

INSTITUTO FEDERAL DE EDUCAÇÃO, CIÊNCIA E TECNOLOGIA DE GOIÁS -
CÂMPUS CIDADE DE GOIÁS
CURSO BACHARELADO EM AGRONOMIA

ATIVIDADE INSETICIDA DE EXTRATOS ETANÓLICOS DE LIMÃO-
CRAVO (*Citrus limonia* Osbeck) NO CONTROLE DE FORMIGAS
CORTADEIRAS

Daniel dos Santos Fernandes

GOIÁS - GO
2025

TERMO DE AUTORIZAÇÃO PARA DISPONIBILIZAÇÃO NO REPOSITÓRIO DIGITAL DO IFG - ReDi IFG

Com base no disposto na Lei Federal nº 9.610/98, AUTORIZO o Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia de Goiás, a disponibilizar gratuitamente o documento no Repositório Digital (ReDi IFG), sem ressarcimento de direitos autorais, conforme permissão assinada abaixo, em formato digital para fins de leitura, download e impressão, a título de divulgação da produção técnico-científica no IFG.

Identificação da Produção Técnico-Científica

- | | |
|--|---|
| ☐ Tese | ☐ Artigo Científico |
| ☐ Dissertação | ☐ Capítulo de Livro |
| ☐ Monografia – Especialização | ☐ Livro |
| ☒ TCC – Graduação | ☐ Trabalho Apresentado em Evento |
| ☐ Produto Técnico e Educacional - Tipo: _____ | |

Nome Completo do Autor: Daniel dos Santos Fernandes

Matrícula: 20211100090050

Título do Trabalho: Atividade Inseticida de Extratos Etanólicos de Limão Cravo (*Citrus limonia Osbeck*) no Controle de Formigas Cortadeiras

Autorização - Marque uma das opções

1. ☒ Autorizo disponibilizar meu trabalho no Repositório Digital do IFG (acesso aberto);
2. ☐ Autorizo disponibilizar meu trabalho no Repositório Digital do IFG somente após a data ____/____/____ (Embargo);
3. ☐ Não autorizo disponibilizar meu trabalho no Repositório Digital do IFG (acesso restrito).

Ao indicar a opção **2 ou 3**, marque a justificativa:

- ☐ O documento está sujeito a registro de patente.
☐ O documento pode vir a ser publicado como livro, capítulo de livro ou artigo.
☐ Outra justificativa: _____

DECLARAÇÃO DE DISTRIBUIÇÃO NÃO-EXCLUSIVA

O/A referido/a autor/a declara que:

- i. o documento é seu trabalho original, detém os direitos autorais da produção técnico-científica e não infringe os direitos de qualquer outra pessoa ou entidade;
- ii. obteve autorização de quaisquer materiais inclusos no documento do qual não detém os direitos de autor/a, para conceder ao Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia de Goiás os direitos requeridos e que este material cujos direitos autorais são de terceiros, estão claramente identificados e reconhecidos no texto ou conteúdo do documento entregue;
- iii. cumpriu quaisquer obrigações exigidas por contrato ou acordo, caso o documento entregue seja baseado em trabalho financiado ou apoiado por outra instituição que não o Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia de Goiás.

Cidade de Goiás, 19/02/2026.

Assinatura do Autor e/ou Detentor dos Direitos Autorais

Daniel dos Santos Fernandes

ATIVIDADE INSETICIDA DE EXTRATOS ETANÓLICOS DE LIMÃO-
CRAVO (*Citrus limonia* Osbeck) NO CONTROLE DE FORMIGAS
CORTADEIRAS

Trabalho de Conclusão de Curso
apresentado ao Instituto Federal de Ciência
e Tecnologia de Goiás, campus Cidade de
Goiás, sob a orientação da Profa. Dra.
Elaine Ferrari de Brito.

GOIÁS / GO
2025

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)
Biblioteca do Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia de
Goiás – Campus Cidade de Goiás

632.96

F363a Fernandes, Daniel dos Santos .

**Atividade inseticida de extratos etanólicos de limão-cravo
(*Citrus limonia Osbeck*) no controle de formigas cortadeiras /**

Daniel dos Santos Fernandes ; orientadora, Elaine Ferrari de Brito –
Cidade de Goiás, 2025.

34 f.

Trabalho de conclusão de curso (graduação) – Instituto Federal de
Educação, Ciência e Tecnologia – Campus Cidade de Goiás,
Departamento de Áreas Acadêmicas, Bacharelado em Agronomia.

1. Formigas cortadeiras. 2. *D-limoneno*. 3. Bioinseticida. I. Brito,
Elaine Ferrari de, orientadora. II. Instituto Federal de Educação,
Ciência e Tecnologia. III. Título.



INSTITUTO FEDERAL
Goiás

MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO
SECRETARIA DE EDUCAÇÃO PROFISSIONAL E TECNOLÓGICA
INSTITUTO FEDERAL DE EDUCAÇÃO, CIÊNCIA E TECNOLOGIA DE GOIÁS
CÂMPUS CIDADE DE GOIÁS

Folha de Aprovação

Daniel dos Santos Fernandes

ATIVIDADE INSETICIDA DE EXTRATOS ETANÓLICOS DE LIMÃO-CRAVO (*Citrus limonia* Osbeck) NO CONTROLE DE FORMIGAS CORTADEIRAS

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado a Coordenação do Curso de Agronomia do Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia de Goiás – Câmpus Cidade de Goiás, como parte dos requisitos para a obtenção do título de Bacharel em Agronomia.

Monografia defendida e aprovada, em 11 de dezembro de 2025, pela banca examinadora constituída pelos seguintes membros:

BANCA EXAMINADORA

Profa. Dra. Elaine Ferrari de Brito

Presidente da banca / Orientadora

Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia de Goiás

Profa. Dra. Macelle Amanda Silva Guimarães

Membro

Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia de Goiás

Prof. Dr. Gabriel Caymmi Vilela Ferreira

Membro

Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia de Goiás

Goiás – GO

2025

Documento assinado eletronicamente por:

- **Macelle Amanda Silva Guimaraes**, PROF ENS BAS TEC TECNOLOGICO-SUBSTITUTO , em 12/12/2025 10:09:09.
- **Gabriel Caymmi Vilela Ferreira**, PROFESSOR ENS BASICO TECN TECNOLOGICO, em 11/12/2025 12:00:33.
- **Elaine Ferrari de Brito**, PROFESSOR ENS BASICO TECN TECNOLOGICO, em 11/12/2025 11:57:54.

Este documento foi emitido pelo SUAP em 11/12/2025. Para comprovar sua autenticidade, faça a leitura do QRCode ao lado ou acesse <https://suap.ifg.edu.br/autenticar-documento/> e forneça os dados abaixo:

Código Verificador: 727505

Código de Autenticação: 03966a6c19



Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia de Goiás

Rua 02, Quadra 10, Lote 01 a 15, Residencial Bauman, S/N, Centro, GOIAS / GO, CEP 76600-000
(62) 3442-0212 (ramal: 0212)

SUMÁRIO

RESUMO	5
ABSTRACT	6
Keywords: <i>Atta sexdens</i> ; <i>Acromyrmex</i> ; D-limonene; bioinsecticide	6
INTRODUÇÃO	6
REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	8
1. Controle convencional de formigas cortadeiras	8
2. O uso de extratos vegetais no controle de pragas	10
3. Uso de plantas do gênero <i>Citrus</i> no controle de pragas	11
3. O uso de espécies de <i>Citrus</i> no controle de formigas cortadeiras	13
OBJETIVOS	16
1. GERAL	16
2. ESPECÍFICOS	16
METODOLOGIA	17
1. Coleta do material vegetal	17
2. Extração etanólica do material vegetal	18
Figura 1. Casca de <i>C. limonia</i> e álcool etílico 96% usados na extração do extrato.	18
Figura 2. Uso do rotoevaporador para concentração do extrato.	19
3. Coleta das formigas cortadeiras	19
4. Testes de toxicidade	19
Figura 3. Bioensaio de toxicidade.	21
Figura 4. Bioensaio de toxicidade.	22
5. Análise estatística	22
RESULTADOS	22
Figura 5. Anova - Bioensaio 1	23
Figura 6. Anova - Bioensaio 2	24
Figura 7. Anova - Bioensaio 3	25
Figura 8. Anova - Bioensaio 4	26
Figura 9. Teste Tukey ($\alpha = 0,05$) - Bioensaio 4	27
CONCLUSÕES	29
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	30

Agradecimentos

Agradeço, primeiramente, a Deus, por me conceder força, sabedoria e perseverança ao longo desta jornada acadêmica.

À minha família, pelo apoio incondicional, incentivo diário e compreensão nos momentos de ausência. À minha noiva, por todo amor, paciência e companheirismo, fundamentais para que eu chegasse até aqui.

À professora Elaine Ferrari, minha orientadora, expresso minha sincera gratidão pela paciência, dedicação e por todas as contribuições indispensáveis para a construção deste trabalho.

Ao técnico de laboratório Helton, agradeço pelo suporte essencial durante a realização dos experimentos, sempre disposto a ajudar e compartilhar conhecimento.

Ao aluno e estagiário Eduardo, deixo registrado meu reconhecimento pela colaboração na coleta das formigas e nas observações dos experimentos, contribuindo significativamente para o desenvolvimento deste estudo.

A todos que, de alguma forma, estiveram presentes e contribuíram para a conclusão deste trabalho, meu muito obrigado.

ATIVIDADE INSETICIDA DE EXTRATOS ETANÓLICOS DE LIMÃO-CRAVO (*Citrus limonia* Osbeck) NO CONTROLE DE FORMIGAS CORTADEIRAS

RESUMO

As formigas cortadeiras dos gêneros *Atta* e *Acromyrmex* constituem importantes pragas agrícolas no Brasil, ocasionando severos danos devido à sua elevada capacidade de desfolhamento e organização social. O controle convencional é baseado em inseticidas sintéticos, como fipronil e sulfluramida, que embora eficientes, apresentam elevada persistência ambiental e riscos ecotoxicológicos. Diante disso, cresce o interesse por alternativas sustentáveis, como extratos botânicos, reconhecidos por sua biodegradabilidade e diversidade de metabólitos com ação inseticida e repelente. Entre as espécies promissoras destaca-se *Citrus limonia*, cujas cascas são ricas em monoterpenos, especialmente D-limoneno. O presente estudo avaliou a atividade inseticida de extratos etanólicos de cascas de *C. limonia* sobre operárias de *Atta sexdens* e *Acromyrmex* sp. As cascas foram coletadas em sistema de produção sem agrotóxicos, processadas e submetidas à maceração em etanol 96% por 15 dias, seguida de concentração em rotoevaporador. Formigas foram coletadas na área experimental do IFG e utilizadas em quatro bioensaios, conduzidos em delineamento inteiramente casualizado, variando-se as concentrações dos extratos e dos solventes. As avaliações ocorreram entre 24 e 72 horas, contabilizando-se a mortalidade das operárias. Os ensaios permitiram verificar o efeito tóxico dos extratos cítricos e a influência das diferentes concentrações sobre a mortalidade das formigas cortadeiras, demonstrando o potencial das cascas de *C. limonia* como alternativa natural para o manejo dessas pragas. Os resultados reforçam a viabilidade de produtos botânicos como componentes sustentáveis no Manejo Integrado de Pragas (MIP), contribuindo para a redução da dependência de inseticidas sintéticos.

Palavras-chave: *Atta sexdens*; *Acromyrmex*; D-limoneno; bioinseticida;

ABSTRACT

Leaf-cutting ants of the genera *Atta* and *Acromyrmex* are major agricultural pests in Brazil, causing significant damage due to their high defoliation capacity and complex social structure. Conventional control relies mainly on synthetic insecticides, such as fipronil and sulfluramida, which, although effective, exhibit high environmental persistence and ecotoxicological risks. Consequently, there is increasing interest in sustainable alternatives, particularly botanical extracts, which are biodegradable and contain diverse metabolites with insecticidal and repellent properties. Among the promising species, *Citrus limonia* stands out for its high concentration of monoterpenes, especially D-limonene. This study evaluated the insecticidal activity of ethanolic extracts from *C. limonia* peels on workers of *Atta sexdens* and *Acromyrmex* sp. The peels were obtained from pesticide-free production systems, processed, and subjected to maceration in 96% ethanol for 15 days, followed by concentration using a rotary evaporator. Ants were collected from the experimental area of the IFG campus and used in four bioassays conducted in a completely randomized design, varying extract and solvent concentrations. Evaluations were performed between 24 and 72 hours by recording worker mortality. The experiments revealed a toxic effect of the citrus extracts and demonstrated the influence of different concentrations on leaf-cutting ant mortality. The findings highlight the potential of *C. limonia* peel extracts as a natural alternative for managing these pests, supporting the integration of botanical products into sustainable Integrated Pest Management (IPM) strategies and reducing dependence on synthetic insecticides.

Keywords: *Atta sexdens*; *Acromyrmex*; D-limonene; bioinsecticide

INTRODUÇÃO

As formigas cortadeiras dos gêneros *Atta* e *Acromyrmex* figuram entre as pragas agrícolas de maior relevância econômica no Brasil, devido à sua elevada

capacidade de desfolhamento e à eficiência de organização social, o que possibilita a construção de colônias com milhões de indivíduos (ZANETTI *et al.*, 2017). A remoção intensa de material foliar compromete o desenvolvimento de culturas anuais e perenes, afetando diretamente a produtividade e elevando os custos de manejo. Tradicionalmente, o controle dessas pragas baseia-se no uso de inseticidas sintéticos, especialmente fipronil e sulfluramida, os quais apresentam eficiência imediata, porém acarretam impactos ambientais expressivos devido à elevada persistência, toxicidade a organismos não alvo e risco de contaminação do solo e da água (TINGLE, 2003; GUNASEKARA *et al.*, 2007; SIMON-DELISO *et al.*, 2015). Além disso, resíduos e metabólitos desses compostos podem atingir níveis superiores aos da molécula original, ampliando o risco ecotoxicológico e contribuindo para o declínio de polinizadores e organismos aquáticos (GOULSON, 2013; BERNAL *et al.*, 2010).

Diante dessas limitações, cresce a demanda por alternativas sustentáveis que contribuam para a redução do uso de agroquímicos persistentes, alinhando-se aos princípios do Manejo Integrado de Pragas (MIP) e da agricultura sustentável. Nesse contexto, os extratos botânicos destacam-se como ferramentas promissoras, devido à sua biodegradabilidade, diversidade de metabólitos secundários e menor toxicidade ambiental e a organismos não-alvos, quando comparados a inseticidas sintéticos (MEDEIROS *et al.*, 2011; LOVATTO, 2012). Compostos derivados de plantas apresentam múltiplos mecanismos de ação — repelência, toxicidade por contato, inibição enzimática e distúrbios comportamentais — o que reduz o risco de resistência e favorece um controle mais equilibrado e ecologicamente compatível (BRITO *et al.*, 2015).

Entre as espécies vegetais estudadas, destaca-se o limão-cravo (*Citrus limonia*), conhecida por seu elevado teor de monoterpenos e limonoides, especialmente o D-limoneno, composto amplamente reconhecido por suas propriedades inseticidas, repelentes e antialimentares (ACEVEDO *et al.*, 2012; RIBEIRO *et al.*, 2020; VALAREZO *et al.*, 2025). Pesquisas demonstram que os extratos cítricos podem interferir no comportamento de forrageamento das formigas cortadeiras, afetar a comunicação química das operárias e atuar sobre o fungo simbiote (*Leucoagaricus gongylophorus*), organismo essencial para a manutenção das colônias (BUENO, 2002; RIBEIRO, 2016; GODOY *et al.*, 2005).

O caráter promissor da aplicação de compostos cítricos para fins agroecológicos coincide com o forte desempenho econômico da citricultura brasileira (IBGE, 2023). O Brasil figura entre os maiores produtores mundiais de óleos essenciais de laranja, com exportações que atingiram US\$ 365 milhões em 2024 (BRASIL, 2024). A abundância industrial da cadeia de processamento gera grandes volumes de resíduos, especialmente cascas, que podem ser destinados à extração de óleos essenciais e subprodutos bioativos. Esse reaproveitamento não apenas reduz impactos ambientais, mas também agrega valor à produção primária, criando uma ponte entre economia circular e agricultura sustentável. A integração de resíduos cítricos na formulação de repelentes naturais, biopesticidas e compostos antialimentares se alinha ao manejo integrado de pragas (MIP) e atende a demandas crescentes por sistemas de produção com menor dependência de inseticidas sintéticos.

Além disso, o Brasil possui forte cadeia produtiva citrícola, o que favorece a disponibilidade de biomassa e reduz custos de obtenção dos extratos, fortalecendo sua viabilidade prática no campo (IBGE, 2023).

Assim, o uso de extratos de plantas no controle de formigas cortadeiras apresenta-se como alternativa ambientalmente segura, tecnicamente viável e alinhada às demandas contemporâneas por inovação sustentável na agricultura. A investigação de sua eficiência contribui não apenas para o avanço científico da área, mas também para a construção de tecnologias acessíveis e de baixo impacto ambiental, fundamentais para sistemas produtivos mais resilientes e equilibrados.

REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

1. Controle convencional de formigas cortadeiras

A intensificação da agricultura moderna levou a uma crescente dependência de defensivos químicos sintéticos para garantir produtividade e reduzir perdas por pragas, uma lógica que se consolidou especialmente a partir de insumos com alta

eficácia imediata. Contudo, embora esses compostos ofereçam controle eficiente a curto prazo, acumula-se uma massa consistente de evidências que apontam para impactos ambientais persistentes, efeitos tóxicos em organismos não alvo e riscos à saúde humana, além do potencial de desenvolvimento de resistência nas populações de pragas (TINGLE, 2003; SIMON-DELSO *et al.*, 2015). Entre essas moléculas, o fipronil, inseticida do grupo dos fenilpirazóis, tem sido amplamente estudado devido à sua neurotoxicidade, persistência ambiental e à formação de metabólitos cuja toxicidade pode ser igual ou até superior à da molécula original, como o fipronil-sulfona e o fipronil-desulfinil, capazes de se acumular no ambiente por longos períodos (TINGLE, 2003; GUNASEKARA *et al.*, 2007; SIMON-DELSO *et al.*, 2015). A literatura descreve consistentemente que pesticidas sistêmicos como o fipronil provocam efeitos subletais e letais em polinizadores, sobretudo abelhas, afetando a orientação, a capacidade de forrageio, a reprodução e a navegação, o que contribui para o declínio populacional e compromete a manutenção de serviços ecossistêmicos essenciais à agricultura (GOULSON, 2013; HIGES *et al.*, 2009). Esses efeitos tornam-se especialmente preocupantes quando se considera que parte das aplicações ocorre de maneira preventiva, seja via tratamento de sementes ou pulverizações de amplo espectro, ampliando a exposição para além das áreas de cultivo e atingindo insetos benéficos residentes ou em trânsito nas paisagens agrícolas. Além dos impactos sobre polinizadores, o fipronil apresenta um ciclo de degradação complexo no solo e na água. Durante esse processo, seus metabólitos podem ser mais persistentes e tóxicos do que o composto original, assumindo relevância ambiental ampliada pelo transporte hídrico e pelo potencial de bioacumulação (GUNASEKARA *et al.*, 2007; TINGLE, 2003). Estudos sobre micropoluentes apontam que inseticidas e seus derivados podem contaminar corpos hídricos, afetando peixes e invertebrados aquáticos, além de se acumularem em tecidos, com risco de trânsito na cadeia trófica, especialmente em ambientes onde a lixiviação e o escoamento superficial favorecem o transporte de resíduos (SCHWARZENBACH *et al.*, 2006; BERNAL *et al.*, 2010). Em solos, evidências mostram que aplicações repetidas de inseticidas como o fipronil alteram a composição e as funções da microbiota, prejudicam organismos edáficos e interferem em processos bioquímicos essenciais, como ciclagem de nutrientes e decomposição, reduzindo a sobrevivência e a reprodução de minhocas e comprometendo serviços ecossistêmicos fundamentais à sustentabilidade produtiva

(ITO *et al.*, 2015; ALVES *et al.*, 2015). Esses efeitos negativos sobre diferentes níveis da biota reforçam que os impactos do fipronil extrapolam os alvos de controle, atingindo redes ecológicas diversas e dinâmicas de funcionamento sistêmico.

2. O uso de extratos vegetais no controle de pragas

Os extratos botânicos destacam-se como opção promissora, pois reúnem ampla gama de metabólitos secundários, como terpenos, alcaloides, fenóis e lactonas, capazes de atuar por mecanismos distintos, desde inibição enzimática e interferência hormonal até ação neurotóxica direta ou desorientação comportamental (MEDEIROS *et al.*, 2011). Esses compostos podem gerar efeitos letais, mas também subletais, com repercussões na reprodução, dispersão e alimentação das pragas, o que reduz a pressão seletiva concentrada sobre mecanismos únicos de resistência e favorece a estabilidade do controle ao longo do tempo (MEDEIROS *et al.*, 2011). Além disso, uma vantagem frequentemente relatada é a biodegradabilidade e a menor persistência ambiental desses insumos, associada a uma baixa toxicidade para mamíferos e à possibilidade de extração local com custos reduzidos, o que é particularmente interessante para pequenas propriedades e sistemas agroecológicos (LOVATTO, 2012; BRITO *et al.*, 2015).

No Brasil, espécies como a mamona (*Ricinus communis*), o nim (*Azadirachta indica*), o cravo-da-índia (*Syzygium aromaticum*), bem como representantes das famílias Piperaceas, como *Piper* spp. e Annonaceas, como *Annona muricata*, têm apresentado resultados expressivos em bioensaios e estudos aplicados, evidenciando seu potencial para o manejo de diferentes grupos de insetos (BRITO *et al.*, 2015).

Ao contrário de inseticidas sintéticos de amplo espectro, muitos extratos botânicos permitem a conservação de inimigos naturais ou até atuam como atrativos para parasitóides e predadores, especialmente quando utilizados em doses e formulações adequadas, ampliando os benefícios do controle biológico e fortalecendo a lógica do Manejo Integrado de Pragas (MEDEIROS *et al.*, 2011). Entretanto, o uso desses extratos requer padronização de métodos de obtenção, quantificação de princípios ativos, avaliação de persistência no ambiente, análise de toxicidade a organismos não alvo e estudos de campo que investiguem sua

eficácia em sistemas produtivos reais, bem como comparações que considerem custos, frequência de aplicação e efeitos colaterais (SIMON-DELISO *et al.*, 2015; GUNASEKARA *et al.*, 2007). Frente ao conjunto de evidências disponíveis, torna-se evidente que a substituição gradual do fipronil e a priorização de recursos naturais sustentáveis constituem não apenas uma opção técnica, mas uma necessidade urgente para a manutenção da funcionalidade ecológica, da segurança produtiva e da saúde humana nas paisagens agrícolas modernas.

3. Uso de plantas do gênero *Citrus* no controle de pragas

O gênero *Citrus*, amplamente cultivado no Brasil, apresenta não apenas relevância econômica, sobretudo pela produção de frutas e pela expressiva cadeia industrial de óleos essenciais, mas também configura uma importante fonte de compostos bioativos capazes de atuar no controle de insetos e patógenos agrícolas. De modo geral, os óleos essenciais extraídos de espécies cítricas são ricos em monoterpenos e sesquiterpenos, destacando-se o D-limoneno, frequentemente reportado como principal constituinte químico das cascas de laranja, limão e tangerina (ACEVEDO *et al.*, 2012; VALAREZO *et al.*, 2025). Esse composto apresenta propriedades repelentes e inseticidas e tem sido apontado como um agente capaz de provocar danos neurológicos, distúrbios alimentares e alterações fisiológicas relevantes em insetos-praga (SIQUEROLI, 2021; RIBEIRO *et al.*, 2020). A predominância do D-limoneno em *Citrus limonia* foi demonstrada por Valarezo *et al.* (2025), que, ao caracterizarem o óleo essencial extraído das cascas dos frutos, identificaram terpenos com alto potencial biológico, o que reforça a aplicabilidade deste material vegetal como ferramenta de manejo integrado de pragas.

A ação inseticida do D-limoneno ocorre por mecanismos múltiplos. Estudos laboratoriais indicam que monoterpenos atuam por contato, ingestão e fumigação, afetando tanto o sistema nervoso quanto processos metabólicos essenciais dos insetos. Em experimentos conduzidos com a broca-do-café (*Hypothenemus hampei*), Siqueroli (2021) observou que o D-limoneno, associado ao óleo de nim, promoveu elevada repelência e mortalidade, mesmo quando aplicado em concentrações moderadas. Segundo o autor, os efeitos tóxicos estão relacionados à inibição de enzimas digestivas e a disfunções neurológicas que comprometem a sobrevivência do inseto, corroborando observações de pesquisas que apontam os

monoterpenos como agentes neurotóxicos voláteis (RIBEIRO *et al.*, 2020). A literatura sobre inseticidas botânicos reforça que esses compostos afetam também receptores olfativos e gustativos, desorientando o comportamento de forrageio e dificultando a busca por alimento (ISMAN, 2006 apud RIBEIRO *et al.*, 2020), configurando-se como alternativa útil em situações onde o controle químico sintético perde eficácia.

A potencialidade dos extratos cítricos não se restringe a pragas agrícolas de produtos sólidos ou grãos armazenados. No caso do óleo essencial de limão galego (*Citrus aurantifolia*), Sousa (2023) identificou propriedades larvicidas contra *Aedes aegypti*, vetor da dengue, zika e chikungunya, com maior eficiência sobre larvas do terceiro estágio. Tal atividade é atribuída à ação conjunta de limoneno, linalol, citronelol e citronelal, compostos reconhecidamente bioativos. Esses resultados, além de expandirem a aplicabilidade dos extratos cítricos para contextos sanitários, indicam que a diversidade química dos óleos essenciais pode oferecer vantagens ecológicas ao atingir diferentes fases de desenvolvimento dos insetos.

Ao analisar espécies cítricas com foco agrícola, *Citrus limonia* (limão-cravo) se destaca tanto pelo seu potencial químico quanto pela rusticidade agrônômica. Acevedo *et al.* (2012), ao estudarem os perfis químicos dos óleos de casca de *C. limonia*, identificaram variabilidade significativa entre cultivares, especialmente na proporção de monoterpenos. Essa variabilidade, frequentemente denominada “quimiotipia”, tem implicações práticas para o controle biológico, pois influencia a magnitude da atividade inseticida e a padronização de aplicações em campo. Na perspectiva ecológica de controle de pragas, essa variação intrínseca do material vegetal pode ser explorada em programas de melhoramento genético, seleção de cultivares e otimização de extratos.

A relevância de *C. limonia* torna-se ainda mais evidente quando consideramos pragas sociais complexas, como formigas cortadeiras (*Atta* spp. e *Acromyrmex* spp.), cuja organização reprodutiva, divisão de tarefas e dependência simbiótica do fungo, *Leucoagaricus gongylophorus*, dificultam o controle convencional. Trabalhos brasileiros demonstraram que óleos essenciais podem atuar diretamente sobre o inseto ou afetar o fungo simbionte. Ribeiro *et al.* (2016) observaram que compostos voláteis interferem na capacidade de forrageio e podem prejudicar a manutenção da colônia. De forma complementar, Godoy *et al.* (2005) evidenciaram que substâncias fitoquímicas inibem o crescimento do fungo

simbionte, propondo uma estratégia de controle indireto baseada na ruptura do mutualismo. Essa abordagem, ao invés de visar exclusivamente o inseto adulto, explora vulnerabilidades do ecossistema interno da colônia, resultando em maior dano funcional e potencial redução de reinfestações.

A adoção prática de óleos essenciais demanda atenção a limitações técnicas. Compostos voláteis como o limoneno apresentam elevada taxa de evaporação, podendo reduzir a persistência do efeito em campo (RIBEIRO *et al.*, 2020). Além disso, a fotodegradação, a variabilidade química entre lotes e a fitotoxicidade em altas concentrações são aspectos que exigem protocolos adequados de formulação e aplicação. Estudos como o de Valarezo *et al.* (2025), que exploram bioatividades complementares como ação antimicrobiana e anticolinesterásica, indicam caminhos para otimização de formulações e encapsulamentos capazes de ampliar a eficácia e a estabilidade dos compostos. Nesse contexto, *Citrus limonia* reúne um conjunto de características valiosas: abundância na produção brasileira, teor significativo de monoterpenos bioativos, variabilidade química aproveitável e compatibilidade com estratégias de controle ecológico, tanto de insetos solitários quanto de pragas sociais.

3. O uso de espécies de *Citrus* no controle de formigas cortadeiras

As formigas cortadeiras, especialmente pertencentes aos gêneros *Atta* e *Acromyrmex*, constituem uma das principais pragas agrícolas do Brasil, com impactos significativos tanto em culturas anuais quanto perenes. Devido à organização social altamente estruturada e à presença de colônias que podem ultrapassar milhões de indivíduos, esses insetos apresentam grande capacidade de desfolhamento, comprometendo drasticamente a produtividade agrícola (ZANETTI *et al.*, 2017). A relevância econômica do problema torna indispensável a busca por estratégias de controle eficazes, ambientalmente seguras e tecnicamente viáveis, sobretudo diante da crescente restrição a inseticidas sintéticos de alta persistência ambiental.

Do ponto de vista do manejo convencional, destacam-se o controle mecânico, o uso de plantas armadilhas e, principalmente, o controle químico via iscas tóxicas formuladas com sulfluramida ou fipronil. No entanto, tais substâncias têm sido questionadas devido ao seu impacto adverso ao ambiente e à saúde humana. A sulfluramida foi enquadrada internacionalmente como poluente orgânico

persistente, enquanto o fipronil, apesar de eficiente, exibe alta toxicidade para organismos não alvo e efeitos deletérios sobre insetos benéficos e fauna do solo (MOTA FILHO et al., 2021). Esse contexto reforça a urgência de alternativas mais sustentáveis e compatíveis com estratégias de agricultura de base ecológica.

Entre as alternativas estudadas, os extratos vegetais e óleos essenciais obtidos de espécies do gênero *Citrus* emergem como candidatos promissores. A presença de compostos bioativos, notadamente os limonóides (limonin, nomilin) e o monoterpeno D-limoneno, confere aos cítricos propriedades antialimentares, inseticidas, fungitóxicas e repelentes (GUALDANI, 2016; ZHANG, 2017; ZHOU, 2022). Esses compostos atuam por múltiplos mecanismos: interferem na alimentação, alteram a orientação das operárias, afetam a comunicação química e podem atingir indiretamente o fungo simbiote cultivado pelas formigas, elemento central para a manutenção da colônia. A revisão química de Gualdani (2016) apresenta evidências robustas de que os limonóides exercem efeitos fisiológicos relevantes em insetos pragas, enquanto Zhang (2017) destaca a diversidade estrutural desses compostos e sua correlação com atividades biológicas. Zhou (2022) complementa ao demonstrar que derivados de nomilin e compostos correlatos podem apresentar elevada bioatividade entomológica.

O interesse aplicado sobre *Citrus limonia* decorre tanto da presença dos limonoides quanto da alta abundância do D-limoneno em sua casca e óleo essencial. Estudos experimentais com espécies de *Atta* e *Acromyrmex* demonstram que o D-limoneno pode exercer efeito repelente, interferindo diretamente no comportamento de forrageamento. Ao ser aplicado em trilhas de coleta ou proximidades do ninho, esse composto compromete a orientação das operárias e reduz sua capacidade de recrutamento, desorganizando parcialmente o sistema de coleta vegetal (RASSI, 2022). Esse tipo de perturbação comportamental é de grande relevância, uma vez que a eficiência das colônias cortadeiras depende da manutenção de rotas estáveis de forrageamento e do fluxo contínuo de material foliar para o cultivo do fungo simbiote.

A literatura também apresenta estudos empíricos que analisam os extratos cítricos como componentes atrativos de iscas. Carlos (2008), avaliando polpa de frutos cítricos, constatou maior aceitação de iscas tóxicas por *Atta sexdens rubropilosa*, indicando que compostos voláteis presentes em polpas e resíduos de *Citrus* podem ser explorados como carreadores ou coadjuvantes em formulações.

Trabalhos anteriores reforçam essa observação, como os resultados de Ramos (2006), que evidenciaram aumento na atratividade de iscas formuladas com subprodutos cítricos. Essa linha de abordagem é particularmente interessante quando se considera o potencial de reaproveitamento de resíduos agroindustriais, princípio alinhado ao conceito de agricultura circular, permitindo a redução de custos e agregando valor ambiental ao manejo (CARLOS, 2008; RAMOS, 2006).

No que concerne aos efeitos letais ou fisiológicos, estudos com óleos extraídos de sementes ou cascas cítricas revelam interferência direta sobre operárias e sobre o fungo simbiote. Bueno (2002) demonstrou que extratos de sementes de cítricos podem reduzir a viabilidade do fungo cultivado por *Atta sexdens*, ao mesmo tempo em que causam mortalidade ou desorientação de operárias expostas aos compostos. Já Ribeiro (2016) evidencia que óleos essenciais possuem atividade repelente e inseticida variável, dependente da concentração e do modo de aplicação (contato, fumigação ou exposição ambiental). Complementarmente, Pinheiro (2021) e outros trabalhos de matriz fitoinseticida reforçam a observação de que extratos vegetais, quando devidamente padronizados e aplicados, podem reduzir a atividade das forrageiras e afetar a dinâmica da colônia.

Um ponto crucial, frequentemente negligenciado em abordagens meramente letais, é o papel do fungo simbiote (*Leucoagaricus spp.*). Diferentemente de outros grupos de pragas, as formigas cortadeiras dependem exclusivamente do fungo como fonte alimentar. Assim, o controle indireto por baixa letalidade, interferindo na saúde do fungo, pode ser mais estável ao longo do tempo e menos agressivo ao ambiente (BUENO, 2002; GUALDANI, 2016). A ação antifúngica já descrita para limonoides e monoterpenos abre caminho para formulações direcionadas ao substrato de cultivo dentro da colônia, oferecendo potencial de manejo sem extermínio imediato das operárias, fator importante para evitar dispersão e formação de colônias secundárias. A composição química dos extratos de *Citrus limonia* varia conforme cultivar, condições edafoclimáticas, estágio de maturação e métodos de extração, o que resulta em forte variabilidade experimental (ZHANG, 2017).

OBJETIVOS

1. GERAL

- Avaliar a atividade inseticida de extratos etanólicos de cascas de *Citrus limonia* sobre operárias de formigas cortadeiras.

2. ESPECÍFICOS

- Realizar a extração dos compostos bioativos das cascas cítricas via liberação etanólica;
- Coletar e identificar as formigas cortadeiras;
- Avaliar a toxicidade dos extratos sobre operárias de *A. sexdens* e *Acromyrmex* sp.;

METODOLOGIA

O estudo foi desenvolvido no laboratório de química do Instituto Federal de Goiás, campus Cidade de Goiás. A metodologia de extração e avaliação da atividade inseticida seguiu protocolos adaptados de Lovatto (2012), Brito et al. (2015) e UFAM (2021), com modificações quanto ao tempo de maceração e concentração dos extratos.

1. Coleta do material vegetal

Os frutos de *C. limonia* foram coletados em junho de 2025, no município de Itaberaí, GO, em áreas de produção que não utilizam agrotóxicos. Após a coleta, os frutos foram encaminhados ao Laboratório de Química do IFG, onde foram processados. Nessa etapa, 16 frutos foram descascados, removendo-se apenas o epicarpo, sem a porção de albedo. As cascas obtidas foram então pesadas, totalizando 546 gramas de material.

2. Extração etanólica do material vegetal

Em um recipiente de 5 litros foram colocados os 546 gramas de cascas de *C. limonia*. Em seguida, adicionaram-se 1.365 mililitros de álcool etílico a 96%. O recipiente contendo a mistura foi envolto em papel-alumínio, com o objetivo de impedir a incidência de luz, e mantido lacrado em repouso por 15 dias. Esse procedimento corresponde ao processo de maceração.



Figura 1. Casca de *C. limonia* e álcool etílico 96% usados na extração do extrato.

Após o ensaio preliminar, verificou-se a necessidade de realizar a concentração do extrato, para isso a solução obtida foi filtrada e transferida para um balão apropriado. Em seguida, o material foi submetido à concentração em rotoevaporador, equipamento utilizado para remover o excesso de solvente sob condições reduzidas de pressão (Figura 2). Durante o processo, o balão contendo o extrato foi aquecido em banho-maria com temperatura controlada, enquanto o sistema de rotação aumentou a superfície de evaporação, facilitando a remoção do solvente. A pressão reduzida aplicada pelo equipamento permitiu a evaporação em temperaturas inferiores ao ponto de ebulição normal do solvente, evitando sua degradação térmica. O procedimento foi mantido até a obtenção de um extrato concentrado, que posteriormente foi armazenado em frasco âmbar e mantido sob refrigeração até as análises subsequentes.



Figura 2. Uso do rotoevaporador para concentração do extrato.

3. Coleta das formigas cortadeiras

A coleta das formigas foi realizada na área experimental do campus do IFG. Inicialmente, realizou-se a busca para localizar a saída dos ninhos de *Atta sexdens* e *Acromyrmex* sp. Espécies do gênero *Acromyrmex* apresentam ninhos com aberturas pequenas, normalmente há pouca ou nenhuma terra solta aparente e geralmente cobertos por restos vegetais. Já espécies de *Atta* spp. formam um monte de terra solta grande, denominados murundus.

Em seguida, utilizando um enxadão, foi feito um corte na saída dos ninhos, provocando o distúrbio necessário para as operárias emergirem. Sobre a abertura dos formigueiros foram colocados galhos, que serviram como superfície de passagem para as formigas. Com o auxílio de um pincel, as operárias foram coletadas cuidadosamente e transferidas para recipientes plásticos contendo um algodão umedecido com água potável. Todas as coletas foram realizadas 24 horas antes do início de todos os experimentos.

4. Testes de toxicidade

Para os testes de toxicidade foram realizados quatro bioensaios.

1. Bioensaio preliminar

Para o ensaio preliminar, utilizaram-se placas de Petri de vidro com 10 cm de diâmetro. Foram testados seis tratamentos, cada um composto por quatro

repetições, e cada repetição contendo cinco formigas da espécie *Atta sexdens* (Figura 3). Os tratamentos consistiram em: testemunha com álcool a 96% e soluções alcoólicas a 100%, 75%, 50%, 25% e 10%. O delineamento experimental adotado foi inteiramente casualizado.

A aplicação dos tratamentos foi realizada com um borrifador manual, padronizando-se três borrifadas por placa, quantidade considerada suficiente para garantir cobertura uniforme do extrato. Após a aplicação, as placas foram acondicionadas em câmara BOD, mantida a 25 °C e fotoperíodo de 14 horas. O experimento teve duração de 48 horas, com avaliações realizadas aos 24 e 48 horas. Ao final do período experimental, foi contabilizado o número de formigas mortas em cada repetição.

2. Bioensaio 2

Para o segundo ensaio, verificou-se a necessidade de realizar a concentração do extrato, e eliminação do excesso do solvente. Para isso, o material foi submetido à concentração em rotoevaporador. A solução inicial concentrada foi reduzida de 250 mL para 8,5 mL por evaporação do álcool etílico e depois diluída em água destilada. Assim como no experimento anterior, foram utilizadas placas de Petri e foram testados seis tratamentos, cada um composto por quatro repetições, e cada repetição contendo cinco formigas da espécie *Atta sexdens* (Figura 3). Os tratamentos consistiram em: testemunha, 10% de álcool etílico 96% diluído em água destilada, e soluções alcoólicas a 10%, 7,5%, 5,0%, 2,5% e 1%. A redução nas concentrações em relação ao ensaio anterior, se deu devido à concentração do extrato. O delineamento experimental adotado foi inteiramente casualizado. A aplicação dos tratamentos, acondicionamento das placas e avaliações seguiu a mesma metodologia do ensaio preliminar.



Figura 3. Bioensaio de toxicidade.

3. Bioensaio 3

No terceiro ensaio os teste foram realizados também com formigas do gênero *Acromyrmex* sp., além da espécie de *Atta sexdens*. Para esse ensaio foram realizados 7 tratamentos, cada um composto por 5 repetições e cada repetição com 7 formigas (Figura 4). Os tratamentos consistiram em: testemunho com água destilada e soluções alcoólicas a 20%, 10%, 7,5%, 5,0%, 2,5% e 1,0%. O delineamento experimental adotado foi inteiramente casualizado. A aplicação dos tratamentos, acondicionamento das placas e avaliações seguiu a mesma metodologia dos ensaios anteriores.

4. Bioensaio 4

No quarto ensaio os teste foram realizados também com formigas do gênero *Acromyrmex* sp., além da espécie de *Atta sexdens*. Para esse ensaio foram realizados 8 tratamentos, cada um composto por 5 repetições e cada repetição com 5 formigas (Figura 4). Os tratamentos consistiram em: testemunho com água destilada e soluções alcoólicas a 50%, 20%, 10%, 7,5%, 5,0%, 2,5% e 1,0%. O delineamento experimental adotado foi inteiramente casualizado. A aplicação dos tratamentos, acondicionamento das placas seguiu a mesma metodologia dos ensaios anteriores, exceto pelo tempo de avaliação que ocorreu às 24, 48, 72 e 96 h.



Figura 4. Bioensaio de toxicidade.

5. Análise estatística

No presente estudo, realizou-se inicialmente a verificação dos pressupostos necessários para a aplicação da Análise de Variância (ANOVA). Foram avaliadas a normalidade dos resíduos, a homogeneidade das variâncias entre os tratamentos e a independência das observações, garantindo que os dados atendessem aos critérios estatísticos exigidos pelo modelo. Após a confirmação desses pressupostos, procedeu-se à execução da ANOVA, a fim de identificar se havia diferenças significativas entre as médias dos tratamentos avaliados. Constatando-se significância estatística no primeiro ensaio, aplicou-se posteriormente o teste de comparações múltiplas de Tukey($p < 0,05$), que permitiu determinar especificamente quais tratamentos diferiram entre si. Foi utilizado o programa estatístico R para análise dos dados.

RESULTADOS

No bioensaio preliminar, foram avaliadas seis concentrações do extrato etanólico de *Citrus limonia* sobre operárias de *Atta sexdens*. A análise de variância indicou que não houve efeito significativo das concentrações sobre a mortalidade das formigas ($F = 0,81$; $p = 0,5447$; F crítico = 2,35; $\alpha = 0,05$).

Como o valor de F calculado foi inferior ao F crítico e o valor de p foi superior a 0,05, não se rejeita a hipótese nula, indicando ausência de diferença estatística entre os tratamentos (Figura 5).

Anova: fator duplo com repetição - Bioensaio 1							
Tratamentos/Concentrações	T1/Testemunha	T2/100%	T3/75%	T4/50%	T5/25%	T6/10%	Total
1							
Contagem	12	12	12	12	12	12	72
Soma	20	16	20	11	14	6	87
Média	1,666666667	1,333333333	1,666666667	0,916666667	1,166666667	0,5	1,208333333
Variância	5,333333333	4,96969697	4,606060606	0,992424242	1,787878788	0,454545455	2,98415493
Total							
Contagem	12	12	12	12	12	12	
Soma	20	16	20	11	14	6	
Média	1,666666667	1,333333333	1,666666667	0,916666667	1,166666667	0,5	
Variância	5,333333333	4,96969697	4,606060606	0,992424242	1,787878788	0,454545455	
ANOVA							
Fonte da variação	SQ	gl	MQ	F	valor-P	F crítico	
Amostra	0	0	65535	65535	#NÚM!	#NÚM!	
Colunas	12,29166667	5	2,458333333	0,812943633	0,544690319	2,353808958	
Interações	0	0	65535	65535	#NÚM!	#NÚM!	
Dentro	199,5833333	66	3,023989899				
Total	211,875	71					

Figura 5. Anova - Bioensaio 1.

Embora numericamente a concentração de 10% tenha apresentado menor média de sobrevivência (maior mortalidade), essa diferença não foi estatisticamente significativa. Esse resultado sugere que, na forma não concentrada do extrato, as concentrações avaliadas não foram suficientes para promover efeito tóxico consistente sobre *A. sexdens*.

No segundo bioensaio, após a concentração do extrato em rotoevaporador, a análise de variância também indicou ausência de efeito significativo das concentrações ($F = 0,57$; $p = 0,7250$; $F \text{ crítico} = 2,31$; $\alpha = 0,05$) (Figura 6).

Anova: fator duplo com repetição - Bioensaio 2							
Tratamentos/Concentrações	T1/Testemunha	T2/10%	T3/7,5%	T4/5%	T5/2,5%	T6/1%	Total
1							
Contagem	16	16	16	16	16	16	96
Soma	10	13	13	18	18	14	86
Média	0,625	0,8125	0,8125	1,125	1,125	0,875	0,895833333
Variância	0,65	0,5625	0,429166667	2,65	1,05	1,183333333	1,062719298
Total							
Contagem	16	16	16	16	16	16	
Soma	10	13	13	18	18	14	
Média	0,625	0,8125	0,8125	1,125	1,125	0,875	
Variância	0,65	0,5625	0,429166667	2,65	1,05	1,183333333	
ANOVA							
Fonte da variação	SQ	gl	MQ	F	valor-P	F crítico	
Amostra	0	0	65535	65535	#NÚM!	#NÚM!	
Colunas	3,083333333	5	0,616666667	0,567049808	0,725003651	2,315689238	
Interações	0	0	65535	65535	#NÚM!	#NÚM!	
Dentro	97,875	90	1,0875				
Total	100,9583333	95					

Figura 6. Anova - Bioensaio 2.

Novamente, o valor de F foi inferior ao F crítico, e o valor de p foi superior a 0,05, indicando que as diferentes concentrações testadas não diferiram estatisticamente quanto à mortalidade.

Apesar da concentração prévia do extrato, os resultados sugerem que os compostos bioativos presentes no material vegetal podem não ter atingido níveis suficientes para causar efeito inseticida agudo significativo nas condições experimentais adotadas.

No terceiro bioensaio, conduzido com *Atta sexdens* e *Acromyrmex* sp., a análise de variância indicou novamente ausência de efeito significativo das concentrações ($F = 1,50$; $p = 0,1910$; $F \text{ crítico} = 2,24$; $\alpha = 0,05$) (Figura 7).

Anova: fator duplo com repetição - Bioensaio 3								
Tratamentos/Concentrações	T1/Testemunha	T2/20%	T3/10%	T4/7,5%	T5/5%	T6/2,5%	T7/1%	Total
1								
Contagem	10	10	10	10	10	10	10	70
Soma	1	8	5	5	5	5	2	27
Média	0,1	0,8	0,5	0,5	0,5	0,5	0,2	0,38571429
Variância	0,1	1,066666667	0,5	0,5	0,5	0,5	0,4	0,47225673
Total								
Contagem	10	10	10	10	10	10	10	10
Soma	1	8	5	5	5	5	2	1
Média	0,1	0,8	0,5	0,5	0,5	0,5	0,2	0,1
Variância	0,1	1,066666667	0,5	0,5	0,5	0,5	0,4	0,1
ANOVA								
Fonte da variação	SQ	gl	MQ	F	valor-P	F crítico		
Amostra	0	0	65535	65535	#NÚM!	#NÚM!		
Colunas	4,085714286	6	0,680952381	1,505263158	0,191025407	2,246407983		
Interações	0	0	65535	65535	#NÚM!	#NÚM!		
Dentro	28,5	63	0,452380952					
Total	32,58571429	69						

Figura 7. Anova - Bioensaio 3.

Embora o valor de F tenha sido superior ao observado nos bioensaios anteriores, ainda permaneceu inferior ao F crítico, e o valor de p foi maior que 0,05.

Observou-se tendência numérica de maior mortalidade nas concentrações intermediárias (especialmente 20%), porém sem diferença estatística. Isso pode indicar que há uma possível resposta dose-dependente inicial, mas ainda insuficiente para gerar efeito estatisticamente detectável.

A inclusão do gênero *Acromyrmex* não alterou significativamente o padrão de resposta, sugerindo comportamento semelhante entre os gêneros quanto à suscetibilidade ao extrato nas condições avaliadas.

No quarto bioensaio, que incluiu maior amplitude de concentrações e maior período de avaliação (até 96 horas), a análise de variância revelou resultado distinto.

Houve efeito significativo do fator “amostra” (espécie) ($F = 17,17$; $p = 5,79 \times 10^{-5}$; $F \text{ crítico} = 3,90$; $\alpha = 0,05$), indicando diferença estatística entre *Atta sexdens* e *Acromyrmex sp.* quanto à mortalidade (Figura 8).

Anova: fator duplo com repetição - Bioensaio 4									
Tratamentos/Concentrações	T1/Testemunha	T2/50%	T3/20%	T4/10%	T5/7,5%	T6/5%	T7/2,5%	T8/1%	Total
1									
Contagem	10	10	10	10	10	10	10	10	80
Soma	5	5	6	7	6	6	8	7	50
Média	0,5	0,5	0,6	0,7	0,6	0,6	0,8	0,7	0,625
Variância	0,5	0,277777778	0,488888889	0,677777778	0,933333333	0,711111111	0,622222222	0,455555556	0,54113924
1									
Contagem	10	10	10	10	10	10	10	10	80
Soma	10	12	15	12	12	12	12	15	100
Média	1	1,2	1,5	1,2	1,2	1,2	1,2	1,5	1,25
Variância	0,888888889	0,4	2,722222222	1,066666667	0,844444444	1,511111111	0,844444444	1,611111111	1,15189873
Total									
Contagem	20	20	20	20	20	20	20	20	
Soma	15	17	21	19	18	18	20	22	
Média	0,75	0,85	1,05	0,95	0,9	0,9	1	1,1	
Variância	0,723684211	0,45	1,734210526	0,892105263	0,936842105	1,147368421	0,736842105	1,1473684	
ANOVA									
Fonte da variação	SQ	gl	MQ	F	valor-P	F crítico			
Amostra	15,625	1	15,625	17,17557252	5,78933E-05	3,906848991			
Colunas	1,775	7	0,253571429	0,278735005	0,961401924	2,073730331			
Interações	0,975	7	0,139285714	0,153107961	0,993315286	2,073730331			
Dentro	131	144	0,909722222						
Total	149,375	159							

Figura 8. Anova - Bioensaio 4.

Por outro lado, o fator “concentração” não foi significativo ($F = 0,28$; $p = 0,9614$), como também a interação espécie $\times$ concentração também não foi significativa ($F = 0,15$; $p = 0,9933$).

Como no quarto bioensaio apresentou diferença estatística, foi realizado o teste Tukey. O teste de comparação de médias de Tukey ($\alpha = 0,05$) indicou ausência de diferença significativa entre as concentrações avaliadas no Bioensaio 4, uma vez que nenhuma das comparações apresentou diferença superior à DMS (0,928). Assim, todas as concentrações testadas pertencem ao mesmo grupo estatístico, corroborando o resultado da ANOVA, que não indicou efeito significativo do fator concentração (Figura 9).

Médias e grupos (Tukey 5%) - Bioensaio 4		
Tratamento	Média	Grupo
T1 (testemunha)	0,75	a
T2(50%)	0,85	a
T3(20%)	1,05	a
T4(10%)	0,95	a
T5(7,5%)	0,9	a
T6(5%)	0,9	a
T7(2,5%)	1	a
T8(1%)	1,1	a

Figura 9. Teste Tukey ($\alpha = 0,05$) - Bioensaio 4.

DISCUSSÃO

Os resultados obtidos no presente estudo indicam que os extratos etanólicos de cascas de *Citrus limonia* não promoveram efeito inseticida agudo estatisticamente significativo sobre operárias de *Atta sexdens* e *Acromyrmex* nas condições experimentais avaliadas, especialmente nos três primeiros bioensaios. Embora tenham sido observadas variações numéricas na mortalidade entre as concentrações testadas, tais diferenças não foram confirmadas estatisticamente pela análise de variância, indicando que o efeito tóxico direto do extrato, por contato, foi limitado nas concentrações e no período de exposição adotados.

Esses achados contrastam parcialmente com estudos que relatam atividade inseticida e repelente de compostos cítricos, especialmente em função da presença de monoterpenos como o D-limoneno (RIBEIRO et al., 2020; SIQUEROLI, 2021). No entanto, é importante considerar que grande parte desses estudos utilizou óleos essenciais obtidos por hidrodestilação ou arraste a vapor, métodos que concentram frações voláteis específicas. No presente trabalho, empregou-se extração etanólica por maceração, técnica que pode resultar em composição química distinta, incluindo compostos menos voláteis e, possivelmente, menor concentração relativa de D-

limoneno. Assim, a diferença metodológica na obtenção do extrato pode explicar, ao menos em parte, a ausência de efeito significativo nos bioensaios iniciais.

Outro fator relevante diz respeito à forma de aplicação. Os bioensaios foram conduzidos por pulverização direta nas operárias, priorizando a avaliação de toxicidade por contato. Entretanto, conforme discutido por ISMAN (2006) e RIBEIRO et al. (2020), monoterpenos frequentemente apresentam maior eficácia por fumigação ou ação repelente, interferindo no comportamento e na comunicação química dos insetos, em vez de promover mortalidade imediata. No caso das formigas cortadeiras, cuja organização social depende fortemente de trilhas químicas e recrutamento coletivo, alterações comportamentais podem ter impacto mais expressivo que a toxicidade aguda isolada.

No quarto bioensaio, observou-se efeito significativo para o fator “espécie”, indicando diferença na mortalidade entre *Atta sexdens* e *Acromyrmex*, independentemente da concentração aplicada. Esse resultado sugere que fatores biológicos intrínsecos, como diferenças fisiológicas, espessura do tegumento, metabolismo detoxificante ou organização comportamental, podem influenciar a suscetibilidade aos compostos presentes no extrato. A literatura aponta que espécies de *Atta* e *Acromyrmex* apresentam variações ecológicas e fisiológicas que podem refletir em respostas distintas a agentes químicos (ZANETTI et al., 2017).

A ausência de efeito significativo da concentração, mesmo com ampliação da faixa testada (até 50%) e aumento do período de avaliação (96 horas), pode indicar que a concentração dos compostos bioativos no extrato final ainda foi insuficiente para gerar efeito inseticida letal consistente. Além disso, deve-se considerar a possível volatilização ou degradação dos monoterpenos durante o processo de maceração prolongada e durante a evaporação do solvente, fatores que podem reduzir a atividade biológica final do extrato.

É importante destacar que o controle de formigas cortadeiras não depende exclusivamente da mortalidade direta das operárias. Estudos demonstram que compostos vegetais podem atuar indiretamente sobre o fungo simbiote cultivado pelas formigas, o *Leucoagaricus gongylophorus*, comprometendo a base alimentar da colônia (BUENO, 2002; GODOY et al., 2005). Como o presente estudo avaliou apenas mortalidade de operárias isoladas, não foram analisados possíveis efeitos subletais, comportamentais ou antifúngicos, que poderiam revelar potencial de controle indireto não detectado pelos bioensaios realizados.

Outro aspecto a considerar é a complexidade social dessas pragas. Colônias de formigas cortadeiras apresentam alta capacidade de resiliência, com divisão de trabalho e mecanismos de higiene social que reduzem a eficácia de agentes tóxicos isolados. Dessa forma, resultados promissores em bioensaios laboratoriais nem sempre se traduzem em impacto populacional significativo, e, inversamente, efeitos aparentemente discretos podem adquirir relevância quando integrados a estratégias de Manejo Integrado de Pragas (MIP).

Sob a perspectiva agroecológica, mesmo na ausência de efeito inseticida estatisticamente significativo, o estudo contribui ao demonstrar os limites da aplicação direta do extrato etanólico de *C. limonia* nas condições testadas. Esse resultado é cientificamente relevante, pois evidencia a necessidade de aprimoramento metodológico, seja por meio da utilização de óleos essenciais concentrados, formulações encapsuladas que reduzam volatilização, associação com atrativos em iscas ou avaliação da ação sobre o fungo simbiote.

CONCLUSÕES

Os extratos etanólicos de cascas de *Citrus limonia* não apresentaram efeito inseticida agudo estatisticamente significativo sobre operárias de *Atta sexdens* e *Acromyrmex* nas condições experimentais adotadas.

Nos três primeiros bioensaios, as diferentes concentrações testadas não promoveram mortalidade diferenciada entre os tratamentos, mesmo após a concentração do extrato em rotoevaporador. No quarto bioensaio, verificou-se diferença significativa entre as espécies avaliadas, indicando variação na suscetibilidade biológica entre os gêneros, porém sem efeito significativo das concentrações ou da interação entre espécie e concentração.

Dessa forma, conclui-se que, na forma de extração etanólica por maceração e na aplicação por contato direto, o extrato de cascas de *C. limonia* não demonstrou eficiência como agente inseticida letal para operárias isoladas de formigas cortadeiras.

Conclui-se, portanto, que embora o extrato etanólico de *Citrus limonia* não tenha apresentado toxicidade aguda significativa nas condições testadas, a espécie permanece como candidata promissora para investigações complementares dentro de estratégias sustentáveis de Manejo Integrado de Pragas (MIP), especialmente

considerando a disponibilidade de resíduos cítricos e o potencial de agregação de valor agroindustrial.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ACEVEDO, B. et al. Chemical profiles of Rangpur lime (*Citrus limonia*) peel oils of different cultivars. *Journal of Essential Oil Research*, v. 24, n. 3, p. 285–289, 2012.

ALVES, P. R. L. et al. Toxicity of fipronil to earthworms. *Ecotoxicology*, v. 24, n. 3, p. 645–656, 2015.

BERNAL, J. L. et al. Determination of fipronil and its metabolites in water and fish samples. *Journal of Chromatography A*, v. 1217, p. 4529–4536, 2010.

BRITO, D. R. et al. Potencial inseticida de espécies vegetais no controle de pragas agrícolas. *Revista Brasileira de Plantas Medicinais*, v. 17, n. 4, p. 751–760, 2015.

BUENO, Odair. Extrações de óleos de sementes de citros e suas atividades sobre a formiga cortadeira *Atta sexdens* e seu fungo simbionte. 2002.

BRASIL. Ministério do Desenvolvimento, Indústria, Comércio e Serviços. *Comex Stat: Estatísticas de Comércio Exterior*. Disponível em: <https://comexstat.mdic.gov.br>. Acesso em: 08 de janeiro de 2025.

CARLOS, Amanda Aparecida. Influência da polpa cítrica, do óleo e de fungos filamentosos na atratividade de iscas tóxicas à *Atta sexdens rubropilosa* (Hymenoptera, Formicidae). 2008. Dissertação (Mestrado) – Universidade Estadual Paulista, Botucatu.

D7RH5S3NXMPY4. Ficha Técnica de Segurança – Álcool Etílico a 96%. Disponível em: https://d7rh5s3nxmpy4.cloudfront.net/CMP4583/files/f4256feff06efec9c060d194f7b643d7/573664_FichaTecnica_Seguranca.pdf. Acesso em: 07 dez. 2025.

Flamagel. FISPQ – Álcool Etílico Hidratado 96%. Disponível em: <http://flamagel.com.br/documentos/fispq%20alcool%2096.pdf>. Acesso em: 07 dez. 2025.

GODOY, M. F. P. et al. Inhibition of the symbiotic fungus of leaf-cutting ants. *Journal of the Brazilian Chemical Society*, v. 16, n. 4, p. 669–675, 2005.

GOUISON, D. Review: An overview of the environmental risks posed by neonicotinoid insecticides. *Journal of Applied Ecology*, v. 50, n. 4, p. 977–987, 2013.

GUALDANI, Riccardo. *The Chemistry and Pharmacology of Citrus Limonoids*. 2016.

GUNASEKARA, A. S.; TROUNG, T.; et al. Environmental fate of fipronil. *Journal of Pesticide Science*, v. 32, p. 189–199, 2007.

GOV.BR. Exportações brasileiras de óleo essencial de laranja atingem US\$ 365 milhões em 2024. Ministério da Agricultura e Pecuária. 2024.

HIGES, M. et al. Honeybee colony collapse due to *Nosema ceranae* in professional apiaries. *Environmental Microbiology Reports*, v. 3, n. 1, p. 103–113, 2009.

IBGE – Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. *Produção Agrícola Municipal: culturas temporárias e permanentes*. Rio de Janeiro: IBGE, 2023. Disponível em: <https://sidra.ibge.gov.br/pesquisa/pam>. Acesso em: 12 de junho. 2025.

ISMAN, M. B. Botanical insecticides: for richer, for poorer. *Pest Management Science*, v. 62, n. 1, p. 8–11, 2006.

ITO, M. et al. Fipronil-induced alterations in soil microbial activity and nitrogen cycling. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, v. 119, p. 226–232, 2015.

LOVATTO, P. B. Extratos vegetais no controle de insetos-praga: uma revisão. *Revista Agropecuária Catarinense*, v. 25, n. 3, p. 15–21, 2012.

MEDEIROS, R. S. et al. Uso de extratos vegetais no manejo de insetos-praga. *Revista Caatinga*, v. 24, n. 3, p. 122–130, 2011.

MOTA FILHO, et al. Impactos ambientais e restrições regulatórias de inseticidas utilizados no controle de formigas cortadeiras. 2021.

PINHEIRO, Heloísa Safira S. Atividade inseticida de extratos vegetais em formigas cortadeiras. 2021.

RAMOS, V. M. Atratividade de iscas de polpa cítrica pulverizadas com compostos voláteis. *Tropical Grasslands*, 2006.

RASSI, L. Potencial repelente do D-limoneno no controle de formigas cortadeiras. 2022.

RIBEIRO, N. D. E. C. et al. Insecticidal potential of citrus and mango essential oils: lethal and sublethal effects. *Revista Brasileira de Ciências Agrárias*, v. 15, n. 1, p. 1–9, 2020.

RIBEIRO, R. C. et al. Potential use of essential oils to control the leaf-cutting ants. *Anais do Instituto de Biociências*, v. 88, p. 1–10, 2016.

SCHWARZENBACH, R. P. et al. The challenge of micropollutants in aquatic systems. *Science*, v. 313, p. 1072–1077, 2006.

SIMON-DELSO, N. et al. Systemic insecticides (neonicotinoids and fipronil): trends, uses, mode of action and metabolites. *Environmental Science and Pollution Research*, v. 22, p. 5–34, 2015.

SIQUEROLI, A. L. Potencial inseticida do D-limoneno e do óleo de nim no controle de *Hypothenemus hampei*. Trabalho de Conclusão de Curso — Universidade Federal de Lavras, 2021.

SOUSA, J. R. Avaliação do efeito larvicida do óleo essencial de *Citrus aurantifolia* sobre *Aedes aegypti*. Dissertação (Mestrado) — Universidade Estadual do Ceará, 2023.

TINGLE, C. C. D. et al. Fipronil: environmental fate, ecotoxicology, and human health concerns. *Reviews of Environmental Contamination and Toxicology*, v. 176, p. 1–66, 2003.

UMCOMOSAÚDE. Para que serve o álcool 96 graus. Disponível em: <https://saude.umcomo.com.br/artigo/para-que-serve-o-alcool-96-graus-29322.html>. Acesso em: 07 dez. 2025.

VALAREZO, E. et al. Chemical and Biological Study of the Essential Oil Isolated from Fruits of *Citrus x limonia*. *Plants*, v. 14, n. 2, 2025.

VERQUIMICA. Ficha de Dados de Segurança – Etanol Hidratado (Álcool 96). Disponível em: https://www.verquimica.com.br/wp-content/uploads/2025/01/FDS-ETANOL-HIDRATADO-Alcool-96_REVISAO-12.pdf. Acesso em: 07 dez. 2025.

ZANETTI, R. et al. Formigas cortadeiras: manejo, impactos e biologia. 2017.

ZHANG, Yi. Recent progress in the chemistry and biology of limonoids. *RSC Advances*, 2017.

ZHOU, Z. Nomilin and its analogues in Citrus fruits: A review. *Molecules*, 2022.