

WAGNER CALIXTO DE CASTRO MORAIS

**EXTRATOS BOTÂNICOS E SEUS EFEITOS EM *Atta sexdens rubropilosa*
(HYMENOPTERA: FORMICIDAE)**

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Viçosa, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Entomologia, para obtenção do título de *Magister Scientiae*.

VIÇOSA
MINAS GERAIS – BRASIL
2012

**Ficha catalográfica preparada pela Seção de Catalogação e
Classificação da Biblioteca Central da UFV**

T

M827e
2012

Morais, Wagner Calixto de Castro, 1984-
Extratos botânicos e seus efeitos em
Atta sexdens rubropilosa (Hymenoptera: Formicidae) /
Wagner Calixto de Castro Moraes. – Viçosa, MG, 2012.
xi, 43f. : il. ; 29cm.

Orientador: Terezinha Maria Castro Della Lucia
Dissertação (mestrado) - Universidade Federal de Viçosa.
Inclui bibliografia.

1. Formiga-cortadeira. 2. Inseticidas vegetais.
I. Universidade Federal de Viçosa. II. Título.

CDD 22. ed. 595.796

WAGNER CALIXTO DE CASTRO MORAIS

**EXTRATOS BOTÂNICOS E SEUS EFEITOS EM *Atta sexdens rubropilosa*
(HYMENOPTERA: FORMICIDAE)**

Dissertação apresentada à
Universidade Federal de Viçosa, como
parte das exigências do Programa de
Pós-Graduação em Entomologia, para
obtenção do título de *Magister
Scientiae*.

APROVADA: 25 de julho de 2012.

Prof. Marcos Antonio Lima Bragança

Prof. Marco Antônio de Oliveira

Prof^a. Maria Augusta Lima Siqueira

(Coorientadora)

Prof^a. Terezinha Maria Castro Della Lucia

(Orientadora)

*Dedico esse trabalho aos meus pais Joaquim e Ana,
às minhas irmãs Juliana e Thais,
e a minha linda Ludimila
por todo apoio e carinho dado durante todos esses anos,
ao meu filho Victor, que enche minha vida de alegria
e a Deus por me manter firme nessa jornada.*

*“As atitudes são mais importantes que os fatos.
Qualquer fato que enfrentamos, por mais penoso
que seja, mesmo que pareça irremediável, não será
tão importante como nossas atitudes para com ele”.*

AGRADECIMENTOS

Aos meus pais, Joaquim e Ana e minhas irmãs Juliana e Thais, por estarem sempre ao meu lado, apoiando minhas escolhas.

Aos meus sogros Vicente e Elisa e minhas cunhadas Kamila e Rosi, pelo apoio incondicional.

À minha linda Ludimila, que sempre esteve do meu lado, me dando carinho nos momentos que mais precisei.

Ao meu lindo filho Victor, que renova minhas energias todos os dias e me recebe com seu lindo sorriso, sempre que volto pra casa.

À minha orientadora, professora Terezinha Della Lúcia, por acreditar em mim e tornar possível a realização deste trabalho.

Aos “operários” da colônia Laboratório de Formigas-Cortadeiras, Rômulo, Joel, Bressane, Karina, Vanessa e Laila, pela cooperação.

Ao querido “Seu Manuel”, pela amizade, disposição e imensa ajuda prestada.

À Dra. Myriam Ribeiro pela valiosa colaboração em todas as etapas deste trabalho.

Aos professores do Departamento de Entomologia e do Departamento de Engenharia Florestal, em especial aos professores Hélio Garcia Leite e Herly Teixeira Dias, pela amizade e disposição em ajudar, sempre que precisei.

Aos estudantes e pesquisadores do Laboratório de Manejo Integrado de Pragas, em especial ao Mateus Chediak, e do Laboratório de Toxicologia Inseticida, pelo auxílio prestado.

Aos colegas da Casa dos Cupins, em especial à Dra. Carolina Rocha.

Aos amigos Pedro Lemes e Ancidérítton.

Aos meus amigos Ricardo, Henrique, Rafael, Daniel, Diego, Tejoca, José, Said, Saulo e Renan por todos esses anos de amizade.

Aos amigos da equipe de Volei da LUVE e do São José Esporte Clube, que há muito tempo aguentam esse teimoso perna-de-pau.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), pela bolsa de estudos fornecida durante a execução dessa obra.

À Deus por me manter firme nessa caminhada, renovando minha fé e esperança a cada dia.

A todos que de alguma forma, direta ou indireta, tenham participado desse trabalho, ou me ajudado durante todo esse período.

À todos eles e à Ele, o meu

Muito Obrigado!

BIOGRAFIA

WAGNER CALIXTO DE CASTRO MORAIS, filho de Joaquim Calixto Morais e Ana do Carmo Castro Morais. Nasceu no dia nove de outubro de 1984, em Viçosa-MG.

Concluiu o ensino médio no Colégio Equipe de Viçosa, em 2002. No ano seguinte, ingressou na Universidade Federal de Viçosa, onde se graduou em Engenharia Florestal, no ano de 2009.

Durante a graduação, estagiou Propriedades Físicas e Mecânicas da Madeira e em Manejo de Pragas Florestais. Foi membro da equipe de voleibol da Luve (Associação Atlética Acadêmica).

Em agosto de 2010 iniciou o curso de Mestrado em Entomologia, também pela Universidade Federal de Viçosa onde, em 26 de julho de 2012, submeteu-se à defesa desta dissertação.

SUMÁRIO

| | |
|---|-------------|
| RESUMO | viii |
| ABSTRACT | x |
| INTRODUÇÃO GERAL | 1 |
| REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS | 5 |
| CAPÍTULO 1: Avaliação da resposta imune e do metabolismo respiratório de operárias de <i>Atta sexdens rubropilosa</i> (hymenoptera: formicidae) sob aplicação tópica de extratos botânicos | 7 |
| RESUMO | 7 |
| 1. INTRODUÇÃO | 9 |
| 2. MATERIAL E MÉTODOS | 12 |
| 2.1. MANUTENÇÃO DAS COLÔNIAS DE <i>Atta sexdens rubropilosa</i> | 12 |
| 2.2. PREPARAÇÃO DOS EXTRATOS DE PLANTAS | 13 |
| 2.3. DETERMINAÇÃO DA TAXA DE ENCAPSULAÇÃO | 13 |
| 2.4. ENSAIO DE RESPIROMETRIA | 14 |
| 3. RESULTADOS E DISCUSSÃO | 16 |
| REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS | 23 |
| CAPÍTULO 2: Efeito de extratos botânicos no desenvolvimento do fungo simbionte das formigas-cortadeiras | 26 |
| RESUMO | 26 |
| 1. INTRODUÇÃO | 28 |

| | |
|--|-----------|
| 2. MATERIAL E MÉTODOS | 31 |
| 2.1. PREPARAÇÃO DOS EXTRATOS DE PLANTAS | 31 |
| 2.2. APLICAÇÃO EM MEIO DE CULTURA DO FUNGO | 31 |
| 3. RESULTADOS E DISCUSSÃO | 33 |
| REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS | 39 |
| CONCLUSÕES GERAIS | 43 |

RESUMO

MORAIS, Wagner Calixto de Castro, M.Sc., Universidade Federal de Viçosa, julho de 2012. **Extratos botânicos e seus efeitos em *Atta sexdens rubropilosa* (Hymenoptera: Formicidae)**. Orientadora: Terezinha Maria de Castro Della Lucia. Coorientadora: Maria Augusta Lima Siqueira.

Este estudo foi desenvolvido a fim de se conhecer os efeitos de extratos de três espécies vegetais sobre colônias da formiga-cortadeira *Atta sexdens rubropilosa* (saúva-limão). Foram usadas folhas das espécies *Ageratum conyzoides* (mentrasto), *Coriandrum sativum* (coentro) e *Mentha piperita* (hortelã). As atividades foram realizadas no campus da Universidade Federal de Viçosa, na cidade de Viçosa-MG. Primeiramente, foram avaliados os efeitos do extrato hexânico dessas plantas na fisiologia das operárias da formiga-cortadeira, através de sua resposta imune e de seu metabolismo respiratório. Os extratos de coentro e mentrasto apresentaram efeito na fisiologia das formigas. As operárias tiveram elevação de sua resposta imune, quando tratadas com o extrato de coentro. O extrato de mentrasto aumentou o metabolismo respiratório das formigas. Em outra etapa, foi investigado o efeito do extrato dessas plantas sobre o desenvolvimento de *Leucoagaricus gongylophorus*, o fungo simbiote das cortadeiras. Constatou-se que

os três extratos afetaram negativamente o crescimento do fungo, causando completa inibição do seu desenvolvimento. Os melhores desempenhos foram obtidos com os extratos de hortelã e de mentrasto, que mesmo nas menores concentrações causaram elevada redução na biomassa de *L. gongylophorus*. Finalmente, foi avaliada a mortalidade de formigueiros de saúva-limão após oferecimento de iscas confeccionadas a base de folhas das três espécies de plantas. Os resultados indicaram que as iscas não foram capazes de causar mortalidade das colônias. Entretanto, verificou-se que os formigueiros tratados tiveram sua atividade de corte paralisada, indicando efeito das iscas sobre as colônias. Conclui-se, assim, que as espécies *A. conyzoides*, *C. sativum* e *M. piperita* apresentam efeitos deletérios sobre as colônias de *A. sexdens rubropilosa*, sendo promissoras no controle de formigas-cortadeiras.

ABSTRACT

MORAIS, Wagner Calixto de Castro, M.Sc., Universidade Federal de Viçosa, July, 2012. **Botanical extracts and its effects on *Atta sexdens rubropilosa* (Hymenoptera: Formicidae)**. Advisor: Terezinha Maria de Castro Della Lucia. Co-advisor: Maria Augusta Lima Siqueira.

The present study was developed in order to evaluate the effects of three plant species extracts on the leaf-cutting ant *Atta sexdens rubropilosa* colonies. We used leaves of *Ageratum conyzoides* (“mentrasto”), *Coriandrum sativum* (coriander) and *Mentha piperita* (peppermint) species. The activities were conducted at the Federal University of Viçosa campus, in Viçosa-MG. First, we evaluated the effects of these plant extracts on workers physiology, through the immune response and respiratory metabolism. The extracts of coriander and “mentrasto” had an effect on the ants physiology. The workers increased their immune response when treated with the coriander extract. The “mentrasto” extract increased the respiratory metabolism of the ants. In another step, we investigated the effect of the extracts on the development of *Leucoagaricus gongylophorus*, the symbiotic fungus of leaf-cutting ants. It was found that the three

extracts adversely affected the fungus growth causing complete inhibition of its development. The best performances were obtained with peppermint and “mentrasto” extracts that caused high reduction in the biomass of *L. gongylophorus* even at lower concentrations. Finally, we evaluated the mortality of ant nests after offering baits manufactured with leaves of the three plant species. The results indicated that the baits were unable to cause colony mortality. However, it was found that the treated nests stopped their cutting activity, suggesting baits’ effect on the colonies. Therefore *A. conyzoides*, *C. sativum* and *M. piperita* have deleterious effects on *Atta sexdens rubropilosa* colonies, and may be promising on the leaf-cutting ants control.

INTRODUÇÃO GERAL

O setor florestal possui grande importância na economia brasileira, tendo, historicamente, contribuído para o superávit da balança comercial. O PIB Florestal brasileiro correspondeu a 4% do PIB nacional e 8% das exportações, totalizando US\$ 30 bilhões, no ano de 2007. O recolhimento anual de impostos no âmbito florestal é da ordem de R\$ 3 bilhões (Revista da Madeira, 2007). Além da riqueza gerada, o setor também é responsável pela criação de milhões de empregos, diretos e indiretos (Juvenal & Mattos 2002), representando um setor-chave na economia brasileira (Soares *et al* 2008).

O Brasil possui uma das maiores áreas de plantios florestais do mundo, estando entre as dez maiores coberturas florestais do planeta. Em 2011, a área total de plantios florestais no país superou os sete milhões de hectares, sendo que 93% desta cobertura é composta por plantios de *Eucalyptus* e *Pinus* (ABRAF 2012). As características edafoclimáticas encontradas no Brasil, aliadas aos avanços nas técnicas silviculturais favorecem o desenvolvimento florestal, conferindo grande produtividade aos plantios,

fazendo com que o Brasil seja o líder mundial em produtividade florestal (Juvenal & Mattos 2002, Munhoz 2011).

A produtividade florestal é influenciada por fatores bióticos e abióticos, dentre os quais pode-se citar a qualidade do material genético utilizado, as características climáticas locais, a fertilidade do solo, o espaçamento entre as árvores, a ocorrência de doenças e de pragas, sendo, este último, considerado um fator limitante na produção florestal, porque reduz o potencial produtivo das árvores (Mendes Filho 1981).

Os principais grupos de pragas de essências florestais no Brasil pertencem às ordens Coleoptera, Hymenoptera, Isoptera e Lepidoptera, onde as formigas-cortadeiras (Hymenoptera: Formicidae) assumem lugar de destaque, sendo consideradas as pragas mais importantes da silvicultura nacional (Holt & Lepage 2000, Santos *et al* 2000, Oliveira *et al* 2001, Della Lucia & Souza 2011). Isso se deve ao fato de as cortadeiras desfolharem com grande voracidade os plantios florestais, em qualquer fase de seu desenvolvimento, apresentarem ocorrência constante e ampla distribuição geográfica, de norte a sul, no Brasil (Mariconi 1970, Anjos *et al* 2007).

O controle das formigas-cortadeiras em escala comercial é realizado, basicamente, através da aplicação de iscas granuladas (Boaretto & Forti 1997, Zanetti 2007). As iscas são confeccionadas com os inseticidas Clorpirifós, Fipronil e Sulfluramida (Rizental *et al* 2003). Contudo, intensas pesquisas têm sido realizadas, a fim de se encontrar novas substâncias que sejam efetivas no controle destas pragas e que sejam menos agressivas ao ambiente (Oliveira *et al* 2011), principalmente porque esses três princípios ativos utilizados no controle das cortadeiras serão proibidos, pelo menos para as empresas que visem obter o selo de certificação florestal. O conselho de manejo florestal, *Forest Stewardship Council* (FSC), a principal certificadora mundial de

produtos de origem florestal, classificou esses inseticidas como “Pesticidas altamente tóxicos” (FSC 2007) e seu uso será proibido para as empresas certificadas (FSC 2010). Os grandes consumidores de produtos florestais exigem que seus fornecedores sejam certificados (Juvenal & Mattos 2002). Assim, esses princípios ativos deverão ser substituídos por novas substâncias menos danosas ao meio.

Nesta perspectiva, o uso de plantas com propriedades inseticidas vem sendo pesquisado para emprego no controle das formigas-cortadeiras (Souza *et al* 2011, Gandra *et al* 2011). Compostos químicos constituintes do metabolismo secundário de algumas plantas possuem comprovada ação tóxica contra as cortadeiras. Espécies como *Sesamum indicum* (Hebling-Beraldo *et al* 1991) e *Ipomoea batatas* (Hebling *et al* 2000), apresentaram efeitos deletérios a colônias de formigas-cortadeiras. As espécies *Ageratum conyzoides* (Asteraceae), conhecida popularmente como mentrasto ou erva-de-são-joão, *Coriandrum sativum* (Apiaceae), conhecida como coentro e, *Mentha piperita* (Lamiaceae), popularmente, hortelã, são plantas com propriedades medicinais amplamente difundidas na cultura brasileira e, de acordo com Guerra (1985), apresentam repelência contra insetos. Além disso, são espécies que possuem comprovada ação deletéria sobre insetos e microrganismos (Ansari *et al* 2000, Moreira 2001, Okunade 2002, Saeed & Tarig 2007, Matasyoh *et al* 2009, Nogueira 2009), sendo vegetais com potencial de utilização no controle de formigas-cortadeiras (Dra. Myriam Ribeiro, comunicação pessoal). Entretanto, maiores investimentos devem ser realizados a fim de se aumentar o conhecimento acerca da toxicidade dessas plantas sobre esses insetos, visando sua utilização no manejo integrado dessas pragas.

Este trabalho foi dividido em três capítulos. No primeiro, visou-se avaliar os efeitos de extratos botânicos de *A. conyzoides*, *C. sativum* e *M. piperita* na imunocompetência e no metabolismo respiratório de operárias de *Atta sexdens*

rubropilosa (Hymenoptera: Formicidae). No segundo capítulo objetivou-se determinar os efeitos tóxicos de extratos dessas plantas sobre *Leucoagaricus gongylophorus*, o fungo simbiote das formigas-cortadeiras. No terceiro capítulo, procurou-se verificar o efeito de iscas artesanais confeccionadas com folhas desses vegetais sobre colônias de cortadeiras, no campo.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ANJOS, N., DELLA LUCIA, T.M.C.; MAYHÉ-NUNES, A.J. **Guia prático sobre formigas cortadeiras em reflorestamentos**. 2 ed. Ponte Nova: Graff cor, 97p. 2007.

ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE FLORESTAS PLANTADAS. **Anuário estatístico da ABRAF 2012 ano base 2011**. ABRAF. Brasília, 150 p. 2012.

BOARETTO, M.A.C.; FORTI, L.C. Perspectivas no controle de formigas cortadeiras. **Série Técnica IPEF**, v. 11, n. 30, p. 31-46. 1997.

DELLA LUCIA, T.M.C.; SOUZA, D.J. Importância e história de vida das formigas-cortadeiras. In: DELLA LUCIA, T.M.C. (Ed.). **Formigas-cortadeiras: da bioecologia ao manejo**. Viçosa: Ed. UFV. 421p. 2011.

FOREST STEWARDSHIP COUNCIL. FSC-GUI-30-001. Pesticide Policy: Guidance on Implementation. 2007

FOREST STEWARDSHIP COUNCIL. FSC-GUI-30-001a V1-0 EN. Approved derogations for use of 'highly hazardous' pesticides. 2010.

GANDRA, L.C.; RIBEIRO, M.M.R.; DELLA LUCIA, T.M.C.; GUEDES, R.N.C. Mortality and respiratory rate of *Atta bisphaerica* ant workers (Hymenoptera: Formicidae) after application of a plant (*Ageratum conyzoides*) extract. **Sociobiology**, v. 57, n. 3, p. 487-494. 2011.

HEBLING-BERALDO, M.J.A.; BUENO, O.C.; ALMEIDA, R.E.; SILVA, O.A.; PAGNOCCA, F.C. Influência do tratamento com folhas de *Sesamum indicum* sobre o metabolismo de *Atta sexdens rubropilosa* Forel, 1908 (Hymenoptera: Formicidae). **Anais da Sociedade Entomológica do Brasil**, v. 20, n. 1, p. 27-33. 1991.

HEBLING, M.J.A.; BUENO, O.C.; MAROTI, P.S.; PAGNOCCA, F.C.; SILVA, O. A. Effects of leaves of *Ipomoea batatas* (Convolvulaceae) on nest development and on respiratory metabolism of leaf-cutting ants *Atta sexdens* L. (Hym., Formicidae). **Journal of Applied Entomology**, v. 124, p.249-252. 2000.

HOLT, J.A.; LEPAGE, M. Termites and soil properties. In: ABE, T.; BIGNELL, D.E.; HIGASHI, M. (Ed.). Termites: evolution, sociality, symbiosis, ecology. Dordrecht: Kluwer Academic. p.389-407. 2000.

JUVENAL, T.L.; MATTOS, R.L.G. o setor florestal no Brasil e a importância do reflorestamento. **BNDES Setorial**, n. 16, p. 3-30. 2002.

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

MENDES FILHO, J.M.A. Ação danosa de pragas desfolhadoras sobre as florestas de *Eucalyptus*. **IPEF**. Circular Técnica n. 131.1981.

MUNHOZ, J.S.B. Caracterização da produtividade florestal e dos padrões de crescimento de *Pinus taeda* L. no sul do Brasil através de análise de tronco. Dissertação (Mestrado em Ciências). Universidade de São Paulo. Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”. 116p. 2011.

OLIVEIRA, H.G.; ZANUNCIO, T.V.; ZANUNCIO, J.C.; SANTOS, G.P. Coleópteros associados à eucaliptocultura na região de Nova Era, Minas Gerais, Brasil. **Floresta e Ambiente**, v. 8, n.1, p.52-60. 2001.

OLIVEIRA, M.A.; ARAÚJO, M.S.; MARINHO, C.G.S.; RIBEIRO, M.M.R.; DELLA LUCIA, T.M.C. Manejo de formigas-cortadeiras. In: DELLA LUCIA, T.M.C. (Ed.). **Formigas-cortadeiras: da bioecologia ao manejo**. Viçosa: Ed. UFV. 421p. 2011.

REVISTA DA MADEIRA. n.109, ano 18. Editora Lettech. Dezembro de 2007.

RIZENTAL, M.S.; ZANETTI, R., SOUZA-SILVA, A.; MENDONÇA, L.A.; MATTOS, J.O.S.; ZANUNCIO, J.C. Eficiência de produtos termonebulígenos no controle de *Atta laevigata* em reflorestamento. **Anais.. XVI Simpósio de Mirmecologia**, Florianópolis. p. 523. 2003.

SANTOS, G.P.; ZANUNCIO, T.V.; ZANUNCIO, J.C. Desenvolvimento de *Thyrinteina arnobia* Stoll (Lepidoptera: Geometridae) em folhas de *Eucalyptus urophylla* e *Psidium guajava*. **Anais da Sociedade Entomológica do Brasil**, v. 29, n. 1. 2000.

SOARES, N.S.; SOUZA, E.P. SILVA, M.L. Importância do setor florestal para a economia brasileira. **Anais.. XLVI Congresso da Sociedade Brasileira de Economia, Administração e Sociologia Rural**. Rio Branco, Acre. 20 a 23 de Julho de 2008.

SOUZA, M.D.; PERES FILHO, O.; DORVAL, A. Efeito de extratos naturais de folhas vegetais em *Leucoagaricus gongylophorus* (Möller) Singer, (Agaricales: Agaricaceae). **Ambiência Guarapuava**, v. 7, n. 3, p. 461-471. 2011.

ZANETTI, R. Monitoramento de formigas cortadeiras (Hymenoptera: Formicidae) em florestas cultivadas. **O biológico**, v. 69, n. 2, p. 129-131. 2007.

CAPÍTULO 1: Extratos botânicos alteram a resposta imune e o metabolismo respiratório de operárias de *Atta sexdens rubropilosa* (Hymenoptera: Formicidae)

RESUMO

As formigas-cortadeiras são um grupo de pragas de grande importância agrícola e florestal no Brasil, elas ocorrem em todo o território nacional, explorando variados ambientes, sendo, assim constantemente expostas a infecções causadas por patógenos e outros parasitas. O sucesso na exploração desses ambientes se deve, entre outros fatores, pelo seu complexo sistema interno de defesa, que atua na proteção contra os organismos invasores. Algumas plantas com propriedades inseticidas apresentam comprovada ação deletéria na fisiologia de formigas-cortadeiras, como alterações em seu metabolismo respiratório. Não se conhece, entretanto, os efeitos que essas plantas têm sobre o sistema imune desses insetos. Portanto, objetivou-se com este trabalho avaliar os efeitos de extratos botânicos de *Ageratum conyzoides*, *Coriandrum sativum* e *Mentha piperita* na imunocompetência e no metabolismo respiratório de operárias de *Atta sexdens*

rubropilosa. Para isso, extratos foliares dessas plantas foram aplicados topicamente em operárias de colônias mantidas em laboratório. A imunocompetência foi avaliada pela taxa de melanização de filamento de nylon inserido no tórax das operárias. Já o metabolismo respiratório foi investigado pela mensuração da produção de dióxido de carbono pelas formigas. O extrato de *C. sativum* elevou a resposta imune das operárias, enquanto os extratos de *A. conyzoides* e *M. piperita* não afetaram sua imunocompetência. A produção de dióxido de carbono foi superior nas operárias tratadas com o extrato de *A. conyzoides*. Os extratos de *C. sativum* e *M. piperita* não afetaram o metabolismo respiratório das operárias. Diante do exposto, conclui-se que os extratos de *C. sativum* e *A. conyzoides* alteraram a fisiologia de operárias de *A. sexdens rubropilosa*.

1. INTRODUÇÃO

Os insetos estão constantemente expostos a infecções causadas por microrganismos e outros parasitas, o que pode causar perdas de vigor e redução nas atividades e, em último caso, a sua mortalidade (Dunn 1986). Na tentativa de atenuar os malefícios causados por esses organismos patogênicos, os insetos, em sua evolução, desenvolveram um complexo e eficiente sistema interno de defesa, conhecido como sistema imune inato, no qual respostas celulares e humorais são rapidamente produzidas, quando um inseto é infectado com algum organismo invasor (Gillepsie *et al* 1997).

Respostas celulares são aquelas nas quais um invasor é fagocitado ou encapsulado por células da hemolinfa (hemócitos), enquanto as respostas humorais são aquelas reações nas quais uma série de fatores antimicrobianos são sintetizados na hemolinfa (Hultmark 1993, Perez & Fontanetti 2011). Essas respostas ocorrem depois que o invasor, seja um microganismo, um parasita ou ovos de um parasitóide, consegue quebrar a primeira linha de defesa dos insetos, a cutícula, que é uma barreira física. Rompida essa barreira, inicia-se um conjunto de reações ativas de defesa, na qual o

primeiro passo é o reconhecimento do invasor. A partir daí, uma resposta apropriada deve ser iniciada. Dentre as reações de defesa que ocorrem com maior frequência entre os insetos estão fagocitose e encapsulação (Schmid-Hempel 2005).

De acordo com Dunn (1986), fagocitose é um processo no qual pequenas partículas estranhas presentes na hemolinfa são engolfadas pelos hemócitos, onde são armazenadas em grandes vesículas. Quando o invasor é maior, e não pode ser fagocitado, os hemócitos isolam-no de suas outras células, num processo conhecido como encapsulação (Klowden 2007). Este é um processo no qual hemócitos especializados, conhecidos como plasmatócitos e granulócitos, se aderem à superfície do corpo estranho, formando uma série de camadas, podendo ser cápsulas ou nódulos, ao redor do invasor. Após a agregação das células, ocorre deposição de melanina (melanização) nas camadas de hemócitos, contribuindo para o isolamento do corpo estranho, levando-o à morte por uma combinação de asfixia e exposição a compostos citotóxicos, presentes na melanina (Hoffmann 1995, Gillepsie *et al* 1997).

A avaliação da imunocompetência de diferentes organismos tem sido feita pela medição indireta da quantidade de melanina depositada em objetos sintéticos inseridos em seus corpos (Vainio *et al* 2004, Baer *et al* 2005, Souza *et al* 2009, Ribeiro *et al* 2011). O implante sintético induz no hospedeiro a reposta de melanização e a falha em melanizar o objeto artificial é interpretada como um desarranjo em seu sistema imune (Nagel *et al* 2011).

Extratos de várias plantas da flora brasileira já foram testados contra formigas-cortadeiras, causando mortalidade nesses insetos (Silva & França 1993, Giesel 2007). Alguns desses extratos têm influencia direta no metabolismo respiratório das cortadeiras, conforme constatado por Hebling-Beraldo *et al* 1991 e Hebling *et al* 2000.

Segundo esses autores, operárias que cortavam folhas de *S. indicum* e *I. batatas* elevaram seu consumo de oxigênio. De acordo com Beraldo & Zanão (1986), a rotenona, substância extraída das raízes de *Derris* sp. (timbó), provocou considerável elevação do metabolismo respiratório de *Atta laevigata* e *Atta sexdens rubropilosa* nas três primeiras horas após o contato com as operárias, seguido de efeito depressor no consumo de oxigênio, nas oito horas seguintes. Esses trabalhos contribuem para o conhecimento do efeito de extratos botânicos no metabolismo respiratório de formigas-cortadeiras. Entretanto, ainda é desconhecido o efeito de extratos de plantas com propriedades inseticidas no sistema imune desses organismos.

Objetivou-se com este trabalho avaliar os efeitos de extratos botânicos de *Ageratum conyzoides*, *Coriandrum sativum* e *Mentha piperita* na imunocompetência e no metabolismo respiratório de operárias de *Atta sexdens rubropilosa*.

2. MATERIAL E MÉTODOS

2.1. Manutenção de colônias de *Atta sexdens rubropilosa*

As operárias de *A. sexdens rubropilosa* utilizadas na realização dos experimentos foram retiradas de duas colônias coletadas em fevereiro e março de 1998 no campus da Universidade Federal de Viçosa, em Viçosa-MG (20°45'14'' S e 42°52'54'' O). Elas foram acondicionadas em laboratório no Insetário/DBA/UFV, em Viçosa, de acordo com a metodologia preconizada por Della Lucia *et al* (1993). As colônias foram mantidas em temperatura de 25±5°C, U.R. de 75±5%, em 24 horas de escotofase, e alimentadas com folhas de diferentes vegetais, trocadas diariamente, além de um suprimento de água. Os volumes dos jardins de fungo foram de, no mínimo, três litros por colônia. Durante o período de adaptação e antecedente aos testes não foram oferecidas folhas das espécies vegetais das famílias testadas, evitando-se o pré-condicionamento das mesmas aos tratamentos (Fowler 1989).

2.2. Preparação dos extratos das plantas

As folhas das plantas utilizadas foram coletadas no município de Viçosa. A metodologia seguida para a obtenção dos extratos foi semelhante à de Moreira (2001). De cada uma das espécies de plantas coletadas, foram obtidos cerca de 500g de folhas, de vários indivíduos, para a extração com hexano em Erlenmeyers de 2000mL, por 48 horas. Após filtração, a solução hexânica foi concentrada em evaporador rotativo de baixa pressão e temperatura reduzida ($< 50^{\circ} \text{C}$) e, em seguida, foi armazenada sob refrigeração para os testes biológicos.

2.3. Determinação da taxa de encapsulação

Na face dorsal do tórax de operárias forrageadoras de *A. sexdens rubropilosa* foi aplicado 1 μl do extrato botânico em solução de acetona, de acordo com os tratamentos: mentrasto, coentro e hortelã. Em contraste com os tratamentos, foram realizados testes em branco (testemunha), nos quais as operárias recebiam aplicação de 1 μl de acetona. Para cada tratamento foram utilizadas 50 operárias. Em seguida, elas foram acondicionadas em estufa incubadora tipo B.O.D. à temperatura de 26°C , 70% de umidade e sem iluminação. Após 24 horas, cada formiga recebeu uma pequena perfuração no tórax, entre o segundo e terceiro pares de pernas, com o auxílio de um alfinete entomológico nº 0, para a introdução de um filamento de nylon de 1mm de comprimento e 0,12 mm de diâmetro. Feito isso, as formigas foram novamente acondicionadas em B.O.D. por mais 24 horas.

Os filamentos de nylon foram, então, removidos do corpo das operárias, montados em lâmina com resina Entellan© e fotografados por câmera digital acoplada ao microscópio Axioskop 40 Zeiss. As fotografias foram analisadas pelo software

ImageJ 1.42q. Neste processo utilizou-se o protocolo de Rantala & Kortet (2003), adaptado por Souza *et al* (2009) e Ribeiro *et al* (2011).

Os resultados de porcentagem de melanização para os experimentos envolvendo os extratos de *Ageratum conyzoides* (mentrasto) e *Mentha piperita* (hortelã) foram transformados para (porcentagem de melanização)⁻¹, para atender às pressuposições de normalidade, sendo, então, chamados de taxa de melanização. O Teste de Kolmogorov-Smirnov ($p > 0,20$) confirmou a distribuição normal dos dados após a transformação. Já os dados de operárias tratadas com o extrato de coentro não necessitaram dessa transformação (Kolmogorov-Smirnov ($d = 0,05$, $p > 0,20$)).

As médias dos valores obtidos foram submetidas à ANOVA, ao nível de 5% de significância com o auxílio do software STATISTICA[®] (Statsoft, 1999).

2.4. Ensaio de respirometria

A taxa de produção de dióxido de carbono pelas formigas foi obtida através de dispositivo de análise de CO₂ (TR2, Sable Systems International, Las Vegas, NV, USA), em metodologia adaptada de Guedes *et al* (2006) e Ribeiro *et al* (2011).

Foram realizados três experimentos, nos quais cada operária de *A. sexdens rubropilosa* recebeu em seu tórax a aplicação de 1µl dos extratos acetônicos de mentrasto, coentro e hortelã, de acordo com os tratamentos. O controle foi constituído de operárias que receberam 1µl apenas de acetona.

Após a aplicação dos extratos, as operárias foram colocadas em uma série de tubos de vidro hermeticamente fechados, acoplados ao sistema de análise de CO₂, por três horas. Durante esse período, o dióxido de carbono produzido era direcionado, por uma corrente de ar livre de CO₂, a um leitor infravermelho, conectado ao sistema, que

possibilitou sua quantificação. Cada tubo continha três operárias. O número de repetições diferiu em cada experimento, sendo de 84 nos testes com o extrato de *A. conyzoides*, 26 com o extrato de *C. sativum* e 34 com o extrato de *M. piperita*.

Os dados obtidos na respirometria envolvendo o extrato de *A. conyzoides* foram transformados a fim de atender às pressuposições de normalidade. Dessa forma, a taxa de respiração, medida através da produção de CO₂ (μl/hora), foi alterada para (produção de CO₂)⁻¹. Para os demais extratos essa transformação não foi necessária.

As médias da produção do dióxido de carbono foram submetidas à ANOVA ($\alpha = 5\%$), no software STATISTICA[®] (Statsoft, 1999).

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

A análise de variância indicou que não houve diferenças significativas entre o tratamento e a testemunha para os testes de encapsulação realizados com os extratos de *A. conyzoides* ($F_{(1, 98)} = 0,0003$, $p = 0,98$) (Figura 1) e de *M. piperita* ($F_{(1, 98)} = 0,03$, $p = 0,87$) (Figura 2).

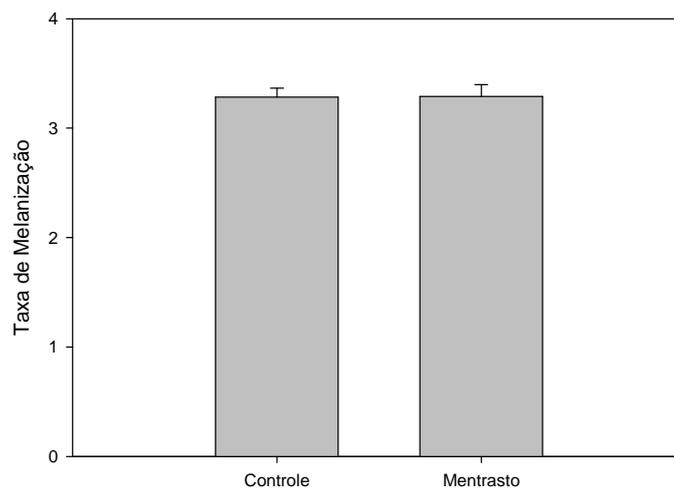


FIGURA 1: Taxa de melanização sobre filamentos de nylon inseridos no tórax de operárias de *Atta sexdens rubropilosa* tratadas com extrato de *Ageratum conyzoides* (Mentrasto) e com acetona (controle). N= 50. Média + erro padrão. (ANOVA, $\alpha = 5\%$).

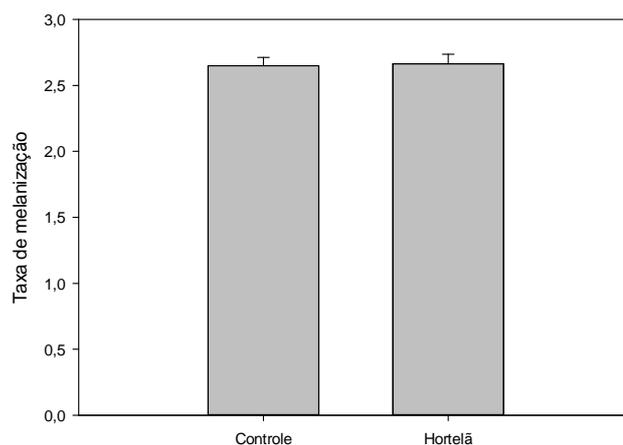


FIGURA 2: Taxa de melanização sobre filamentos de nylon inseridos no tórax de operárias de *Atta sexdens rubropilosa* tratadas com extrato de *Mentha piperita* (Hortelã) e com acetona (controle). N= 50. Média + erro padrão. (ANOVA, $\alpha= 5\%$).

No experimento envolvendo o extrato de *Coriandrum sativum*, a análise de variância apontou diferença significativa ($F_{(1, 98)}=5,64$, $p= 0,02$) entre os tratamentos, indicando que operárias de *A. sexdens rubropilosa* tratadas com o extrato dessa planta apresentaram maior porcentagem de melanização em comparação às operárias controle (Figura 3).

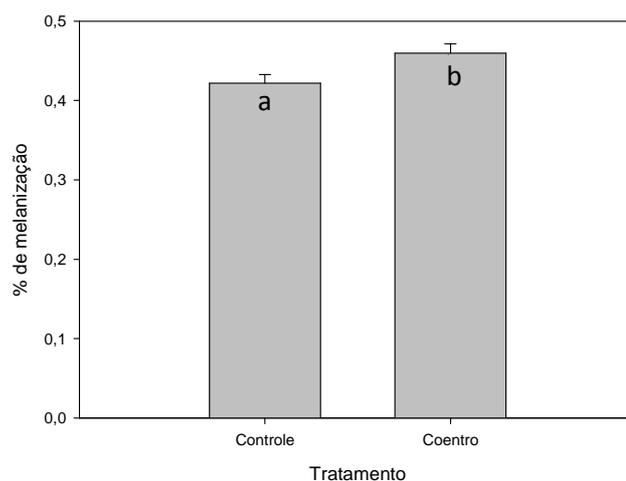


FIGURA 3: Porcentagem de melanização sobre filamentos de nylon inseridos no tórax de operárias de *Atta sexdens rubropilosa* tratadas com extrato de *Coriandrum sativum* (Coentro) e com acetona (controle). N= 50. Média + erro padrão. As letras a e b indicam que as médias são diferentes (ANOVA, $\alpha= 5\%$).

O extrato de *C. sativum* provocou uma resposta imunitária elevada nas formigas, alterando seu estado fisiológico normal. Essa elevação da resposta imunológica indica que houve desequilíbrio energético no organismo. As formigas sob ação desse extrato passaram a investir mais energia em sua defesa interna. Esta alteração pode refletir um stress fisiológico no organismo e comprometer a longevidade da colônia (Vitikainen & Sundström 2011), uma vez que parte da energia empregada nas funções sociais como a busca pelo alimento, o cuidado com a prole ou a defesa da colônia, por exemplo, será investida na defesa celular dos indivíduos.

Esse extrato, portanto, merece mais investigações, uma vez que ele aumenta a defesa das operárias, o que pode enfraquecer a colônia, em termos de atividades gerais na sociedade. Assim, o comportamento na colônia de formigas tratadas com esse extrato deve ser futuramente investigado para comprovar se o comprometimento do seu trabalho social ocorre.

De acordo com Siva-Jothy *et al* (2005), uma alta expressão de defesa imune pode afetar negativamente o fitness de um inseto por restringir outras características importantes, principalmente na ausência de patógenos e parasitas. Neste sentido, Kraaijeveld & Godfray (1997) observaram que o incremento na resistência da mosca *Drosophila melanogaster* contra seu endoparasitóide *Asobara tabida*, através da elevação na encapsulação de ovos, afetou negativamente características importantes do seu fitness, como a habilidade competitiva das larvas. Com a redução da habilidade competitiva, houve considerável redução na sobrevivência das larvas da mosca, conforme constatado por Fellowes *et al* (1998). Em abelhas (*Apis mellifera*) o aumento na resistência contra doenças causadas por bactérias resultou em uma diminuição do ritmo de crescimento e no aumento da mortalidade de larvas (Siva-Jothy *et al* 2005).

A taxa de respiração das operárias tratadas com extrato de *A. conyzoides* foi superior, em relação às operárias controle (Figura 4) ($F_{(1, 166)} = 4,22$, $p = 0,04$), o que significa que o extrato dessa planta causou efeito no metabolismo respiratório das formigas. Dessa forma, formigas sob efeito do extrato de mentrasto apresentaram alterações nas suas funções fisiológicas.

Esse efeito não foi constatado para os testes envolvendo os extratos de *C. sativum* ($F_{(1, 66)} = 1,53$, $p = 0,22$) (Figura 5) e *M. piperita* ($F_{(1, 51)} = 0,00007$, $p = 0,99$) (Figura 6).

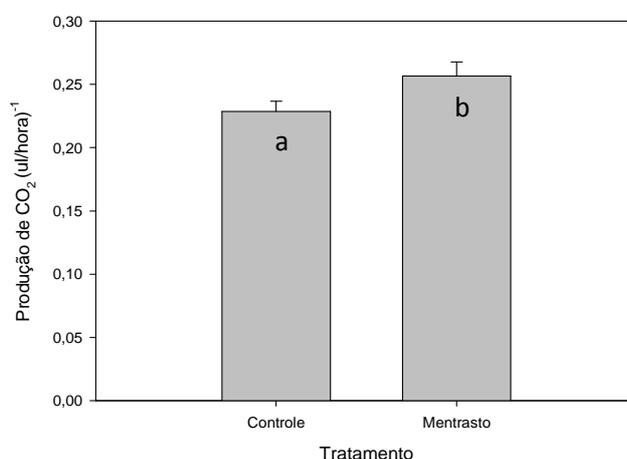


FIGURA 4: Taxa respiratória individual de operárias de *Atta sexdens rubropilosa* tratadas com extrato de *Ageratum conyzoides* (mentrasto) e com acetona (controle). N= 84. Média + erro padrão. As letras a e b indicam que as médias são diferentes (ANOVA, $\alpha = 5\%$).

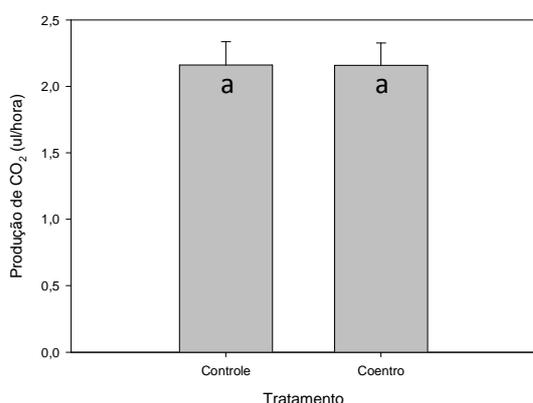


FIGURA 5: Taxa respiratória individual de operárias de *Atta sexdens rubropilosa* tratadas com extrato de *Coriandrum sativum* (coentro) e com acetona (controle). N= 26. Média + erro padrão. Letras iguais nas barras indicam médias semelhantes (ANOVA, $\alpha = 5\%$).

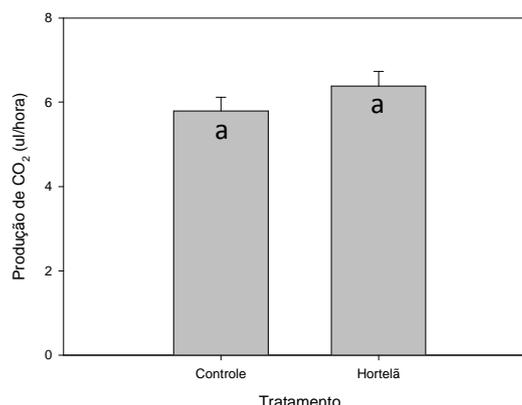


FIGURA 6: Taxa respiratória individual de operárias de *Atta sexdens rubropilosa* tratadas com extrato de *Mentha piperita* (hortelã) e com acetona (controle). N= 34. Média + erro padrão. Letras iguais nas barras indicam médias semelhantes (ANOVA, $\alpha = 5\%$).

Plantas com ação inseticida também aceleram o metabolismo respiratório de insetos. Esse fato foi comprovado por Hebling-Beraldo *et al* (1991), avaliando a resposta respiratória de operárias de *A. sexdens rubropilosa* tratadas com folhas de *Sesamum indicum* (gergelim). Efeito semelhante foi observado por Hebling *et al* (2000), que constataram que formigas que cortavam folhas de *Ipomoea batatas* (batata-doce) tiveram o seu consumo de oxigênio aumentado e sofreram alta mortalidade, quando comparado à colônias que utilizavam folhas de *Eucalyptus*.

O aumento da taxa de respiração das operárias de *A. sexdens rubropilosa* provocado pelo extrato de *A. conyzoides* foi semelhante ao efeito que alguns inseticidas causam no metabolismo respiratório dos insetos. De acordo com Hebling-Beraldo *et al* (1983), inseticidas sintéticos do grupo dos organofosforados provocaram aumento do consumo de oxigênio de *A. sexdens rubropilosa* e *Atta laevigata* logo após a aplicação tópica sobre as operárias, indicando uma ação rápida no organismo das formigas. Inseticidas do grupo dos carbamatos também elevam o consumo de oxigênio das formigas-cortadeiras (Hebling-Beraldo & Vicelli-Zanão 1983). De acordo com Lord (1949), os inseticidas que agem no metabolismo respiratório podem ser divididos em dois grupos, os que estimulam e os que inibem a respiração. Inseticidas naturais estão representados nos dois grupos, como, por exemplo, as piretrinas, que elevam o consumo de oxigênio e, a rotenona, que causa inibição da taxa respiratória.

De acordo com Ansari *et al* (2000), o óleo essencial de *M. piperita* é capaz de provocar mortalidade nas larvas e causar repelência nos mosquitos adultos da família Culicidae. Entretanto, ao contrário do que se esperava, o extrato hexânico dessa planta não exerceu efeito no metabolismo respiratório nem na imunocompetência de operárias de *A. sexdens rubropilosa*, o que indica que a toxicidade da hortelã às formigas esteja relacionada com outros mecanismos fisiológicos.

Ageratum conyzoides é uma planta herbácea da família Asteraceae de grande ocorrência na África e na América do Sul e conhecida por suas propriedades medicinais. A planta apresenta atividade farmacológica, alelopática, fungicida e inseticida (Kong *et al* 1999, Nogueira 2009). Okunade (2002), em um trabalho de revisão sobre a espécie, relatou uma grande quantidade de compostos presentes na planta com comprovada bioatividade sobre insetos. Dentre eles, a maioria dos trabalhos ressalta a importância dos constituintes Precoceno I e II. Não se conhece, entretanto, o composto, ou mistura de compostos presentes no extrato hexânico de *A. conyzoides* responsáveis pela elevação do metabolismo respiratório de *A. sexdens rubropilosa*, tampouco seu mecanismo de ação sobre as formigas. Da mesma forma, o óleo essencial de *C. sativum* possui comprovada atividade biológica contra microrganismos (Saeed & Tarig 2007) e insetos (Dra. Myriam Ribeiro, comunicação pessoal), entretanto, pouco se conhece sobre sua constituição química (Matasyoh *et al* 2009) e mecanismos de ação em insetos. Desse modo, se faz necessário dar continuidade às pesquisas neste sentido, para ampliar o conhecimento sobre as plantas com propriedades inseticidas, bem como descobrir novas substâncias ativas com possibilidade de uso no controle de insetos praga.

Os extratos de *A. conyzoides* e *C. sativum* foram capazes de alterar a fisiologia de operárias de formigas-cortadeiras. Essa alteração pode ser prejudicial para a colônia, reduzindo a disponibilidade energética para outras tarefas. Além disso, esse fato pode contribuir para o entendimento de como esses extratos são capazes de causar a mortalidade das operárias, como constatado pela Dra. Myriam Ribeiro (comunicação pessoal). Esses resultados sugerem que o uso desses extratos podem ser promissores como estratégia complementar no manejo integrado de formigas-cortadeiras. Entretanto, muito há que ser conhecido a respeito da relação entre esses extratos e seus efeitos na fisiologia desses insetos, e ainda, se essas alterações fisiológicas comprometem, de fato,

o trabalho social das formigas, sendo necessários maiores investimentos em pesquisas nesse sentido. Talvez, desta forma, possam ser encontrados novas substâncias capazes de compor o manejo integrado de formigas-cortadeiras, especialmente substâncias oriundas da natureza e que promovam o combate a esse importante grupo de pragas de forma mais sustentável.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ANSARI, M.A.; VASUDEVAN, P.; TANTON, M.; RAZDAN, R.K. Larvicidal and mosquito repellent action of peppermint (*Mentha piperita*) oil. **Bioresource Technology**, v. 71, n. 3, p. 267–271. 2000.
- BAER, B.; KRUG, A.; BOOMSMA, J. J.; HUGHES, W. O. H. Examination of the immune responses of males and workers of the leaf-cutting ant *Acromyrmex echinatior* and the effect of infection. **Insectes Sociaux**, v. 52, p. 298–303. 2005.
- DELLA LUCIA, T.M.C.; VILELA, E.F.; ANJOS, N.; MOREIRA, D.D.O. Criação de formigas cortadeiras em laboratório. In: Della Lucia, T.M.C. (Ed.), **Formigas Cortadeiras**. Viçosa, MG: Folha de Viçosa, p. 151-162. 1993.
- DUNN, P.E. Biochemical aspects in insect immunity. **Annual Review of Entomology**, v. 31, p. 321-39. 1986.
- FELLOWES, M.D.E.; KRAAIJEVELD, A.R.; GODFRAY, H.C.J. Trade-off associated with selection for increased ability to resist parasitoid attack in *Drosophila melanogaster*. **Proceedings of the Royal Society of London. B**, v. 265, p.1553-1558.1998.
- FOWLER, H.G. Heterogeneidade nas relações formiga-planta. In: Encontro de Mirmecologia, 9, Viçosa, 1989. **Anais...Viçosa**, p.42-44, 1989.
- GUEDES, R.N.C.; OLIVEIRA, E.E.; GUEDES, N.M.P.; RIBEIRO, B.; SERRÃO, J.E. Cost and mitigation of insecticide resistance in the maize weevil, *Sitophilus zeamais*. **Physiological Entomology**, v. 31, p. 30-38.2006.
- GIESEL, A. Preparados homeopáticos, iscas fitoterápicas, conhecimento popular e estudo do comportamento para o manejo das formigas cortadeiras no Planalto Serrano Catarinense. Dissertação (Mestrado em Produção Vegetal). Universidade do Estado de Santa Catarina. 94p. 2007.
- GILLEPSIE, J.P.; KANOST, M.R.; TRENKZEC, T. Biological mediators of insect immunity. **Annual Review of Entomology**, v. 42, p. 611–43. 1997.
- GUERRA, M. S. **Receituário caseiro: alternativas para o controle de pragas e doenças de plantas cultivadas e de seus derivados**. Brasília, EMBRATER, 166p. 1985.
- HEBLING, M.J.A.; BUENO, O.C.; MAROTI, P.S.; PAGNOCCA, F.C.; SILVA, O. A. Effects of leaves of *Ipomoea batatas* (Convolvulaceae) on nest development and on respiratory metabolism of leaf-cutting ants *Atta sexdens* L. (Hym., Formicidae). **Journal of Applied Entomology**, v. 124, p.249-252. 2000.
- HEBLING-BERALDO, M.J.A.; POLESI, K.R.; ALMEIDA, R.E. Efeitos respiratórios de acephate, methamidophos e naled (inseticidas organofosforados) em *Atta sexdens rubropilosa* Forel, 1908 e *Atta laevigata* (F. Smith, 1858) (Hymenoptera, Formicidae). **Naturalia**, v. 8, p. 85-90. 1983.

HEBLING-BERALDO, M.J.A.; VICELLI-ZANÃO, R.C. Efeitos de inseticidas organofosforados e carbamatos sobre o consumo de oxigênio de *Atta laevigata* (F. Smith, 1858) e *Atta sexdens rubropilosa* Forel, 1908 (Hymenoptera-Formicidae). **Ciência e Cultura**, v. 35, n. 2. 1983.

HEBLING-BERALDO, M.J.A.; BUENO, O.C.; ALMEIDA, R.E.; SILVA, O.A.; PAGNOCCA, F.C. Influência do tratamento com folhas de *Sesamum indicum* sobre o metabolismo de *Atta sexdens rubropilosa* Forel, 1908 (Hymenoptera: Formicidae). **Anais da Sociedade Entomológica do Brasil**, v. 20, n. 1, p. 27-33. 1991.

HOFFMANN, J.A. Innate immunity of insects. **Current Opinion in Immunology**, v. 7, p.4-10.1995.

HULTMARK, D. Immune reactions in *Drosophila* and other insects: a model for innate immunity. **Trends in Genetics**, v. 9, n. 5, p. 178-183. 1993.

KLOWDEN, M.J. **Physiological systems in insects**. Academic Press. 688 p. 2007.

KONG, C.; HU, F.; XU, T.; LU, Y. Allelopathic potential and chemical constituents of volatile oil from *Ageratum conyzoides*. **Journal of Chemical Ecology**, v. 25, n. 10, p. 2347-2356. 1999

KRAAIJEVELD, A.R.; GODFRAY, H.C.J. Trade-off between parasitoid resistance and larval competitive ability in *Drosophila melanogaster*. *Nature*, v. 389, p. 278-280. 1997.

LORD, K.A. The effect of insecticides on the respiration of *Oryzaephilus surinamensis*: an attempt to compare the speeds of action of a number of D.D.T. analogues. **Annals of Applied Biology**, v. 36, n. 1, p. 113-138. 1949.

MATASYOH, J.C.; MAIYO, Z.C.; NGURE, R.M.; CHEPKORIR, R. Chemical composition and antimicrobial activity of the essential oil of *Coriandrum sativum*. **Journal of Food Chemistry**, v. 113, p. 526-529. 2009.

MOREIRA, M. D. Isolamento, identificação e atividade inseticida de constituintes químicos de *Ageratum conyzoides*. Viçosa: UFV, Dissertação Mestrado. 60p. 2001.

NAGEL, L.; MLYNAREK, J.J.; FORBES, M.R. Immune response to nylon filaments in two damselfly species that differ in their resistance to ectoparasitic mites. **Ecological Entomology**, v. 36, p. 736-743. 2011.

NOGUEIRA, J.H.C. Quimioprevenção pelo óleo essencial de mentrasto (*Ageratum conyzoides*) no crescimento de *Aspergillus flavus* e da produção de aflatoxina. 2009. Instituto Biológico. Dissertação (Mestrado em Sanidade, Segurança Alimentar e Ambiental no Agronegócio). 58 p. 2009.

OKUNADE, A.L. *Ageratum conyzoides* L. (Asteraceae). **Fitoterapia**, v. 73, p. 1-16. 2002.

OLIVEIRA, M.A.; ARAÚJO, M.S.; MARINHO, C.G.S.; RIBEIRO, M.M.R.; DELLA LUCIA, T.M.C. Manejo de formigas-cortadeiras. In: DELLA LUCIA, T.M.C. (Ed.). **Formigas-cortadeiras: da bioecologia ao manejo**. Viçosa: Ed. UFV. 421p. 2011.

- PEREZ, D.G.; FONTANETTI, C.S. Hemocitological responses to environmental stress in invertebrates: A review. **Environmental Monitoring and Assessment**, v. 177, p. 437–447. 2011.
- RANTALA, M.J., KORTET, R. Courtship song and immune function in the field cricket *Gryllus bimaculatus*. *Biological Journal of the Linnean Society*, v. 79, p. 503–510. 2003.
- RIBEIRO, M.M.R.; SOUZA, D.J.; GANDRA, L.C.; DELLA LUCIA, T.M.C. Immunocompetence and energetic metabolism in different groups of workers of *Atta sexdens rubropilosa* (Hymenoptera: Formicidae). **Sociobiology**, v. 58, n. 2. 2011.
- SAEED, S.; TARIG, P. Antibacterial activities of *Emblica officinalis* and *Coriandrum sativum* against Gram negative urinary pathogens. **Pakistan Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 20, n. 1, p. 32-35. 2007.
- SCHMID-HEMPEL, P. Evolutionary ecology of insect immune defenses. **Annual Review of Entomology**, v. 50, p. 529–51. 2005.
- SILVA, A.C.; FRANÇA, D. Determinação do efeito inseticida de alguns extratos vegetais sobre saúvas *Atta laevigata* (Smith, 1858), em laboratório. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE ENTOMOLOGIA, 14, 1993, Piracicaba, **Resumos...** 1993. p.417.
- STATISTICA for Windows. StatSoft, Inc, Tulsa, USA, 1999.
- SIVA-JOTHY, M.T.; MORET, Y.; ROLFF, J. Insect immunity: an evolutionary ecology perspective. In: SIMPSON, S.J. (Ed.) **Advances in insect physiology**. Academic Press. 316p. 2005.
- SOUZA, D.J.; BÉZIER, A.; DEPOIX, D.; DREZEN, J.M.; LENOIR, A. *Blochmannia* endosymbionts improve colony growth and immunodefence in the ant *Camponotus fellah*. **BMC Microbiology**, v. 9, n. 29. 2009.
- VAINIO, L.; HAKKARAINEN, H.; RANTALA, M.; SORVARI, J. Individual variation in immune function in the ant *Formica exsecta*; effects of the nest, body size and sex. **Evolutionary Ecology**, v. 18, p. 75-84. 2004.
- VITIKAINEN, E.; SUNDSTRÖM, L. Inbreeding and caste-specific variation in immune defence in the ant *Formica exsecta*. **Behavioral Ecology and Sociobiology**, v. 65, p. 899–907. 2011.

CAPÍTULO 2: Extratos de *Ageratum conyzoides*, *Coriandrum sativum* e *Mentha piperita* inibem o desenvolvimento do fungo simbiote das formigas-cortadeiras

RESUMO

As formigas-cortadeiras vivem em simbiose com um fungo que é cultivado por elas no interior dos formigueiros. O fungo *Leucoagaricus gongylophorus* é a principal fonte nutricional dessas formigas que, em contrapartida, oferecem condições para o seu desenvolvimento. Essa relação com o fungo é crucial para a sobrevivência da colônia. Assim, a morte do fungo leva ao colapso do formigueiro. Portanto, uma das formas de se eliminar uma colônia de formigas-cortadeiras se dá pela supressão do fungo. Extratos botânicos de *Ageratum conyzoides*, *Coriandrum sativum* e *Mentha piperita* possuem comprovada ação contra as formigas, causando sua mortalidade. Entretanto não se conhece os efeitos desses extratos sobre o fungo simbiote das cortadeiras. Portanto, este trabalho objetivou-se em determinar os efeitos de extratos de *A. conyzoides*, *C. sativum* e *M. piperita* sobre o fungo simbiote das formigas-cortadeiras, *L. gongylophorus*. As atividades foram realizadas no Laboratório de Formigas-Cortadeiras

da UFV, onde se avaliou o crescimento do fungo cultivado em meios de cultura misturados a três concentrações dos extratos das plantas. Os extratos das três espécies investigadas tiveram efeito inibitório sobre *L. gongylophorus*. O melhor desempenho foi obtido com o extrato de *M. piperita*, que na menor concentração causou redução de 96% da biomassa do fungo. O extrato de *A. conyzoides* também apresentou elevada atividade de inibição na menor concentração. Os extratos das três espécies de planta causaram inibição total do fungo, na maior concentração.

1. INTRODUÇÃO

As formigas pertencentes à tribo Attini são aquelas que cultivam um fungo, no interior de seus ninhos, que lhes servem de alimento (Della Lucia & Souza 2011). Esse fungo foi descrito por Möller e, inicialmente, classificado como *Rozytes gongylophora* (Möller 1893). A partir daí, houve algumas alterações em sua classificação, passando a se chamar *Leucocoprinus gongylophorus*, posteriormente, *Leucoagaricus weberi* e, finalmente, *Leucoagaricus gongylophorus*, como é atualmente classificado (Pagnocca *et al* 2011).

A relação entre formigas e fungos acontece há pelo menos 50 milhões de anos (Mueller *et al* 1998). As formigas-cortadeiras surgiram entre 5 e 15 milhões de anos atrás (Fowler 1983) e sua relação com *L. gongylophorus* evoluiu tanto, que é estritamente necessária para ambos. Para o seu desenvolvimento, o fungo necessita de defesa contra outros microrganismos e de substrato, que são providos pelas cortadeiras, que, por sua vez, dependem do fungo para sua alimentação (Moreira *et al* 2011). O fungo é a principal fonte nutricional para os adultos e para a prole (Quinlan & Cherrett 1979, Silva *et al* 2003).

A agricultura realizada pelas cortadeiras se diferencia daquela praticada por outros grupos de Attini, principalmente pelo substrato utilizado para o desenvolvimento do fungo. Enquanto os grupos mais basais usam partes mortas de plantas, carcaças de invertebrados e, ou, fezes de insetos, as cortadeiras, principalmente, *Atta* e *Acromyrmex*, utilizam partes frescas de vegetais (Della Lucia & Souza 2011). Assim, as formigas cortam uma enorme variedade de vegetais, apresentando capacidade de seleção entre o material a ser cortado, de acordo com suas propriedades físicas e químicas (Hubbel & Wiemer 1983). Dentre as características químicas de uma planta, a presença e o teor de compostos secundários, tais como taninos e alcalóides, e sua qualidade nutricional em relação às necessidades do fungo são fatores que determinam a seletividade (Rockwood 1976). Dentro da gama de espécies vegetais utilizadas pelas cortadeiras, estão plantas amplamente cultivadas pelo homem, tanto na agricultura quanto na silvicultura, bem como no cultivo de pastagens. A biomassa de folhas cortada pelas formigas é tão grande, que as fazem ser consideradas como a maior praga florestal do Brasil (Della Lucia & Vilela 1993, Anjos *et al* 1998, Oliveira *et al* 2011).

A ação de substâncias tóxicas sobre *L. gongylophorus* constitui uma forma de combate às cortadeiras, uma vez que, o mutualismo existente leva à morte das formigas, após a eliminação do fungo (Fernandes *et al* 2007). Diante disso, grande número de pesquisas tem sido feito, a fim de se encontrar substâncias tóxicas ao fungo simbiote das formigas, principalmente através do uso de plantas com atividade fungicida. Pagnocca *et al* (1996) observaram que lignanas (compostos químicos secundários, encontrados em algumas plantas) extraídas de *Virola sebifera* e *Otoba parvifolia* inibiram o crescimento de *L. gongylophorus*, em laboratório. Monteiro *et al* (1998) avaliaram o desenvolvimento do fungo simbiote quando tratados com extratos e ácidos graxos de extraídos de folhas de *Canavalia ensiformis* e concluíram que ambos os

tratamentos apresentaram elevada atividade na inibição do crescimento do fungo. Dentre os extratos botânicos que apresentam efeitos tóxicos tanto para as operárias quanto para o fungo simbiote estão os de gergelim (*Sesamum indicum*) (Hebling-Beraldo *et al* 1991, Ribeiro *et al* 1998), de batata-doce (*Ipomoea batatas*) (Hebling *et al* 2000), de *Helietta puberula* (Almeida *et al* 2007) e de mamona (*Ricinus communis*) (Bigi *et al* 2004).

Extratos de *Ageratum conyzoides* (mentrasto), *Coriandrum sativum* (coentro) e de *Mentha piperita* (hortelã) são tóxicos para as formigas-cortadeiras, quando aplicados topicamente nas operárias e quando incorporados em sua dieta artificial, sendo espécies promissoras no controle desses insetos (Dra. Myriam Ribeiro, comunicação pessoal). Entretanto, não se conhece o efeito desses extratos sobre o fungo simbiote. Portanto, com este trabalho teve-se o objetivo de determinar os efeitos tóxicos de extratos hexânicos de *A. conizoydes*, *C. sativum* e *M. piperita* sobre *L. gongylophorus*.

2. MATERIAL E MÉTODOS

2.1. Preparação dos extratos das plantas

As folhas das plantas utilizadas foram coletadas no município de Viçosa. A metodologia seguida para a obtenção dos extratos foi semelhante à de Moreira (2001). De cada uma das espécies de plantas coletadas, foram obtidos cerca de 500g de folhas, de vários indivíduos, para a extração com hexano em Erlenmeyers de 2000mL, por 48 horas. Após filtração, a solução hexânica foi concentrada em evaporador rotativo de baixa pressão e temperatura reduzida ($< 50^{\circ}$ C) e, em seguida, foi armazenada sob refrigeração para os testes biológicos.

2.2. Aplicação em meio de cultura do fungo

Neste bioensaio, realizado em capela de fluxo laminar, 1 mL do extrato foi misturado a 9 mL de meio de cultura preparado de acordo com Pagnocca *et al* (1990). A mistura foi, então, vertida em placa de Petri (100x20 mm), onde foram repicados discos padronizados com 1 cm de diâmetro do fungo *L. gongylophorus*, previamente cultivado

em laboratório, de acordo com Pagnocca *et al* (1990). As placas foram vedadas com filme de PVC e acondicionadas em estufa incubadora tipo B.O.D. a temperatura de $26 \pm 2^{\circ}\text{C}$, 70% de umidade relativa e sem iluminação por um período de 30 dias. Após esse período, o micélio do fungo foi coletado e colocado para secar em estufa a 40°C por 48 horas. Passado esse período, foi verificada a massa do fungo, em balança de precisão.

O delineamento utilizado foi o inteiramente casualizado, composto por cinco tratamentos de três concentrações e duas testemunhas. As concentrações foram 25, 50 e 100 mg de extrato por 1 mL de solução de diclorometano. Os tratamentos testemunha foram compostos por discos do fungo crescendo em placas com o meio de cultura e, outros crescendo em placas com meio de cultura com a adição de 1 mL de diclorometano. Foram utilizadas 10 placas por tratamento, sendo que em cada placa foram colocados 3 discos do fungo, totalizando 30 repetições.

Os valores das massas do micélio do fungo foram submetidos à ANOVA e, posteriormente, as médias foram comparadas pelo teste Tukey, ao nível de significância de 5%, utilizando-se o software STATISTICA[®] (Statsoft 1999).

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os extratos das três espécies de plantas tiveram efeito sobre *L. gongylophorus*, reduzindo o seu crescimento ($p < 0,01$). Os extratos de *M. piperita* e *A. conyzoides* reduziram a biomassa do fungo na menor concentração utilizada (25 mg/ml) (Figuras 1 e 2), enquanto que o extrato de coentro não causou alterações significativas na biomassa do fungo nas concentrações de 25 e 50 mg/ml (Figura 3). A concentração de 100 mg/ml inibiu completamente o desenvolvimento do fungo em todos os extratos, levando-o à morte. A adição do solvente diclorometano ao meio de cultura não teve efeito sobre o crescimento de *L. gongylophorus*, conforme constatado pelo teste de Tukey (Figuras 1, 2 e 3).

Os dados do percentual de redução da biomassa de *L. gongylophorus* provocada pelos extratos das três plantas estão expostos na Tabela 1.

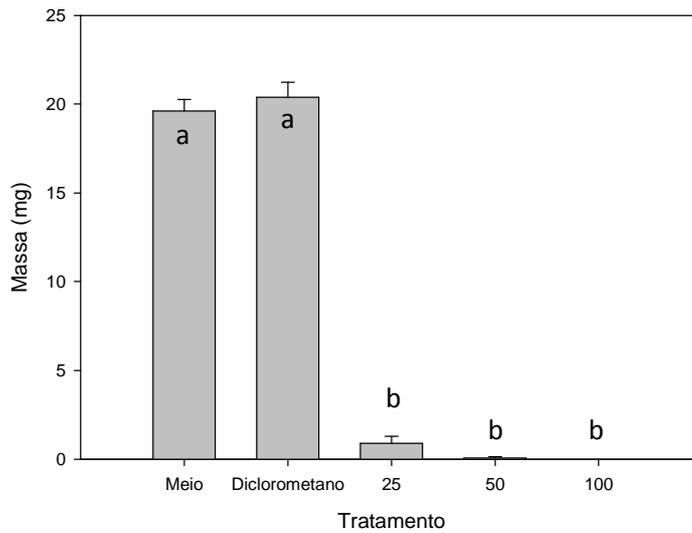


Figura 1: Massa do micélio de *Leucoagaricus gongylophorus* (mg) em meio de cultura (meio), em meio adicionado ao solvente diclorometano (diclorometano) e em meios de cultura com extrato de *Mentha piperita* nas concentrações de 25, 50 e 100 mg/ml. Letras iguais nas barras correspondem a médias semelhantes (Tukey, $\alpha=5\%$).

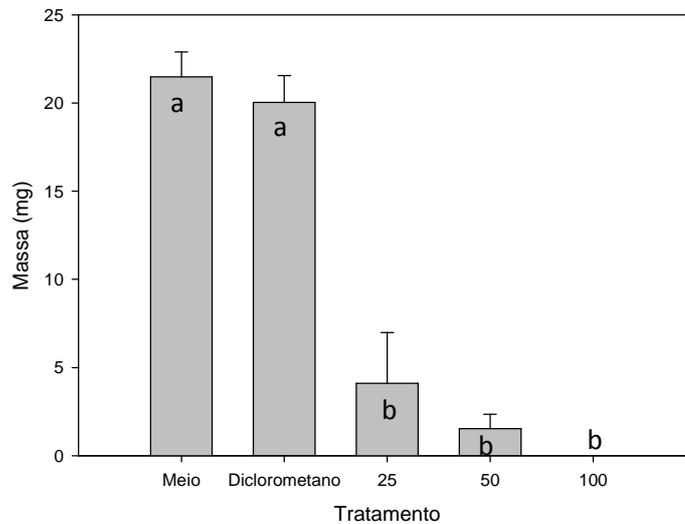


Figura 2: Massa do micélio de *Leucoagaricus gongylophorus* (mg) em meio de cultura (meio), em meio adicionado ao solvente diclorometano (diclorometano) e em meios de cultura com extrato de *Ageratum conyzoides* nas concentrações de 25, 50 e 100 mg/ml. Letras iguais nas barras correspondem a médias semelhantes (Tukey, $\alpha=5\%$).

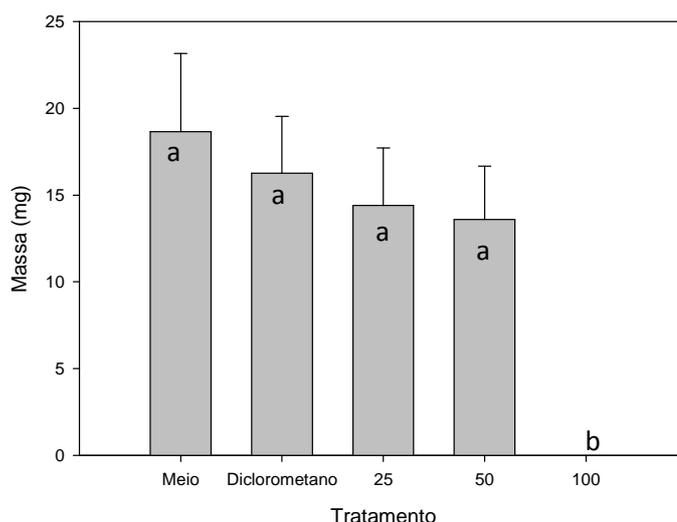


Figura 3: Massa do micélio de *Leucoagaricus gongylophorus* (mg) em meio de cultura (meio), em meio adicionado ao solvente diclorometano (diclorometano) e em meios de cultura com extrato de *Coriandrum sativum* nas concentrações de 25, 50 e 100 mg/ml. Letras iguais nas barras correspondem a médias semelhantes (Tukey, $\alpha= 5\%$).

TABELA 1: Efeito de diferentes concentrações dos extratos de *Ageratum conyzoides* (mentrasto), *Coriandrum sativum* (coentro) e *Mentha piperita* (hortelã) na redução da biomassa do fungo simbionte das formigas-cortadeiras *Leucoagaricus gongylophorus*. Testemunha= meio de cultura + solvente * indica diferença estatística em relação à testemunha (Tukey, $\alpha= 5\%$)

| Extrato | Concentração (mg/ml) | Redução da biomassa (%) |
|-----------|----------------------|-------------------------|
| Mentrasto | Testemunha | 7 |
| | 25 | 81* |
| | 50 | 93* |
| | 100 | 100* |
| Coentro | Testemunha | 13 |
| | 25 | 23 |
| | 50 | 27 |
| | 100 | 100* |
| Hortelã | Testemunha | 0 |
| | 25 | 96* |
| | 50 | 99* |
| | 100 | 100* |

Verifica-se que o melhor desempenho na avaliação da inibição do crescimento do fungo foi obtido com o extrato de *M. piperita*, que mesmo na menor concentração causou redução de 96% em sua biomassa. A seguir, o extrato de *A. conyzoides* teve

desempenho acima de 80% na inibição de *L. gongylophorus*. Com o extrato de *C. sativum*, na concentração de 25 mg/ml a redução foi de 23 %. Esse mesmo percentual foi obtido pelo extrato de *C. sativum* na redução do crescimento do fungo patogênico *Aspergillus flavus*, de acordo com Rahman *et al* (2000). Outros trabalhos investigaram o efeito do extrato dessa planta em fungos patogênicos (Hitokoto *et al* 1980, Akgül & Kavanç 1988, Basílico & Basílico 1999), demonstrando que o extrato não interferiu no crescimento desses fungos. Entretanto, as concentrações utilizadas nessas avaliações foram inferiores às empregadas no presente estudo. Isso pode ser um indício de que somente elevadas concentrações do extrato de *C. sativum* são capazes de exercer efeitos deletérios ao desenvolvimento de fungos.

Os expressivos resultados obtidos na inibição de *L. gongylophorus* por *M. piperita* foram verificados, também, contra fungos patogênicos. Montes-Belmont & Carvajal (1998) constataram total inibição do crescimento de *A. flavus* em grãos de milho tratados com o óleo essencial da planta. Para Duarte *et al* (2005), o óleo essencial de *M. piperita* apresentou moderada atividade contra *Candida albicans*.

A ação antifúngica de *A. conyzoides* já havia sido relatada na literatura. O extrato dessa planta reduziu em 63% a biomassa de *A. flavus*, causando danos celulares e alterações morfológicas irreversíveis (Nogueira *et al* 2010). Em *Fusarium solani*, a redução da biomassa superou os 80% (Javed & Bashir 2012). A total inibição do crescimento do fungo por extrato de *A. conyzoides*, como constatado neste trabalho, foi verificada também por Bajwa *et al* (2001) em *Aspergillus fumigatus*.

O elevado grau de inibição de *L. gongylophorus* pelos extratos de *M. piperita* e *A. conyzoides* supera os resultados obtidos com extratos de óleo de sementes de *Citrus limon* (Ribeiro *et al* 1998) e com extrato hexânico de folhas de *Ricinus comunis* (Bigi *et*

al 2004). Já Pagnocca *et al* (1996) avaliaram o efeito de compostos secundários isolados de *Virola sebifera* e *Otoba parvifolia* sobre o crescimento do fungo cultivado pelas cortadeiras e constataram que as substâncias sesamina e epigalgravina foram capazes de causar completa inibição do desenvolvimento do fungo. Isso indica que o isolamento das substâncias ativas presentes nos extratos de *M. piperita*, *A. conyzoides* e *C. sativum* pode aumentar a eficiência dessas plantas na inibição do desenvolvimento do fungo, uma vez que pequenas concentrações dessas substâncias purificadas poderiam ser empregadas contra *L. gongylophorus*.

De acordo com Nogueira *et al* (2010), os principais constituintes do extrato de *A. conyzoides* são precoceno I e II (89,13%), cumarina (5,01%) e trans-cariofileno (3,02%). O óleo de sementes de *C. sativum* é composto principalmente por linalol (75,3%), geranil (8,12%) e α -pineno (4,09%), segundo Singh *et al* (2006). Os principais constituintes do óleo de *M. piperita* são acetato de mentil, menthol, menthofuran, menthone, 1.8 cineol e α -limoneno, sendo que as concentrações são dependentes das práticas de cultivo da planta (Scravoni *et al* 2005). Assim, esses compostos podem estar envolvidos na bioatividade das plantas contra o fungo simbionte das formigas-cortadeiras, sendo necessária a realização de testes para comprovação desta hipótese.

Neste trabalho, pôde-se constatar que os extratos hexânicos de *M. piperita*, *A. conyzoides* e *C. sativum* foram capazes de inibir o crescimento do fungo *L. gongylophorus*, sendo que a concentração de 100 mg/ml dos três extratos foi letal para o fungo. As porcentagens de inibição mais expressivas foram obtidas pelos extratos de *M. piperita* e *A. conyzoides*, que mesmo na menor concentração tiveram forte efeito na redução da biomassa do fungo simbionte.

Os resultados obtidos são encorajadores no que diz respeito à utilização de espécies vegetais para uso no combate às formigas-cortadeiras. Entretanto, para se

atingir esse fim, novos investimentos devem ser realizados no sentido de se conhecer e isolar os constituintes dessas três espécies de plantas envolvidos no processo de inibição do fungo.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AKGÜL, A.; KIVANÇ, M. Inhibitory effects of selected Turkish spices and oregano components on some foodborne fungi. **International Journal of Food Microbiology**, v. 6, p. 263-268. 1988.

ANJOS, N.; DELLA LUCIA, T.M.C.; MAYHÉ-NUNES, A.J. **Guia prático sobre formigas cortadeiras em reflorestamento**. Ponte Nova, MG: Ed. Graff Cor, 97 p. 1998.

ALMEIDA, R.N.A.; PEÑAFLORES, M.F.G.V.; SIMOTE, S.Y.; BUENO, O.C.; HEBLING, M.J.A.; PAGNOCCA, F.C.; FERNANDES, J.B.; VIEIRA, P.C.; SILVA, M.F.G.F. 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**, v. 2, p. 1-8. 2007.

BAJWA, R.; AKHTAR, N.; JAVAID, A. Antifungal activity of allelopathic plant extracts. I. Effect of aqueous extracts of three allelopathic Asteraceous species on growth of aspergilla. **Pakistan Journal of Biological Science**, v. 4, p. 503-507. 2001.

BASÍLICO, M.Z.; BASÍLICO, J.C. Inhibitory effects of some spice essential oils on *Aspergillus ochraceus* NRRL 3174 growth and ochratoxin A production. **Letters in Applied Microbiology**, v. 29, p. 238-241. 1999.

BIGI, M.F.M.A.; TORKOMIAN, V.L.V.; GROOTE, S.T.C.S.; HEBLING, M.J.A.; BUENO, O.C.; PAGNOCCA, F.C.; FERNANDES, J.B.; VIEIRA, P.C.; SILVA, M.F.G.F. 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**, v. 60, p. 933-938. 2004.

DELLA LUCIA, T.M.C.; VILELA, E.F. Métodos atuais de controle e perspectivas. In: DELLA LUCIA, T.M.C. (Ed.), **Formigas Cortadeiras**. Viçosa, MG: Folha de Viçosa, pp. 163-176. 1993.

DELLA LUCIA, T.M.C.; SOUZA, D.J. Importância e história de vida das formigas-cortadeiras. In: DELLA LUCIA, T.M.C. (Ed.). **Formigas-cortadeiras: da bioecologia ao manejo**. Viçosa, MG: Editora UFV. 421p. 2011.

DUARTE, M.C.T.; FIGUEIRA, G.M.; SARTORATTO, A.; REHDER, V.L.G.; DELARMELINA, C. Anti-*Candida* activity of Brazilian medicinal plants. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 97, p. 305-311. 2005.

FERNANDES, J.B.; SILVA, M.F.G.F.; VIEIRA, P.C.; CORREA, A.G.; BACCI JUNIOR, M.; PAGNOCCA, F.C.; BUENO, O.C. O futuro dos produtos naturais no controle de formigas. **Biológico**, v.69, suplemento 2, p. 221-224. 2007.

FOWLER, H.G. Latitudinal gradients and diversity of the leaf-cutting ants (*Atta* e *Acromyrmex*) (Hymenoptera: Formicidae). **Revista de Biologia Tropical**, v. 31, p. 213-216. 1983.

GUERRA, M.S. **Receituário caseiro: alternativas para o controle de pragas e doenças de plantas cultivadas e de seus derivados**. Brasília, EMBRATER, 166p 1985.

HEBLING-BERALDO, M.J.A.; BUENO, O.C.; ALMEIDA, R.E.; SILVA, O.A.; PAGNOCCA, F.C. Influência do tratamento com folhas de *Sesamum indicum* sobre o metabolismo respiratório de *Atta sexdens rubropilosa* Forel, 1908 (Hymenoptera: Formicidae). **Anais da Sociedade Entomológica do Brasil**, v. 20, n. 1, p. 27-34. 1991.

HEBLING, M.J.A.; BUENO, O.C.; MAROTI, P.S.; PAGNOCCA, F.C.; SILVA, O.A. Effects of leaves of *Ipoema batatas* (Convolvulaceae) on nest development and on respiratory metabolism of leaf-cutting ants *Atta sexdens* L. (Hym., Formicidae). **Journal of Applied Entomology**, v. 124, p. 249-252. 2000.

HITOKOTO, H.; MOROZUMI, S.; WAUKE, T.; SAKAI, S.; KURATA, H. Inhibitory effects of spices on growth and toxin production of toxigenic fungi. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 39, n. 4, p. 818-822. 1980.

HUBBEL, S.P.; WIEMER, D.F. Host plant selection by an Attine ant. In: Jaisson, P. (Ed). **Social insects in the tropics**. Paris: University of Paris Press, 2, 157-163. 1983.

JAVED, S.; BASHIR, U. Antifungal activity of different extracts of *Ageratum conyzoides* for the management of *Fusarium solani*. **African Journal of Biotechnology**, v. 11, n. 49, p. 11022-11029. 2012.

MONTES-BELMONT, R.; CARVAJAL, M. Control of *Aspergillus flavus* in Maize with Plant Essential Oils and Their Components. **Journal of Food Protection**, v. 61, n. 5, p. 616-619. 1998.

MOREIRA, M. D. Isolamento, identificação e atividade inseticida de constituintes químicos de *Ageratum conyzoides*. Viçosa: UFV, Dissertação Mestrado. 60p. 2001.

MOREIRA, D.D.O.; ERTHAL JR, M.; SAMUELS, R.I. Alimento e digestão em formigas-cortadeiras. In: DELLA LUCIA, T.M.C. (Ed.). **Formigas-cortadeiras: da bioecologia ao manejo**. Viçosa, MG: Editora UFV. 421p. 2011.

MÖLLER, A. Die Pilzgärten einiger südamerikanischer Ameisen. **Botanische Mitteilungen aus den Tropen**, v. 6, p. 1-27. 1893.

MONTEIRO, M.R.; TORKOMIAN, V.L.V.; PAGNOCCA, F.C.; VIEIRA, P.C.; FERNANDES, J.B.; SILVA, M.F.G.F.; BUENO, O.C.; HEBLING, M.J.A. Activity of extracts and fatty acids of *Canavalia ensiformis* (Leguminosae) against the symbiotic fungus of the leaf-cutting ants *Atta sexdens*. **Anais da Academia Brasileira de Ciências**, v. 70, n. 4 p. 733-736. 1998.

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

NOGUEIRA, J.H.C.; GONÇALEZ, E.; GALLETI, S.R.; FACANALI, R.; MARQUES, M.O.M.; FELÍCIO, J.D. *Ageratum conyzoides* essential oil as aflatoxin suppressor of *Aspergillus flavus*. **International Journal of Food Microbiology**, v. 137, p. 55-60. 2010.

OLIVEIRA, M.A.; ARAÚJO, M.S.; MARINHO, C.G.S.; RIBEIRO, M.M.R.; DELLA LUCIA, T.M.C. Manejo de formigas-cortadeiras. In: DELLA LUCIA, T.M.C. (Ed.). **Formigas-cortadeiras: da bioecologia ao manejo**. Viçosa: Ed. UFV. 421p. 2011.

PAGNOCCA, F.C.; SILVA, O.A.; HEBLING-BERALDO, M.J.A.; BUENO, O.C.; FERNANDES, J.B.; VIEIRA, P.C. Toxicity of sesame extracts to the symbiotic fungus of leaf-cutting ants. **Bulletin of Entomological Research**, v.80, p. 349-352. 1990.

PAGNOCCA, F.C.; RIBEIRO, S.B.; TORKOMIAN, V.L.V.; HEBLING, M.J.A.; BUENO, O.C.; SILVA, O.A.; FERNANDES, J.B.; VIEIRA, P.C.; SILVA, M.F.G.F.; FERREIRA, G. Toxicity of lignans to symbiotic fungus of leaf-cutting ants. **Journal of Chemical Ecology**, v. 22, n. 7, p. 1325-1330. 1996.

PAGNOCCA, F.C.; RODRIGUES, A.; BACCI JR, M. Microrganismos associados às formigas-cortadeiras. In: DELLA LUCIA, T.M.C. (Ed.). **Formigas-cortadeiras: da bioecologia ao manejo**. Viçosa, MG: Editora UFV. 421p. 2011.

QUINLAN, R.J.; CHERRETT, J.M. The role of fungus in the diet of the leaf-cutting ant *Atta cephalotes* (L.). **Ecological Entomology**, v. 4, p. 151-160. 1979.

RAHMAN, A.; CHOUDHARY, M.I.; FAROOQ, A.; AHMED, A.; IQBAL, M.Z.; DEMIRCI, B.; DEMIRCI, F.; BASER, K.H.C. Antifungal activities and essential oil constituents of some spices from Pakistan. **Journal of Chemical Society of Pakistan**, v. 22, n. 1, p. 60-65. 2000.

RIBEIRO, S.B.; PAGNOCCA, F.C.; VICTOR, S.R.; BUENO, O.C.; HEBLING, M.J.; BACCI, M.; SILVA, O.A.; FERNANDES, J.B.; VIEIRA, P.C.; SILVA, M.G.F. Activity of sesame leaf extracts against the symbiotic fungus of *Atta sexdens* L. **Anais da Sociedade Entomológica do Brasil**, v. 27, n. 3, p. 421-425. 1998.

ROCKWOOD, L.L. Plant selection and foraging patterns in two species of leaf-cutting ants (*Atta*). **Ecology**, v. 57, p. 48-61. 1976.

SCRAVONI, J. BOARO, C.S.F.; MARQUES, M.O.M.; FERREIRA, L.C. Yield and composition of the essential oil of *Mentha piperita* L. (Lamiaceae) grown with biosolid. **Brazilian Journal of Plant Physiology**, v. 17, n. 4, p. 345-352. 2005.

SILVA, A.; BACCI, M.JR.; SIQUEIRA, C.G.; BUENO, O.C.; PAGNOCCA, F.C.; HEBLING, M.J.A. Survival of *Atta sexdens* on different food sources. **Journal of Insect Physiology**, v.49, p. 307-313. 2003.

SINGH, G.; MAURYA, S.; LAMPASONA, M.P.; CATALAN, C.A.N. Studies on essential oils, Part 41. Chemical composition, antifungal, antioxidant and sprout suppressant activities of coriander (*Coriandrum sativum*) essential oil and its oleoresin. **Flavour and Fragrances Journal**, v. 21, p. 472-479. 2006.

STATISTICA for Windows. Statsoft, Inc, Tulsa, USA, 1999.

CONCLUSÕES GERAIS

O extrato hexânico de *Coriandrum sativum* elevou a resposta imunitária de operárias de *Atta sexdens rubropilosa*. Os extratos de *Ageratum conyzoides* e *Mentha piperita* não tiveram efeito sobre a imunocompetência dos indivíduos.

O extrato de *A. conyzoides* acelerou o metabolismo respiratório das operárias, enquanto que os outros dois extratos não afetaram seu consumo de oxigênio.

Os extratos das três espécies de planta inibiram completamente o desenvolvimento do fungo simbiote das formigas-cortadeiras.

As três espécies de plantas apresentaram efeito sobre as colônias e merecem maiores investigações para que possam ser utilizadas no manejo integrado de formigas-cortadeiras.