-1869.
- Bueno, O.C., M.S.C. Morini, F.C. Pagnocca, M.J.A. Hebling, e A.O. Silva. 1997. Sobrevivência de operárias de *Atta sexdens rubropilosa* Forel (Hymenoptera: Formicidae) isoladas do formigueiro e alimentadas com dietas artificiais. *Anais da Sociedade Entomológica Brasileira*. 26: 107-113.
- Bueno, F.C., M.P. Godoy, A.C. Leite, O.C. Bueno, F.C. Pagnocca, J.B. Fernandes, M.J.A. Hebling, M. Bacci Jr, P.C. Vieira, e M.F.G.F. Silva. 2005. Toxicity of *Cedrela fissilis* to *Atta sexdens* (Hymenoptera: Formicidae) and its symbiotic fungus. *Sociobiology*. 45: 389-99.
- Cruz, J. M., S.B. Nogueira, A.R. Pereira, e B.O. Neuwes. Adaptação de uma motocicleta para termonebulização no controle de formigas saúvas (*Atta* spp.) em áreas reflorestadas de cerrado. *Revista Árvore*, 8: 104-111.
- Delabie, J.H.C., T.C.M. Della Lucia, e L. Pastre. 2000. Protocolo de experimentação para avaliar a atratividade de novas formulações de iscas granuladas utilizadas no controle das formigas cortadeiras *Acromyrmex* spp. e *Atta* spp. (Hymenoptera: Formicidae: Myrmicinae: Attini) no campo. *Anais da Sociedade Entomológica do Brasil*, 29: 843-848.
- Fernandes, J.B., W. David, P.H. Facchini, M.F.G.F. Da Silva, E.R. Filho, P.C. Vieira, M.S. Galhiane, F.C. Pagnocca, O.C. Bueno, M.J.A. Hebling, S.R. Victor, e A.M.R. Dos Santos. 2002. Extrações de óleos de sementes de citros e suas atividades sobre a formiga cortadeira *Atta sexdens* e seu fungo simbiote. *Quim. Nova* 25: 1091-1095.
- Ferreira M.E., A. Rojas De Arias, S.T. Ortiz, A. Inchausti, H. Nakayama, C. Thouvel, R. Hocquemiller, e A. Fournet. 2002. Leishmanicidal activity of two canthin-6-one alkaloids, two major constituents of *Zanthoxylum chiloperone* var. *angustifolium*. *J. of Ethnopharm.* 80: 199-202.
- Fiaschetti, G., M.A. Grotzer, T. Shalaby, D. Castelletti, e A. Arcaro. 2011. Quassinoids: From traditional drugs to new cancer therapeutics. *Curr Med Chem*. 18(3): 316-328.
- Fowler, H.G. 1983. Latitudinal gradients and diversity of the leaf-cutting ants (*Atta* and *Acromyrmex*) (Hymenoptera: Formicidae). *Revista Biológica Tropical*. 31: 213-344.
- Gouvêa, S.M., G.A. Carvalho, M.C. Picanço, E.G.F. Morais, J.S. Benevenuto, e M.D. Moreira. 2010. Lethal and Behavioral Effects of Amazonian Plant Extracts on Leaf-Cutting Ant (Hymenoptera: Formicidae) Workers. *Sociobiology*. 56: 1-13.

- Guilhon, G.S.P., A.C.S. Baetas, J.G.S. Maia, e L.M. Conserva. 1994. 2-alkyl-4-quinolone alkaloids and cinnamic acid derivatives from *Esenbeckia almawillia*. *Phytochemistry*. 37: 1193-1195.
- Hebling, M.J.A., O.C. Bueno, F.C. Pagnocca, A.O. Silva, e P.S. Maroti. 2000. Toxic effects of *Canavalia ensiformis* L. (Leguminosae) on laboratory colonies of *Atta sexdens* L. (Hymenoptera: Formicidae). *J. Appl. Entomol.* 124: 33-35.
- Hubbell, S.P., J.J. Howard, e D.F. Wiemer. 1984. Chemical leaf repellency to an Attini ant: season distribution among potential host plant species. *Ecology*. 65: 1067-1076.
- Jacobson, M. 1989. Botanical pesticides: past, present and future. pp. 1-10. *In* Arnason, J.T., B.J.R. Philogène, e P. Morand. *Insecticides of Plant Origin*. Washington: American Chemical Society.
- Januário, A. H.; M.F.G.F. Silva, e J.B. Fernandes. 2009. Alcalóides β -indolopiridoquinazolínicos de *Esenbeckia grandiflora* MART. (Rutaceae). *Química Nova*, 32:20-34.
- Jullian, V., G. Bourdy, S. Georges, S. Maurel, e M. Sauvain. 2006. Validation of use of a traditional antimalarial remedy from French Guiana, *Zanthoxylum rhoifolium* Lam. *J. of Ethnopharm.* 106: 348-352.
- Laranjeiro, A. J., e J.C. Zanúncio. 1995. Avaliação da Isca à Base de Sulfluramida no Controle de *Atta sexdens rubropilosa* pelo Processo Dosagem Única de Aplicação. Nota Técnica Instituto de Pesquisas e Estudos Florestais nº 48/49, 144:152.
- Loeck, A.E., e D.D. Grützmacher. 2001. Ocorrência de formigas-cortadeiras nas principais regiões agropecuárias do Estado do Rio Grande do Sul. Ed. UFPel. Pelotas, RS.
- Mendes Filho, J.M.A, e Suiter Filho, W. 1979. Combate à formiga na CAF. Instituto de Pesquisas e Estudos Florestais (IPEF), 76: 1-9.
- Mesquita, M.L., J. Desrivot, C. Bories, A. Fournet, J.E. Paula, P. Grellier, e L.S. Espindola. 2005. Antileishmanial and trypanocidal activity of Brazilian Cerrado plants. *Mem Inst Oswaldo Cruz*. 100: 783-787.
- Morini, M.S.C., O.C. Bueno, F.C. Bueno, A.C. Leite, M.J.A. Hebling, F.C. Pagnocca, J.B. Fernandes, P.C. Vieira, e M.F.G.F. Silva. 2005. Toxicity of sesame seed to leaf-cutting ant *Atta sexdens rubropilosa* (Hymenoptera: Formicidae). *Sociobiology* 45: 195-204.
- Oberlies, N.H., J.P. Burgess, H.A. Navarro, R.E. Pinos, C.R. Fairchild, R.W. Peterson, D.D. Soejarto, N.R. Farnsworth, A.D. Kinghorn, M.C. Wani, e M.E. Wall. 2002. Novel bioactive clerodane diterpenoids from the leaves and twigs of *Casearia sylvestris*. *J. Nat. Prod.* 65: 95-99.

- Oliveira, P.E.S., L.L. Conserva, A.C. Brito, e R.P.L. Lemos. 2005. Coumarin derivatives from *Esenbeckia grandiflora* and its larvicidal activity against *Aedes aegypti*. *Pharm. Biol.* 43: 53-57.
- Oliveira V.B, M.S.M. Freitas, L. Mathias, R. Braz-Filho, e I.J.C. Vieira, 2009a. Atividade biológica e alcaloides indólicos do gênero *Aspidosperma* (Apocynaceae): uma revisão. *Revista Brasileira de Plantas Mediciniais.* 11: 92-99.
- Oliveira V.B, I.J.C. Vieira, R. Braz-Filho, L. Mathias, N.P. Lopes, A.E.M. Crotti, e D.E.A. Uchoa. 2009b. Spruceanumines A and B, Novel Plumeran Indole Alkaloids from *Aspidosperma spruceanum* (Apocynaceae). *J. Braz. Chem. Soc.* 20: 753-759.
- Peñaflor, M.F.G.V., R.N.A. Almeida, S.Y. Simote, E. Yamane, E.O.C. Bueno. Hebling, M.J.A., J.B. Fernandes, P.C. Vieira, M.F.G.F. Silva, e F.C. Pagnocca. 2009. Toxicity of substances isolated from *Simarouba versicolor* St. Hil. (Simaroubaceae) to the leaf-cutting ant *Atta sexdens* L. (Hymenoptera: Formicidae) and the symbiotic fungus *Leucoagaricus gongylophorus* (Singer) Möller. *Bioassay* 4: 1.
- Pereira, J.M.M., e G.P. Santos. 2008. Aspectos socioeconômicos do setor florestal brasileiro. *Informe Agropecuário, EPAMIG.* 29: 7-13.
- SAS Institute. 2002. SAS. Stat: users guide. Cary, NC.
- Silva, S.L., P.M.S. Figueredo, e T. Yano. 2006. Antibacterial and antifungal activities of volatile oils from *Zanthoxylum rhoifolium* leaves. *Pharm. Biol.* 44: 657-659.
- Silva, S.L., P.M.S. Figueredo, e T. Yano. 2007. Cytotoxic evaluation of essential oil from *Zanthoxylum rhoifolium* Lam. leaves. *Acta Amaz.* 37: 281-286.
- Souza, A., R. Zanetti, e N. Calegario. 2011. Nível de dano econômico para formigas-cortadeiras em função do índice de produtividade florestal de eucaliptais em uma região de Mata Atlântica. *Neotrop. entomol.* 40: 483-488.
- Tanaka, J.C., Silva, C.C., Oliveira, A.J., Nakamura, C.V., Dias-Filho, B.P. (2006a) Antibacterial activity of indole alkaloids from *Aspidosperma ramiflorum*. *Brazilian Journal of Medical and Urological Research*, 39:387-391.
- Tanaka, J.C.A., Silva, C.C.; Ferreira, I.C.P., Machado, G.M.C., Leon, L. L., Oliveira, A.J.B. (2006b) Antileishmanial activity of indole alkaloids from *Aspidosperma ramiflorum*. *Phytomedicine*, 9 (1):1-4.
- United Nations Treaty Collection. 2009. Stockholm Convention On Persistent Organic Pollutants. Complete URL (<http://treaties.un.org/doc/Publication/CN/2009/CN.524.2009-Eng.pdf>).

Victoria, F.C., M.P. Albuquerque, A.C. Oliveira, e A.E. Loeck. 2011. Marcadores moleculares na taxonomia de Formigas-cortadeiras, pp. 50-67. *In*: T.M.C. Della Lucia, (eds). Formigas-cortadeiras: da bioecologia ao manejo. Editora Folha de Viçosa, Viçosa, MG.

PPGGGBC

Tabela 01 – Mortalidade (%) de operárias de *Atta sexdens* tratadas com os extratos, na concentração de 1 mg.mL⁻¹, por aplicação tópica

Tratamento	Mortalidade (%) acumulada por dia		
	24 horas	48 horas	72 horas
Controle com solvente	0	0	0
Controle sem solvente	0	0	0
EFTB	0	7	20
EFEG	3	3	7
EGTB	0	3	7
EGZR	17	21	37
ERZR	0	7	7
ECEG	7	11	13
ECCS	0	0	7
EFCA	10	18	33
ECSA	7	21	33
EFZR	7	28	37
EGCA	0	0	0
EFCS	0	0	3
ECTB	0	0	3
ECOB	0	3	10
EGOB	0	0	7
EGEA	0	0	7
EFEA	7	10	10
EFAS	3	11	10
EGAS	3	18	37

Tabela 02 – Mortalidade (%) de operárias de *Atta sexdens* alimentadas com os extratos na concentração de 0,2 mg.mL⁻¹

Tratamento	Mortalidade (%) acumulada por dia										S ₅₀ ¹
	1	2	3	6	8	10	14	17	21	25	
Controle	2	4	8	14	16	23	42	56	75	87	15 a
EFZR	2	2	4	30	56	72	86	92	94	94	8 b
EFEG	4	6	22	51	57	71	87	89	94	96	7 b
EFCA	2	4	12	24	30	38	68	78	85	85	12 a
ECCS	4	10	28	48	60	86	92	92	94	98	8 c
ECEG	2	2	8	23	31	42	66	83	85	87	11 a
EFAS	6	6	8	14	22	51	69	78	82	90	11 a
ECSA	0	2	4	14	22	32	50	62	84	94	15 a
EFEA	10	12	12	16	22	52	80	90	92	92	11 a
EGZR	6	16	26	32	34	58	80	86	98	98	10 b

¹ S₅₀= sobrevivência média. Letras após o valor do S₅₀ mostram diferenças significativas de acordo com o “log-rank test” (b = 0,01 < p < 0,05; c = p < 0,01).

Figura 01

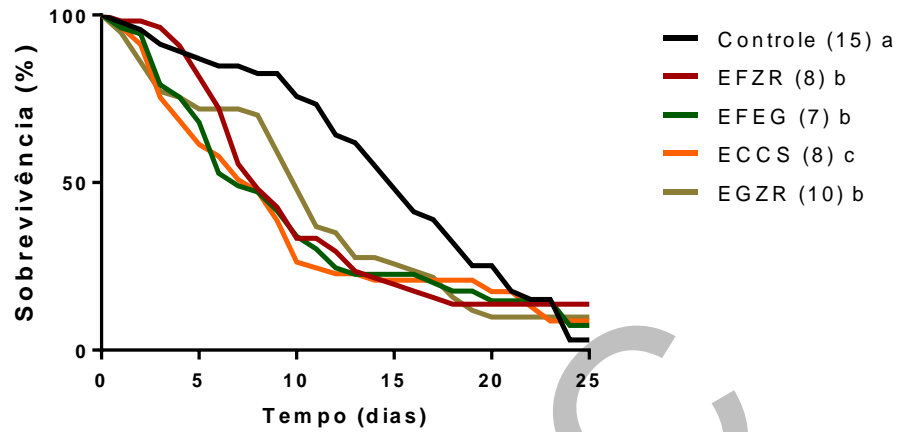


Figura 01: Comparação das curvas de sobrevivência das operárias de *Atta sexdens* no ensaio de ingestão dos diferentes extratos vegetais. O tempo de sobrevivência média (S_{50}) foi colocado ao lado do nome dos extratos, entre parênteses. Diferentes letras minúsculas indicam diferença significativa entre as curvas de sobrevivência (dados obtidos com a aplicação do teste “log-rank”)

6. CAPÍTULO II

Avaliação da toxicidade de extratos de espécies vegetais coletados na Bahia, Brasil, e de substâncias isoladas de *Metrodorea maracasana* para *Ceratitis capitata* (Diptera: Tephritidae)

6.1. Resumo

O objetivo desse trabalho foi avaliar a toxicidade dos extratos das espécies *Aspidosperma spruceanum* Benth. ex Müll. Arg. (folha), *Casearia arborea* (Rich.) Urb. (folha e galho), *Casearia sylvestris* Swartz (folha e casca), *Erythroxylum affine* A. St.-Hil. (folha e galho), *Esenbeckia grandiflora* Mart. (folha e casca), *Simarouba amara* Aubl. (casca), *Tabernaemontana bracteolaris* Mart. Ex Müll. Arg. (folha, casca e galho), *Zanthoxylum rhoifolium* Lam. (folha e galho) e *Metrodorea maracasana* Kaastra (galho e casca), coletadas no estado da Bahia, Brasil, bem como de frações e substâncias de *M. maracasana*, por meio da aplicação em adultos da mosca-do-mediterrâneo, praga conhecida no Brasil devido aos prejuízos econômicos causados na fruticultura. Os resultados indicaram que os extratos, na concentração de 50 mg.mL⁻¹, que causaram mortalidade superior a 30% diferiram do controle e foram, dessa forma, considerados tóxicos à *C. capitata*. Porém, dentre estes, destacaram-se o extrato da folha de *E. affine* e *A. spruceanum*, e casca de *M. maracasana*, com mortalidade superior a 50%, e portanto, foram também avaliados nas concentrações de 1, 10, 30 e 60 mg.mL⁻¹. A análise de regressão indicou influência da concentração na toxicidade desses tratamentos. Nos ensaios realizados frações e substâncias de *M. maracasana* com o intuito de investigar o princípio ativo responsável pela mortalidade desses insetos, verificou-se que dentre as substâncias avaliadas, isodontatina, citrutarina A, e uma fração contendo citrutarina A+dipetalolactona+ isodontatina, apresentaram mortalidade de 100, 97 e 97%, respectivamente, no primeiro dia de avaliação sendo, provavelmente, responsáveis pela atividade inseticida do extrato da casca de *M. maracasana*.

Palavras-chave: *Ceratitis capitata*, extratos vegetais, cumarinas.

6.2. Abstract

The aim of this study was to evaluate the toxicity of extracts from *Aspidosperma spruceanum* Benth. ex Müll. Arg. (leaf), *Casearia arborea* (Rich.) Urb (leaf and stem), *C. sylvestris* Swartz (leaf and bark), *Erythroxylum affine* A. St.- Hil. (leaf and twig), *Esenbeckia grandiflora* Mart. (leaf and bark), *Simarouba amara* Aubl. (bark), *Tabernaemontana bracteolaris* Mart. Ex Müll. Arg. (leaf, bark and twig), *Zanthoxylum rhoifolium* Lam (leaf and twig) and *Metrodorea maracasana* Kaastra (twig and bark), collected in the state of Bahia, Brazil, as well as fractions and substances of *M. maracasana*, by applying adults medfly plague known in Brazil due to the economic damage to fruit trees. Results indicated that the extracts at a concentration of 50 mg.mL⁻¹, which caused higher mortality and 30 % differed from control and were thus considered toxic to *C. capitata*. However, among these stood out the leaf extract of *E. affine* and *A. spruceanum* and peel *M. maracasana*, with more than 50 % mortality, and therefore, were also evaluated at concentrations of 1, 10, 30 and 60 mg.mL⁻¹. Regression analysis indicated the influence of concentration on the toxicity of these treatments. When tested fractions and substances of *M. maracasana* in order to investigate the active principle responsible for the mortality of these insects, it was found that among the evaluated isodontatina, citrusarina, and a fraction containing showed mortality 100, 97 and 97%, respectively, on the first day of assessment is probably responsible for the insecticidal activity of the bark extract of *M. maracasana*.

Keywords: *Ceratitis capitata*, plant extracts, coumarins.

6.3. Introdução

As moscas-das-frutas (Diptera: Tephritidae) pertencentes aos gêneros *Anastrepha* e *Ceratitis* são as pragas mais importantes para a fruticultura brasileira (Zucchi 2000). Os impactos econômicos negativos desses insetos estão associados aos danos diretos causado pelo consumo da polpa pelas larvas, tornando-os impróprios tanto para consumo *in natura* como para a industrialização (Cunha et al. 2000). E também, os danos indiretos, como a contaminação por fungos e bactérias, que provocam o apodrecimento dos frutos atacados (Nascimento et al. 2000).

Ceratitis capitata Wiedemann, conhecida como mosca-do-mediterrâneo, é nativa da região noroeste da África e foi introduzida no Brasil no início do século XX (Zucchi 2001).

Essa mosca é a mais importante do ponto de vista de dano econômico à fruticultura mundial (Malavasi et al. 2000), devido às implicações econômicas causadas aos produtores e exportadores, reduzindo o rendimento das culturas, aumentando os custos de gestão e afetando negativamente o comércio entre os países ou dentro do mesmo país (Siebert et al. 1995). Além disso, há estudos que indicam que essa espécie de mosca afeta a saúde humana pela capacidade de transmitir a bactéria *Escherichia coli* para frutos comerciais (Sela et al. 2005).

Não há no Brasil uma estimativa de danos causados por *C. capitata*, porém os altos índices populacionais dessa espécie, verificados em pomares localizados no semiárido brasileiro, tem dificultado as exportações de frutíferas, a exemplo da manga *in natura*, pois um dos principais requisitos para exportação é que os pomares apresentem índices populacionais de moscas-das-frutas inferior a 1,0 Mosca/Armadilha/Dia (MAD) (Barbosa et al. 2005).

A principal forma de reduzir rapidamente as populações de moscas-das-frutas nos pomares de frutíferas, tem sido a aplicação de inseticida, que pode ser realizada por meio de pulverização em cobertura total, ou aplicação de isca tóxica, à base de melão de cana-de-açúcar ou proteína hidrolisada (Urbaneja et al. 2009).

Embora essa técnica de controle seja efetiva, a utilização indiscriminada de inseticidas no controle desses insetos ocasiona graves desequilíbrios ecológicos, desencadeia o surgimento de populações de outras pragas ao eliminar os inimigos naturais, além de acarretar a contaminação humana e do meio ambiente (Mendes et al. 2007). Além disso, alguns destes produtos podem deixar resíduos tóxicos sobre os frutos, que se tornam prejudiciais para a saúde pública ao serem consumidos como fruta fresca (Tavares 2011).

Associados ao uso de inseticidas, outros métodos de controle são preconizados dentro de um programa mais amplo de manejo da praga, como catação e destruição de frutos caídos no chão, a técnica do inseto estéril e uso de inimigos naturais visando à redução da população de *C. capitata* para níveis economicamente aceitáveis (Tavares 2011). Os programas de manejo integrado de pragas em fruticultura têm incentivado o uso de vários métodos e táticas de controle, principalmente o controle biológico, usado com o intuito de reduzir a densidade populacional das moscas-das-frutas e favorecer o aumento da população de seus inimigos naturais, minimizando os desequilíbrios ecológicos (Carvalho et al. 2000).

A utilização de extratos vegetais também se destaca como importante ferramenta em programas de manejo integrado de pragas, devido à eficiência e a facilidade de obtenção pelos produtores (Martins et al. 1995). Os efeitos inseticidas de determinadas plantas e seus extratos ocorrem principalmente devido à presença de substâncias produzidas pelo metabolismo secundário do vegetal em resposta ao ataque de insetos.

Essas substâncias podem ser encontradas em raízes, caules, folhas, sementes e frutos, dentre as quais destacam-se: limonoides, rotenoides, piretroides, alcaloides e terpenoides, que podem interferir no metabolismo dos insetos, causando repelência, deterrência alimentar e de oviposição, esterilização, bloqueio no metabolismo e interferência no desenvolvimento, podendo, ou não, causar a morte (Medeiros 1990). Esses metabólitos secundários podem atuar também como antibióticos, antifúngicos e antivirais (Li et al. 1993).

O objetivo desse trabalho consistiu em avaliar a toxicidade de extratos de nove espécies vegetais coletadas no estado da Bahia, Brasil, e de frações e substâncias purificadas de *Metrodorea maracasana*, em adultos da mosca-do-mediterrâneo, visando contribuir para ampliar as possibilidades de manejo da praga.

6.4. Material e Métodos

Obtenção do material vegetal e preparo dos extratos. A coleta das espécies vegetais foi realizada em um fragmento de floresta estacional localizado na Fazenda Brejo Novo (13°56'41" S e 40°06' 33.9" W) entre 617 m e 755 m de altitude, a 9 km de Jequié-BA. Foram coletados materiais de nove espécies vegetais como mostrado a seguir: *Aspidosperma spruceanum* Benth. ex Müll. Arg. (folha e galho), *Casearia arborea* (Rich.) Urb. (folha e galho), *Casearia sylvestris* Swartz (folha e casca), *Erythroxyllum affine* A. St.-Hil. (folha), *Esenbeckia grandiflora* Mart. (folha e casca), *Simarouba amara* Aubl. (casca), *Tabernaemontana bracteolaris* Mart. Ex Müll. Arg. (folha e casca), *Zanthoxylum rhoifolium* Lam. (folha, raiz e galho) e *Metrodorea Maracasana* Kaastra (casca e galho). Elas pertencem às seguintes famílias: Apocynaceae (*A. spruceanum*), Salicaceae (*C. arborea* e *C. sylvestris*), Erythroxyllaceae (*E. affine*), Lauraceae (*O. brasiliensis*), Simaroubaceae (*S. amara*) e Rutaceae (*E. grandiflora*, *Z. rhoifolium* e *M. maracasana*). O material vegetal de cada espécie foi secado em estufa a 40 °C por 48 h, e submetido à extração com metanol, a frio, por maceração. O extrato foi filtrado e concentrado sob vácuo, em evaporador rotativo, a 50 °C. As massas dos materiais vegetais secos e dos seus respectivos extratos, bem como, seus rendimentos, encontram-se na Tabela 01. Os extratos foram representados por códigos em letras maiúsculas, nos quais utilizou-se as iniciais dos nomes do solvente utilizado na extração, da parte coletada e da espécie vegetal, como por exemplo: ECSA (extrato da casca de *Simarouba amara*).

Ensaio biológico. As moscas utilizadas neste ensaio foram previamente obtidas de uma criação mantida no Laboratório de Entomologia da Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia, Campus Vitória da Conquista, Bahia, Brasil. Durante o experimento as moscas foram

mantidas a uma temperatura de $25 \pm 2^\circ \text{C}$, e umidade relativa variando entre 70 a 80%, com dieta à base de extrato de levedura (BIONES) e algodão umedecido em água destilada, ambos repostos diariamente.

O ensaio para testar a toxicidade dos extratos vegetais por aplicação tópica nas moscas foi realizado mediante uma adaptação da metodologia utilizada por Siskos et al. (2009). Para testar a toxicidade dos extratos usou-se machos e fêmeas de *Ceratitis capitata*. As moscas-do-mediterrâneo selecionadas tinham idade de dois a três dias. Antes de serem tratadas topicamente com os extratos diluídos em etanol, as moscas foram imobilizadas no freezer, durante 70 segundos. Com os insetos devidamente imobilizados foi realizada a aplicação de $1 \mu\text{L}$ da solução do extrato, em uma concentração definida (ver a seguir), na região dorsal de cada mosca, com o auxílio de uma microsseringa graduada de $10 \mu\text{L}$ (Hamilton, modelo 701N). Após a aplicação elas foram transferidas para recipientes contendo a dieta BIONES e um chumaço de algodão umedecido em água destilada. A observação do número de moscas mortas foi feita durante os quatro dias consecutivos. Eram consideradas mortas aquelas que não se moviam quando foram sutilmente tocadas por uma pinça.

Em todos os ensaios, o controle foi feito simultaneamente e consistiu de um número igual de insetos tratados topicamente com $1 \mu\text{L}$ de etanol, com a presença da dieta e o algodão embebido em água destilada.

Ensaio na concentração de 50 mg.mL^{-1} . Nesta concentração o ensaio foi realizado com 17 tratamentos (ECEG, EFCA, ERZR, EFZR, ECSA, EGCA, ECTB, ECCS, EFTB, EGZR, EFCS, EFAS, EGAS, EFEG, EFEA, EGMM, ECMM, grupo controle com etanol e grupo controle sem etanol), utilizando-se 30 (15 fêmeas e 15 machos) moscas por tratamento. Cada ensaio foi realizado em triplicata, utilizando-se dez moscas-do-mediterrâneo (cinco machos e cinco fêmeas) em cada unidade amostral.

Ensaio nas concentrações de 1, 10, 30 e 60 mg.mL^{-1} . Os mesmos ensaios biológicos foram realizados utilizando um número maior de concentrações para os extratos EFAS, EFEA e ECMM, que foram mais ativos na concentração de 50 mg.mL^{-1} . Nestes ensaios foram realizadas cinco repetições, sendo cada unidade amostral composta por dez moscas (cinco machos e cinco fêmeas) em um mesmo recipiente, totalizando 50 moscas por tratamento.

Ensaio com frações e substâncias isoladas de *Metrodorea maracasana* na concentração de 10 mg.mL^{-1} por inseto. Este ensaio foi realizado com as seguintes frações e substâncias isoladas, com seus respectivos códigos: isodontatina (MM1), citrusarina A (MM2), fração contendo uma mistura de citrusarina A+dipetalolactona+isodontatina (MM3), 5-metoxixantiletina (MM4), nordentatina (MM5), fração contendo uma mistura de 5,8-dimetoxi-

6,7-metilenodioxycumarina (40%) + luvangetina (60%)(MM6), 5-hidroxicantiletina (MM7), 5-metoxianisocumarina B (MM8), fração contendo mistura de isobauerenol + isomultiflorenol (MM9), fração contendo uma mistura de isopimpinlina (60%) + 5,8-dimetoxi-6,7-metilenodioxycumarina (40%) (MM10) e fração contendo uma mistura de bergapteno (50%) + 5,7-dimetoxicumarina (50%) (MM11). No total foram 13 tratamentos, incluindo o grupo controle com etanol e sem etanol. Foram realizadas três repetições por tratamento, com dez moscas (cinco machos e cinco fêmeas) por repetição.

Análise dos dados. Os dados foram analisados considerando-se as taxas de mortalidade corrigida em relação ao controle com etanol, utilizando a fórmula de Schneider-Orelli (1947). Os dados de cada tratamento foram transformados para $\sqrt{x+0,5}$, e submetidos à análise de variância (ANOVA). As médias dos tratamentos foram comparadas pelo teste de Tukey ($p < 0,05$). As porcentagens de mortalidade dos tratamentos de EFEA, EFAS e ECMM, foram analisados em função das concentrações usando-se análise de regressão. O SAS foi o programa utilizado para as análises estatísticas.

6.5. Resultados e Discussões

Os resultados indicaram diferenças significativas entre as médias de mortalidade dos tratamentos, porém não houve influência do sexo na mortalidade. Dessa forma, os dados de mortalidade corrigida (Tabela 02) não leva em consideração essa variável separadamente. Constatou-se que os tratamentos controle sem etanol, ECEG, EFCA, ERZR, EFZR, ECCS, EGCA, EGZR e EGMM, não apresentaram diferença significativa em relação ao controle com etanol, indicando que esses extratos não foram tóxicos às moscas, com variação no percentual de mortalidade desses tratamentos de 0 a 30% (Tabela 02).

O contato de adultos de *C. capitata* com ECSA, EFCS, EFEG, ECTB, EGAS, EFTB, EFAS, ECMM e EFEA causou mortalidade a esses insetos. Todos esses tratamentos apresentam diferença significativa com relação ao controle, sendo, no entanto, iguais estatisticamente entre si. Apesar de serem significativamente iguais de acordo com a análise estatística, ECSA, EFCS, EFEG, ECTB, EGAS, EFTB, EFAS, ECMM e EFEA apresentam percentuais diferenciados de mortalidade corrigida (Tabela 02).

O extrato da casca de *S. amara* (ECSA) apresentou mortalidade de 30%, valor considerado baixo, quando comparado aos demais, porém a análise estatística mostra que o extrato apresentou diferença significativa em relação ao controle, mostrando uma relativa toxicidade. Essa espécie é conhecida pela presença de quassionoides, conhecidos por serem as

mais ativas substâncias usadas na medicina popular, apresentando efeitos inibitórios contra diversos organismos nocivos (Fiaschetti et al. 2011). Estudos com o extrato metanólico da casca, apontam a presença de cumarinas e alcaloides nas mesmas (Moreira et al. 2005).

O extrato da casca de *C. sylvestris* (ECCS) apresentou diferença significativa em relação ao controle, com mortalidade de 32%. Essa espécie é amplamente estudada por ser utilizada na medicina popular, tanto como agente antitumoral e antiofídico (Bolzani et al. 1999; Borges et al. 2001). O gênero *Casearia* é conhecido pela presença de compostos com atividade biológica que são os diterpenos, também chamados de casearinas (Oberlies et al. 2002).

Os extratos da casca e folha de *Tabernaemontana bracteolaris* (ECTB e EFTB) causaram mortalidade de 36 e 40% respectivamente, apresentando também diferença significativa em relação ao controle. Esta espécie é descrita como responsável por atividade antibacteriana e antileishmaniose (Muñoz et al. 1994) e antiofídica e antitumoral (Almeida et al. 2004). Os principais constituintes químicos dos metabólitos secundários do gênero *Tabernaemontana* são os alcaloides indólicos (Fumagali 2008). Segundo Federici et al. (2000) os alcalóides indólicos são uma classe de substâncias com amplo espectro de atividades farmacológicas: desde analgésica até estimulante e depressora do sistema nervoso central (Van Beek et al. 1984) e com função hipotensiva e atividade muscular relaxante (Taesotikul et al. 1998).

O extrato da folha de *E. grandiflora* (EFEG) apresentou diferença em relação ao controle e mortalidade final de 44%. Essa espécie também é conhecida pela presença de alcaloides (Januário et al. 2009), e cumarinas que em testes *in vitro* se mostraram tóxicas para o estágio larval do *Aedes aegypti* (Oliveira et al. 2005).

Os extratos EFAS, EFEA e ECMM causaram maior percentual de mortalidade (56, 64, e 76%, respectivamente), e portanto, para estes, foram realizados os mesmos ensaios em diversas concentrações.

Nos ensaios com diversas concentrações de EFAS, observa-se diferença significativa entre os tratamentos, porém não houve relação significativa entre a mortalidade e o sexo. No ensaio com as diversas concentrações de EFAS, observa-se que o número médio de indivíduos mortos, na concentração de 1 mg.mL⁻¹, não diferenciou-se do controle. Nas concentrações de 10, 30 e 60 mg.mL⁻¹, EFAS causou mortalidade significativa (34, 67 e 69 %, respectivamente) em relação ao controle. Isso confirma a toxicidade desse extrato para a mosca-do-mediterrâneo, sendo assim, necessários outros ensaios biológicos com o intuito de verificar a ação do mesmo no ciclo de vida desta espécie. A análise de regressão revelou que o aumento da concentração influencia no percentual da mortalidade, até a concentração de 30 mg.mL⁻¹, conforme pode ser

verificado na Figura 01. Como não houve diferença significativa entre as concentrações de 30 e 60 mg.mL⁻¹, em novos ensaios biológicos em campo recomenda-se o uso da concentração de 30 mg.mL⁻¹.

Conforme mencionado os extratos testados da espécie de *A. spruceanum* (EGAS e EFAS), apresentaram toxicidade a *C. capitata*. As espécies desse gênero são amplamente utilizadas na medicina popular para o tratamento de várias moléstias que vão desde febre até o câncer (Oliveira et al. 2009a). Esse gênero é conhecido por ser importante fontes de alcaloides, principalmente os indólicos (Oliveira et al. 2009b). Os alcaloides são descritos como substâncias tóxicas a uma gama de microrganismos (Bigi et al. 2004, Almeida et al. 2007).

Com relação ao EFEA, houve influência da aplicação de diferentes concentrações do tratamento na mortalidade porém a diferença de sexo não influenciou na mortalidade. No teste de comparação das médias, EFEA na concentração de 1 mg.mL⁻¹, não diferiu significativamente do controle. As concentrações de 10, 30 e 60 mg.mL⁻¹ obtiveram diferença significativa do controle com o percentual de mortalidade de 42, 53 e 63 %, respectivamente. Essa informação mostra que esse extrato é tóxico para esse inseto desde a concentração de 10 mg.mL⁻¹, merecendo ser alvo de mais estudos, para descobrir qual substância é responsável por essa ação, como também observar a influência desse extrato no ciclo de vida da espécie. Na análise de regressão (Figura 02) também é possível verificar que há influência da concentração no percentual de mortalidade.

O extrato da folha de *E. affine* (EFEA) apresentou toxicidade a mosca-do-mediterrâneo. A espécie utilizada pertence ao gênero *Erythroxyllum*, alvo de diversos estudos fitoquímicos. Os principais metabólitos secundários, presentes no gênero, são: flavonoides, alcaloides, taninos, terpenos, triterpeno, fenilpropanoides, esteroides, lactonas, cumarinas, açúcares redutores e compostos fenólicos. Alguns desses compostos apresentam atividades antioxidantes, anticancerígenas, atividade anti-inflamatória dentre outras (Evans 1981; Ansell et al. 1993; Nakamura 2003; Guevara 2004; Nascimento 2011). Já foi observado a toxicidade pela ingestão de frutos desse gênero em ovinos (Colodel et al. 2003). Entretanto, para *E. affine* nenhum relato sobre sua constituição química foi encontrado na literatura.

É possível que a mortalidade da mosca-do-mediterrâneo nesse tratamento tenha ocorrido principalmente devido à presença dos alcaloides e triterpenos, que são conhecidos por possuírem propriedade inseticida. Entretanto, nenhum estudo químico foi realizado ainda com esta espécie. O papel dos alcaloides, como inseticida, é sustentado pela variedade de efeitos fisiológicos que estes exercem sobre os animais, sendo tóxicos aos insetos e atuando como repelente para herbívoros, e também por suas atividades antimicrobianas (Fumagali, 2008).

No ensaios com as diferentes concentrações de ECMM, observa-se que as concentrações de 30 e 60 mg.mL⁻¹, foram as únicas no qual esse extrato diferiu significativamente do controle, sendo considerada estatisticamente iguais e também apresentou o maior percentual de mortalidade quando comparado ao EFAS e EFEA sendo de aproximadamente 78% (Tabela 06). Os resultados da análise de regressão indicam que houve influência da aplicação de diferentes concentrações do tratamento na mortalidade (Figura 03).

Estudos químicos realizados com casca, raízes, galhos e folhas de *M. maracasana* demonstram que esta espécie é rica em cumarinas, principalmente piranocumarinas. Além das cumarinas foi verificada também a presença de terpenos no extratos dessa espécie (Ferreira et al. 2009; Reis et al. 2010). Segundo Simões et al. 2004, algumas furanocumarinas possuem certa ação tóxica frente a determinados insetos. Entretanto, para piranocumarinas não se tem informações na literatura sobre ação inseticida destas.

Com relação a extratos com ação inseticida para *C. capitata*, diversos relatos são encontrados na literatura. Dentre estes, destacamos ação inseticida dos extratos de *Citrus limonia* Osbeck (Rutaceae) e *Cestrum parqui* (Lam.) L'Hér. (Solanaceae) quando incorporado na dieta de larvas e adultos de *C. capitata* (Salvatore et al. 2004; Zappata et al. 2006), *Melia azedarach* L. (Meliaceae), *Ruta graveolens* L. (Rutaceae), *Zingiber officinales* Roscoe (Zingiberaceae) e *Allium sativum* L. (Alliaceae) que tiveram efeito sobre larvas e pupas de *C. capitata* (Rohde 2013). Os extratos de *Citrus arautium* L. (Rutaceae) e *Melia azedarach* também tiveram atividade biológica em indivíduos adultos de *C. capitata* (Siskos et al. 2009; Rohde 2013).

Em função de diversas substâncias (piranocumarinas, furanocuraminas e triterpenos) já terem sido isoladas da espécie de *M. maracasana*, pelo nosso grupo de pesquisa, foi possível a realização de dos ensaios com estas substâncias e algumas frações semipurificadas com a finalidade de identificar a(s) substância(s) que seria(m) responsável(is) pela toxicidade de ECMM para *C. capitata*. Os resultados (Tabela 04) indicaram que nas primeiras 24 h as substâncias isodontatina e citrusarina A e a mistura contendo citrusarina A+dipetalolactona+isodontatina apresentaram mortalidade de 100, 97 e 97%, respectivamente. Esses dados apontam que essas substâncias (piranocumarinas), são provavelmente responsáveis pela toxicidade dos ECMM a *C. capitata*. Entretanto para conclusão desta hipótese, há a necessidade de realização de outros testes em laboratório e em campo, pois a alta toxicidade dessas substâncias para *C. capitata*, em um período de tempo curto, as classifica com um imenso potencial para uso futuro no controle deste inseto.

Pela análise de variância verificou-se que houve influência dos tratamentos na mortalidade e não houve influência do sexo na mortalidade. Sendo que as substâncias isodontatina, citrutarina A e a mistura de citrutarina A+dipetalolactona+isodontatina foram as únicas que deferiram do controle. Dentre as substâncias isoladas de *M. maracasana*, vale ressaltar que a isodontatina ainda não havia sido descrita na literatura, e portanto, sua fórmula estrutural é apresentada na Figura 04. Os dados completos desta substância encontra-se em fase de publicação.

Outras substâncias naturais também foram responsáveis pela alta mortalidade de larvas das moscas-das-frutas, como por exemplo o linalol, um monoterpene representativo de *Citrus* (Papachristos et al. 2009, Charalampos et al. 2012).

6.6. Conclusões

Não houve influência significativa do sexo na mortalidade das moscas em nenhum dos ensaios biológicos realizados.

Os extratos da folha de *Erythroxylum affine* (EFEA), *Aspidosperma spruceanum* (EFAS) e da casca de *Metrodorea maracasana* (ECMM) mostraram-se os mais ativos para *C. capitata*, sendo destes o ECMM o com maior mortalidade, indicando assim ser uma espécie promissora para mais estudos como alternativa para o controle dessa praga. Os resultados também aponta a importância de realização de estudos químicos com *E. affine*, para uma possível identificação das substâncias bioativas presentes nesta planta.

Apesar do alto percentual de mortalidade das substâncias isodontatina e citrutarina A, novos estudos devem ser feitos para avaliar o efeito destas em condições de cultivo protegido e em campo. Os resultados aqui apresentados contribuem para o início de outras pesquisas para o desenvolvimento de novos produtos naturais biologicamente ativos. Outros estudos deverão realizados com a intenção de avaliar a influência dos extratos mais ativos no ciclo de vida dessa mosca.

6.7. Referências

Almeida L., A.C.O. Cintra, E.L.G. Veronese, A. Nomizo, J.J. Franco, E.C. Arantes, J.R. Giglio, e S.V. Sampaio. 2004. Anticrotalic and antitumoral activities of gel filtration fractions of aqueous extract from *Tabernaemontana catharinensis* (Apocynaceae). *Comp. Biochem. Physiol. Part C*. 137: 19-27.

- Almeida, R.N.A., M.F.G.V. Peñaflores, S.Y. Simote, O.C. Bueno, M.J.A. Hebling, F.C. Pagnocca, J.B. Fernandes, P.C. Vieira, e M.F.G.F. Da Silva. 2007. Toxicity of substances isolated from *Helietta puberula* (Rutaceae) to the leaf-cutting ant *Atta sexdens* (Hymenoptera: Formicidae) and the symbiotic fungus *Leucoagaricus gongylophorus* (Singer) Möller. *BioAssay* 2: 1-8.
- Ansel, S.M., K.H. Pegel, e D.A.H. Taylor. 1993. Diterpenes from the of 20 *Erythroxylum* species. *Phytochem.* 32: 953-959.
- Barbosa, F.R., M.E. Gonçalves, W.A. Moreira, J.A. Alencar, E.A. Souza, C.S.B. Silva, A.M. Souza, e I.G. Miranda. 2005. Artrópodes praga e predadores (Arthropoda) associados à cultura da mangueira no Vale do São Francisco, Nordeste do Brasil. *Neotrop. Entomol.* 34: 471-474.
- Bigi, M.F.M.A., V.L.V. Torkomian, S.T.C.S. Groote, M.J.A. Hebling, O.C. Bueno, F.C. Pagnocca, J.B. Fernandes, P.C. Vieira, e M.F.G.F. da Silva. 2004. Activity of *Ricinus communis* (Euphorbiaceae) and ricinine against the leaf-cutting ant *Atta sexdens rubropilosa* (Hymenoptera: Formicidae) and the symbiotic fungus *Leucoagaricus gongylophorus*. *Pest Manag. Sci.* 60: 933-938.
- Bolzani, V.S., M.C.M. Young, M. Furlan, A.J. Cavalheiro, A.R. Araújo, D.H Silva, e M.N. Lopes. 1999. Search for antifungal and anticancer compounds from native plant species of Cerrado and Atlantic Forest. *Anais da Academia Brasileira de Ciências.* 71: 181-187.
- Borges, M.H., A.M. Soares, V.M. Rodrigues, F. Oliveira, A.M. Fransheschi, A. Rucavado, J.R. Giglio, e M.I. Homs-Brandeburgo. 2001. Neutralization of proteases from Bothrops snake venoms by the aqueous extract from *Casearia sylvestris* (Flacourtiaceae). *Toxicon.* 39: 1863-1869.
- Carvalho, R. Da S., A.S. Nascimento, e W.F.R. Matrangolo. 2000. Controle biológico. pp. 113-117. *In* Malavasi, A. e R.A. Zucchi. (eds.). *Moscas-das-frutas de importância econômica no Brasil: Conhecimento básico e aplicado*. Ribeirão Preto: Holos Editora.
- Coledel, E.M., A.L. Seitz, M. Schmitz, M.R. Borba, D.L. Raymundo, e D. Driemeier. 2004. Intoxicação por *Erythroxylum deciduum* (Erythroxylaceae) em ovinos. *Pesquisas Veterinária Brasileira.* 24:165-168.
- Cunha, M. M. Da., H.P.S. Filho, e A.S. Nascimento. 2000. Manga: fitossanidade: frutas do Brasil. Brasília: Embrapa. 104 p
- Evans, W.C. 1981. The comparative phytochemistry of the genus *Erythroxylum*. *J. Ethnopharmacol.* 3: 265-277.
- Federici E., G. Palazzino, M. Nicoletti, e C. Galeffi. 2000. Antiplasmodial activity of the alkaloids of *Peschiera fuchsiaeifolia*. *Planta Med.* 66: 93-95.

- Ferreira, L.A., J.F.M. Castro, V.F. Paula, L.C.A. Barbosa, e J.C. Nascimento. 2006. Constituintes químicos da raiz e da casca do caule de *Metrodorea maracasana* Kaastra. Sociedade Brasileira de Química (SBQ). 29ª Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Química. 25ª Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Química - SBQ 2 Fortaleza, 2004.
- Fiaschetti, G., M.A. Grotzer, T. Shalaby, D. Castelletti, e A. Arcaro. 2011. Quassinoids: From traditional drugs to new cancer therapeutics. *Curr Med Chem.* 18: 316-328.
- Fumagali, E. R.A.C. Gonçalves, M.F.P.S. Machado, G.J. Vidoti, e A.J.B. Oliveira. 2008. Produção de metabólitos secundários em cultura de células e tecidos de plantas: o exemplo dos gêneros *Tabernaemontana* e *Aspidosperma*. *Revista Brasileira de Farmacognosia*, 18: 627-641.
- Guevara, J.L.G., J.A.L. González, e S.P. Rodríguez. 2004. Fitoquímica e in vitro atividade anti-herpética de quatro *Erythroxylum* espécies. *Acta Farm. Bonaerense.* 23: 506-509.
- Henriques, A.T., R.P. Limberger, V.A. Kerber, e P.R.H. Moreno, P.R.H. 2004. Alcaloides: generalidades e aspectos básicos. pp. 765-92. In: Simões, C.M.O., E.P. Schenkel, G. Gosmann, J.C.P. Mello, L.A. Mentz, e P.R. Perovick. *Farmacognosia: da planta ao medicamento.* 4th ed. Editora da UFSC, Porto Alegre, RS.
- Januário, A. H.; M.F.G.F. Silva, e J.B. Fernandes. 2009. Alcalóides β -indolopiridoquinazolinicos de *Esenbeckia grandiflora* MART. (Rutaceae). *Química Nova*, 32:20-34.
- Li, J., T.M. Ou-Lee, R. Raba, R.G. Amundson, e R.L. Last. 1993. Arabidopsis mutants are hypersensitive to UV-B radiation. *Plant. Cell.* 5: 171-179.
- Malavasi, A., R.A. Zucchi, e R.L. Sugayama. 2000. Biogeografia. pp.41-48. In Malavasi, A., e Z. R.A. Ucchi. (eds.). *Moscas-das-frutas de importância econômica no Brasil – conhecimento básico e aplicado.* Ribeirão Preto: Holos Editora.
- Martins, E.R., D.M. Castro, D.C. Castellani, e J.E. DAS. 1995. *Plantas medicinais.* Viçosa: Imprensa Universitária. 25 p.
- Medeiros, A.R.M. 1990. Alelopatia: importância e suas aplicações. *Horti Sul.* 1: 27-32.
- Mendes, P.C.D., E.J. Ambrosano, N. Guirado, F. Rossi, R.A. Arévalo, e G.A. Groppo. 2007. Avaliação populacional de moscas-das-frutas (Díptera: Tephritidae) e de seus parasitoides larvais (Hymenoptera: Braconidae). *Revista Brasileira de Agroecologia.* 2: 690-693.
- Moreira, V.F., I.J.C. Vieira, L. Mathias, R. Braz-Filho. 2005. Constituintes Químicos de Simarouba amara (Simaroubaceae). Sociedade Brasileira de Química (SBQ) 28ª Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Química. 1p.

- Muñoz, V., C. Moretti, M. Sauvain, C. Caron, A. Porzel, G. Massiot, B. Richard, e L. Le Men-Olivier. 1994. Isolation of Bis-Indole Alkaloids with Antileishmanial and Antibacterial Activities from *Perschiera van heurkii* (Syn.*Tabernaemontana van heurkii*). *Planta Med.* 60: 455-459.
- Nakamura, A.T. 2003. Morfologia e anatomia dos frutos e sementes de três espécies de *Erythroxylum* P. Browne (*Erythroxylaceae*). Dissertação de Mestrado. Instituto de Biociências de Botucatu; Universidade Estadual Paulista, Botucatu.
- Nascimento, A.S., e R.S. Carvalho. 2000. Manejo integrado de mosca-das-frutas. pp. 169-174. In Malavasi, A. e R.A. Zucchi. (eds.). *Moscas-das-frutas de importância econômica no Brasil: Conhecimento básico e aplicado*. Ribeirão Preto: Holos Editora.
- Nascimento, G.C., A.C.S. Menezes, e E.P.P. Lacerda. 2011. Identificação do Flavonóide 7,4'-Dimetoxi-Quercentina-3-O-B-D-Glicopiranosídeo e Avaliação da Atividade Antitumoral dos Frutos. *Revista Processos Químicos.* 5: 45-55.
- Oberlies, N.H., J.P. Burgess, H.A. Navarro, R.E. Pinos, C.R. Fairchild, R.W. Peterson, D.D. Soejarto, N.R. Farnsworth, A.D. Kinghorn, M.C. Wani, e M.E. Wall. 2002. Novel bioactive clerodane diterpenoids from the leaves and twigs of *Casearia sylvestris*. *J. Nat. Prod.* 65: 95-99.
- Oliveira V.B, I.J.C. Vieira, R. Braz-Filho, L. Mathias, N.P. Lopes, A.E.M. Crotti, e D.E.A. Uchoa. 2009b. Spruceanumines A and B, Novel Plumeran Indole Alkaloids from *Aspidosperma spruceanum* (Apocynaceae). *J. Braz. Chem. Soc.* 20: 753-759.
- Oliveira V.B, M.S.M. Freitas, L. Mathias, R. Braz-Filho, e I.J.C. Vieira, 2009a. Atividade biológica e alcaloides indólicos do gênero *Aspidosperma* (Apocynaceae): uma revisão. *Revista Brasileira de Plantas Medicinais.* 11: 92-99.
- Oliveira, P.E.S., L.L. Conserva, A.C. Brito, e R.P.L. Lemos. 2005. Coumarin derivatives from *Esenbeckia grandiflora* and its larvicidal activity against *Aedes aegypti*. *Pharm. Biol.* 43: 53-57.
- Reis, J.S., V.F. Paula, L.A. Ferreira, L.C.A. Barbosa, J.C. Nascimento, e Correia, S.J. 2010. Uma nova piranocumarina isolada das raízes de *Metrodorea maracasana* Kaastra (Rutaceae). Sociedade Brasileira de Química (SBQ) 33a Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Química. 1p.
- Rohde, C., A. Moino Junior, P.K. Silva, e K.R.O. Ramalho. 2013. Efeito de extratos vegetais aquosos sobre a mosca-das-frutas *Ceratitis capitata* (Wiedemann) (Diptera: Tephritidae). *Arquivos do Instituto Biológico.* 80: 407-415.

- Salvatore, A., S. Borkosky, E. Willink, e A. Bardón. 2004. Toxic effects of lemon peel constituents on *Ceratitis capitata*. J. Chem. Ecol. 30: 323-333.
- SAS Institute. 2002. SAS. Stat: users guide. Cary, NC.
- Sela, S., D.N. Estel, P.R. Into, N.E. Emny-Lavy, e B.M. Ar-Joseph. 2005. Mediterranean fruit fly as a potential vector of bacterial pathogens. Appl. Environ. Microbiol. 71: 4052-4056.
- Siebert, J., e T. Cooper, T. 1995. Embargo on California produce would cause revenue, job loss. Calif. Agric. 49: 7-12.
- Schneider-Orelli, O. 1947. Entomologisches praktikum. Aarau: Sauerländer.
- Simões, C.M.O., E.P. Schenkel, G. Gosmann, J.C.P. Mello, L.A. Mentz, e P.R. Perovick. 2002. Farmacognosia: da planta ao medicamento. 4nd ed. Editora da UFSC, Porto Alegre, RS.
- Siskos, E. P., M. A. Konstantopoulou, e B. E. Mazomenos. 2008. Insecticidal activity of *Citrus aurantium* peel extract against *Bactrocera oleae* and *Ceratitis capitata* adults (Diptera:Tephritidae). J. Appl. Entomol. 133: 108-116.
- Taesotikul, T., A. Panthong, D. Kanjanapothi, R. Verpoorte, e J.J.C. Scheffer. 1998. Cardiovascular activity of the crude alkaloidal fraction from *Tabernaemontana pandacaqui* in the rat. J. Ethnopharmacol. 59: 131-137.
- Tavares, L.M. 2011. Contribuição para o Controlo Biológico de *Ceratitis capitata* Wiedemann (Diptera: Tephritidae) – ilha de São Miguel, Açores. Dissertação de mestrado. Universidade dos Açores. Ponta Delgada.
- Urbaneja, A.; P. Chueca, H. Montón, S. Pascual-Ruiz, O. Dembilio, P. Vanaclocha, R. Abad Moyano, T. Pina, e P. Castañera. Chemical alternative to malathion for controlling *Ceratitis capitata* (Diptera: Tephritidae), and their side effects on natural enemies in Spanish *Citrus orchards*. J. of Econ. Entomol. 102: 144: 151.
- Van Beek T.A., R. Verpoorte, A.B. Svendensen, A.M.J. Leeuwewberger, e N.G. Bisset. 1984. *Tabernaemontana* L. (Apocynaceae): A review of its taxonomy, phytochemistry, ethnobotany and pharmacology. J Ethnopharmacol. 10: 1-156.
- Zappata, N., F. Budia, E. Vinuela, e P. Medina. 2006. Insecticidal effects of various concentrations of selected extractions of *Cestrum parquion* adult and immature *Ceratitis capitata*. J. Econ. Entomol. 99: 359-365.
- Zucchi, R.A. 2000. Taxonomia. pp. 13-24. In Malavasi, A. e R.A. Zucchi. (eds.). Moscas-das-frutas de importância econômica no Brasil: Conhecimento básico e aplicado. Ribeirão Preto: Holos Editora.

Zucchi, R.A. 2001. Mosca-do-mediterrâneo, *Ceratitis capitata* (Diptera: Tephritidae). pp.15-22. In Vilela, E.F., R.A. Zucchi, e F. Cantor. (eds.). Histórico impacto das pragas introduzidas no Brasil. Ribeirão Preto: Holos Editora.

PPGGGBC

Tabela 01 – Dados das espécies vegetais coletadas e usadas para preparação dos extratos

Espécie	Parte	Síglas	Massa do Material seco (g)	Massa do Extrato (g)	Rendimento (%)
<i>Aspidosperma spruceanum</i>	Folha	EFAS	54.76	19.16	35
	Galho	EGAS	152.57	8.35	5
<i>Casearia arborea</i>	Folha	EFCA	91.45	29.91	33
	Galho	EGCA	135.79	11.58	9
<i>Casearia sylvestris</i>	Folha	EFCS	91.08	34.77	38
	Casca	ECCS	147.4	19.37	13
<i>Erythroxylum affine</i>	Folha	EFEA	56.5	13.23	23
<i>Esenbeckia grandiflora</i>	Folha	EFEG	79.57	23.45	29
	Casca	ECEG	138.78	18.98	14
<i>Tabernaemontana bracteolaris</i>	Folha	EFTB	81.38	26.54	33
	Casca	ECTB	281.07	32.99	12
<i>Zanthoxylum rhoifolium</i>	Folha	EFZR	117.04	22.16	19
	Galho	EGZR	179.78	19.75	11
	Raiz	ERZR	122.23	14.58	12
<i>Simarouba amara</i>	Casca	ECSA	362.27	13.07	4
<i>Metrodorea maracasana</i>	Galho	EGMM	391.0	30.2	8
	Casca	ECMM	278.10	40.14	14

Tabela 02 – Mortalidade observada para adultos de *C. capitata* após aplicação tópica de extratos vegetais, na concentração de 50 mg.mL⁻¹

Tratamentos	Mortalidade ² (%) 24 horas	Mortalidade (%) 48 horas	Mortalidade (%) 72 horas	Mortalidade (%) 96 horas
Controle (etanol)	0,00	0,00	0,00	0,00
Controle (sem etanol)	0,00	0,00	0,00	0,00
ECEG	0,00	0,00	0,00	0,00
EFCA	6,67	3,45	7,41	0,69
EGMM	3,45	3,45	3,45	3,45
ERZR	10,00	13,79	11,11	4,83
EFZR	10,00	24,14	18,52	12,00
EGZR	0,00	13,79	14,81	17,24
ECSA	26,67	31,03	29,63	29,66
ECCS	3,33	3,94	16,67	31,43
EFCS	26,67	34,48	33,33	33,79
ECTB	23,33	37,93	33,33	35,71
EFTB	20,00	31,03	29,63	40,00
EFEG	3,33	3,45	3,70	44,00
EGAS	40,00	51,72	48,15	46,21
EFAS	23,33	31,03	44,44	56,00
ECMM	37,93	55,17	64,28	64,28
EFEA	43,33	55,17	59,26	76,00
EGCA	13,33	20,69	18,52	21,38

² Mortalidade (%) corrigida pela fórmula de Schneider-Orelli.

Tabela 03 - Mortalidade observada para adultos de *Ceratitis capitata* após aplicação tópica de frações e substâncias isoladas de *M. maracasana* na concentração de 10mg.mL⁻¹

Tratamento	Mortalidade ³ (%) 24 horas	Mortalidade (%) 48 horas	Mortalidade (%) 72 horas	Mortalidade (%) 96 horas
Controle (etanol)	0,0	0,0	0,0	0,0
Controle (sem etanol)	0,0	0,0	0,0	0,0
MM10	0,0	3,3	0,0	0,0
MM6	0,0	0,0	3,3	0,0
MM7	0,0	0,0	0,0	0,0
MM12	0,0	0,0	3,3	0,0
MM4	0,0	0,0	3,3	3,3
MM5	0,0	0,0	0,0	3,3
MM11	0,0	0,0	0,0	3,3
MM8	3,3	0,0	6,6	10,0
MM3	96,7	96,7	96,7	96,7
MM1	96,7	96,7	96,7	96,7
MM2	100	-	-	-

³ A mortalidade (%) corrigida pela fórmula de Schneider-Orelli.

Tabela 04 - Mortalidade observada para adultos de *Ceratitis capitata* nos ensaios com diferentes concentrações do extrato da folha de *A. spruceanum* (EFAS)

Tratamento	Mortalidade ⁴ (%) 24 horas	Mortalidade (%) 48 horas	Mortalidade (%) 72 horas	Mortalidade (%) 96 horas
Controle (etanol)	0,00	0,00	0,00	0,00
EFAS 1 mg.mL ⁻¹	0,00	0,00	0,00	0,00
EFAS 10 mg.mL ⁻¹	8,59	17,09	29,85	34,10
EFAS mg.mL ⁻¹	45,83	58,33	64,58	66,67
EFAS mg.mL ⁻¹	56,25	64,58	66,67	68,75

⁴ A mortalidade (%) corrigida pela fórmula de Schneider-Orelli.

Tabela 05 - Mortalidade observada para adultos de *C. capitata* nos ensaios com diferentes concentrações do extrato da folha de *E. affine* (EFEA)

Tratamento	Mortalidade ⁵	Mortalidade (%)	Mortalidade (%)	Mortalidade (%)
	(%) 24 horas	48 horas	72 horas	96 horas
Controle (etanol)	0,00	0,00	0,00	0,00
EFEA 1 mg.mL ⁻¹	0,00	6,25	8,33	8,33
EFEA 10 mg.mL ⁻¹	25,00	33,33	36,22	42,60
EFEA 30 mg.mL ⁻¹	25,00	43,58	43,58	52,88
EFEA 60 mg.mL ⁻¹	39,58	58,33	64,58	66,67

⁵ A mortalidade (%) corrigida pela fórmula de Schneider-Orelli.

Tabela 06 – Mortalidade observada para adultos de *C. capitata* nos ensaios com diferentes concentrações do extrato da casca de *M. maracasana* (ECMM)

Tratamento	Mortalidade ⁶ (%) 24 horas	Mortalidade (%) 48 horas	Mortalidade (%) 72 horas	Mortalidade (%) 96 horas
Controle (etanol)	0,00	0,00	0,00	0,00
ECMM 1 mg.mL ⁻¹	0,00	0,00	0,00	0,00
ECMM 10 mg.mL ⁻¹	10,42	15,22	20,00	22,22
ECMM 30 mg.mL ⁻¹	47,92	69,57	75,56	77,78
ECMM 60 mg.mL ⁻¹	47,92	71,74	73,33	77,78

⁶ A mortalidade (%) corrigida pela fórmula de Schneider-Orelli.

Figura 01

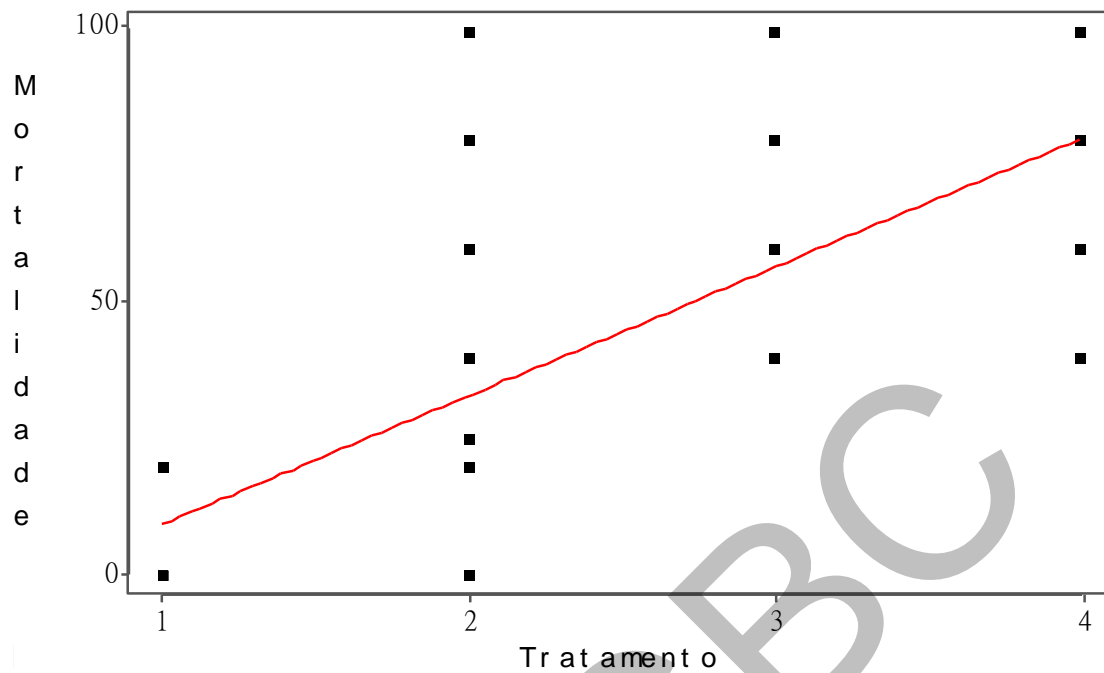


Figura 01 – Gráfico da análise de regressão das diferentes concentrações (1, 10, 30 e 60 mg.mL⁻¹) do extrato da folha de *Aspidosperma sprueanum*, no ensaio de aplicação tópica em *C. capitata*. O eixo x indica as concentrações sendo 1= 1 mg.mL⁻¹, 2 = 10 mg.mL⁻¹, 3= 30 mg.mL⁻¹, e 4=60 mg.mL⁻¹. No eixo y encontra-se o percentual de mortalidade. Equação da regressão: Mortalidade = - 14.750 + 23.5500 Tratamento.

Figura 02

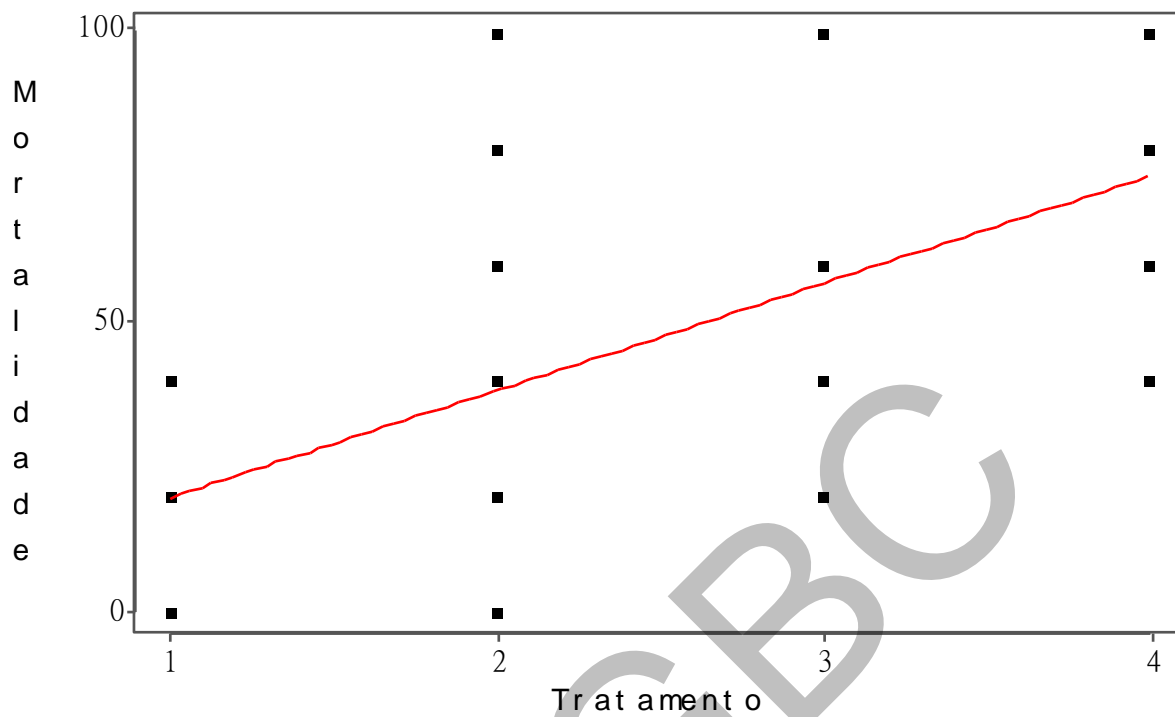


Figura 02 – Gráfico da análise de regressão das diferentes concentrações (1,10, 30 e 60 mg.mL⁻¹) do extrato da folha de *Erythroxylum affine*, no ensaio de aplicação tópica em *C. capitata*. O eixo x indica as concentrações sendo 1= 1 mg.mL⁻¹, 2 = 10 mg.mL⁻¹, 3= 30 mg.mL⁻¹, e 4=60 mg.mL⁻¹. No eixo y encontra-se o percentual de mortalidade. Equação da regressão: Mortalidade = 1.000 + 18.4000 Tratamento.

Figura 03

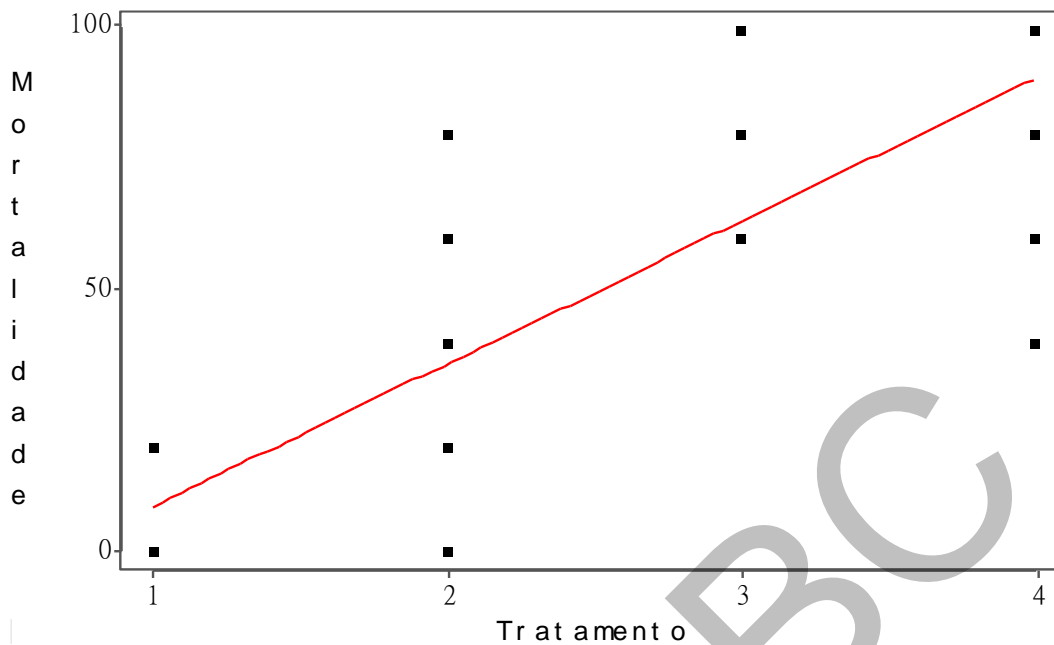


Figura 03 – Gráfico da análise de regressão das diferentes concentrações (1,10, 30 e 60 mg.mL⁻¹) do extrato da casca de *Metrodorea maracasana*, no ensaio de aplicação tópica em *C. capitata*. O eixo x indica as concentrações sendo 1= 1 mg.mL⁻¹, 2 = 10 mg.mL⁻¹, 3= 30 mg.mL⁻¹, e 4=60 mg.mL⁻¹. No eixo y encontra-se o percentual de mortalidade. Equação da regressão: Mortalidade = - 19.000 + 27.2000 Tratamento.

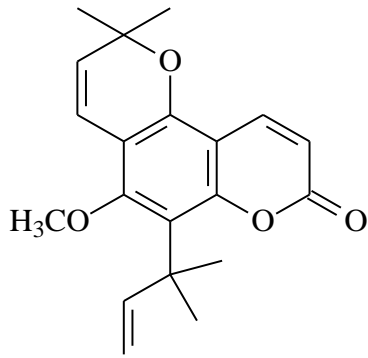
Figura 04

Figura 04 - Fórmula estrutural da cumarina isodontatina, isolada de *Metrodorea maracasana*.

PPGGGBC

7. Conclusões Gerais

Os resultados dos ensaios biológicos com as espécies vegetais do semiárido baiano, apontam a existência de espécies vegetais com potencial atividade inseticida para *Atta sexdens* e *Ceratitis capitata*, e a necessidade de realizar outros estudos com a intenção de avaliar a influência dos extratos mais ativos nesses insetos, para verificar a viabilidade de aplicação desses extratos em campo.

Nas formigas-cortadeiras os extratos que apresentaram toxicidade, têm em sua constituição alcaloides, mostrando que essas substâncias apresentam toxicidade as cortadeiras.

Na mosca-do-mediterrâneo o extrato de *Metrodorea maracasana* (ECMM) mostrou-se o mais ativo para *C. capitata*. Substâncias (isodontatina e citrusarina A) isoladas de *M. maracasana* apresentaram alto percentual de mortalidade às moscas, e por isso, novos estudos devem ser feitos para avaliar o efeito destas em condições de cultivo protegido e em campo.

Os resultados desse trabalho contribuem para o início de outras pesquisas para o desenvolvimento de novos produtos naturais biologicamente ativos.