

UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO
CENTRO DE BIOCÊNCIAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BIOQUÍMICA E FISIOLOGIA

TESE DE DOUTORADO

BIOATIVIDADE E CARACTERIZAÇÃO QUÍMICA DE ÓLEOS ESSENCIAIS DE
Croton argenteus, *Croton laceratoglandulosus* E *Croton urticifolius* **SOBRE** *Sitophilus*
zeamais E *Tribolium castaneum*

CILENE REJANE INÁCIO DE MAGALHÃES LIRA

ORIENTADORA: PROFA. DRA. PATRÍCIA MARIA GUEDES PAIVA
COORIENTADOR: PROF. DR. CARLOS ROMERO FERREIRA DE OLIVEIRA

RECIFE

2020

CILENE REJANE INÁCIO DE MAGALHÃES LIRA

BIOATIVIDADE E CARACTERIZAÇÃO QUÍMICA DE ÓLEOS ESSENCIAIS DE *Croton argenteus*, *Croton laceratoglandulosus* E *Croton urticifolius* SOBRE *Sitophilus zeamais* E *Tribolium castaneum*

Tese apresentada para o cumprimento parcial das exigências para obtenção de título de Doutor em Bioquímica e Fisiologia pela Universidade Federal de Pernambuco.

Orientadora: Profa. Dra. Patrícia Maria Guedes Paiva

Co-orientador: Prof. Dr. Carlos Romero Ferreira de Oliveira

RECIFE

2020

Catálogo na Fonte:
Bibliotecário Bruno Márcio Gouveia, CRB-4/1788

Lira, Cilene Rejane Inácio de Magalhães

Bioatividade e caracterização química de óleos essenciais de *Croton argenteus*, *Croton laceratoglandulosus* e *Croton urticifolius* sobre *Sitophilus zeamais* e *Tribolium castaneum* / Cilene Rejane Inácio de Magalhães Lira. - 2020.

142 f. : il.

Orientadora: Profa. Dra. Patrícia Maria Guedes Paiva.

Coorientador: Prof. Dr. Carlos Romero Ferreira de Oliveira.

Tese (doutorado) – Universidade Federal de Pernambuco. Centro de Biociências. Programa de Pós-graduação em Bioquímica e Fisiologia, Recife, 2020.

Inclui referências.

1. Pragas agrícolas – Controle. 2. Inseticidas. 3. Plantas da Caatinga. I; Paiva, Patrícia Maria Guedes (orientadora). II. Oliveira, Carlos Romero Ferreira de (coorientador) III. Título.

632.9

CDD (22.ed.)

UFPE/CB-2021-369

CILENE REJANE INÁCIO DE MAGALHÃES LIRA

BIOATIVIDADE E CARACTERIZAÇÃO QUÍMICA DE ÓLEOS ESSENCIAIS DE *Croton argenteus*, *Croton laceratoglandulosus* E *Croton urticifolius* SOBRE *Sitophilus zeamais* E *Tribolium castaneum*

Tese apresentada para o cumprimento parcial das exigências para obtenção de título de Doutor em Bioquímica e Fisiologia pela Universidade Federal de Pernambuco

Banca Examinadora

Profa. Dra. Patrícia Maria Guedes Paiva (Orientadora)

Departamento de Bioquímica – Universidade Federal de Pernambuco

Prof. Dr. Thiago Henrique Napoleão (Membro interno)

Departamento de Bioquímica – Universidade Federal de Pernambuco

Profa. Dra. Luana C. B. B. Coelho (Membro interno)

Departamento de Bioquímica – Universidade Federal de Pernambuco

Dra. Ana Patrícia Silva de Oliveira (Membro externo)

Departamento de Bioquímica – Universidade Federal de Pernambuco

Prof. Dr. Roberto Araújo Sá (Membro externo)

Centro Acadêmico do Agreste – Universidade Federal de Pernambuco

DATA: 31/01/2020

A Deus, pela realização deste trabalho;
Aos meus pais, Célia (in memoriam) e Sebastião, pelo amor incondicional;
A Renan, meu amado esposo, pelo companheirismo, paciência, incentivo e amor;
Dedico!

AGRADECIMENTOS

A Deus, pelo dom da vida, pela sua providência durante todos os momentos desta pesquisa, por todas as bênçãos e graças derramadas a cada dia, por me fazer entender que Ele é o caminho pra tudo.

Acredito que ninguém chega a nenhum lugar sozinho, atribuo esta conquista à contribuição de muitas pessoas que compartilharam seus conhecimentos e disponibilizaram o tempo e espaço a mim e aos quais devo minha sincera gratidão...

Aos meus pais Célia Maria de Oliveira (in memorian) e Sebastião Inácio de Oliveira, pelo seu amor e carinho, por todo o apoio, força e confiança que sempre me dedicaram e que jamais conseguirei retribuir. Agradeço por me ensinarem a amar os estudos e por me proporcionarem, com muita luta e esforço, todo o alicerce para que a conquista deste sonho fosse possível.

Aos meus irmãos, Célis, Júnior, Celivane, Francisco e Cristina, pelo amor incondicional e por todo o apoio e torcida para que tudo desse certo.

Ao meu esposo Renan, obrigada por tudo. Por estar sempre ao meu lado, pela paciência, pelo apoio moral, pelas soluções e melhorias para minhas extrações, por estar comigo na UAST em praticamente todos os fins de semana e feriados até altas horas da noite, pelas longas caminhadas para fazer coletas, pela compreensão ilimitada, pelo carinho e amor demonstrado a mim todos os dias, pois eu sei que não tem sido fácil! Não conseguiria chegar até aqui sem sua ajuda! Obrigada por tudo! Amo você!

Ao amor da minha vida, Bernardo! Obrigada por existir em minha vida e por algumas vezes ter dado uma ajudinha à mamãe, tirando uns cochilinhos.

O meu muito obrigada à minha orientadora, profa. Dra. Patrícia Maria Guedes Paiva, que me acolheu desde o primeiro instante. Agradeço de coração pela confiança, dedicação e por todos os ensinamentos ao longo desses quatro anos. Obrigada por nos inspirar, através do seu amor à ciência, dedicação e competência no que se propõe a fazer, a sermos bons profissionais e educadores.

À Universidade Federal Rural de Pernambuco/Unidade Acadêmica de Serra Talhada, ao Programa de Pós-Graduação em Produção Vegetal, pela disponibilização dos laboratórios e equipamentos para realização dos experimentos.

Aos Professores da UAST- UFRPE, Cláudia Helena C. M. de Oliveira por todo apoio e ao Prof. Dr. Carlos Romero Ferreira de Oliveira pela co-orientação, por toda ajuda, incentivo e paciência desde o início da graduação! Não tenho palavras para agradecer por

tudo que o senhor fez por mim até aqui. Serei sempre grata por toda confiança e liberdade concedida e pelo investimento na minha formação.

Ao Prof. Dr. André Laurênio de Melo, do Departamento de Biologia da UAST/UFRPE/Herbário do Semiárido do Brasil (HESBRA), pela identificação das espécies botânicas, pelas longas caminhadas e por todas as vezes que me ajudou a encontrar as espécies de plantas. Sem sua ajuda não teria conseguido!

À Profa. Daniela Navarro, pela disponibilização do equipamento de cromatografia gasosa acoplada a espectrometria de massas e Júlio pelo valioso auxílio na realização das análises.

À Dra. Thâmarah Albuquerque, por toda ajuda na elaboração dessa tese.

À Universidade Federal de Pernambuco, especificamente ao Departamento de Bioquímica e Fisiologia, pela oportunidade de realizar meu sonho de concretizar o doutorado.

A todos os professores do Programa de Pós-Graduação em Bioquímica e Fisiologia pelos valiosos ensinamentos.

A uma amiga muito especial, Yasmin, pelos anos de amizade, o companheirismo, a presença nos momentos difíceis e alegres, o apoio e principalmente pela sua disponibilidade em sempre me ajudar. “Min”, obrigada por tudo, por ter tido tanta paciência comigo, não chegaria até aqui sem sua ajuda.

À minha amiga Clécia, que está comigo da graduação ao doutorado, sempre me dando força, foram muitos choros, mas chegamos e vencemos!

Aos amigos Antonielson e Patryck que foram fundamentais no auxílio das extrações. Muito obrigada pela ajuda em todos os experimentos e pela amizade.

A Antunes pela substancial ajuda na análise estatística.

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPQ) e em especial a Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) pelo apoio financeiro e oportunidade de realizar esta pesquisa.

A todos, muito obrigada!

O sertanejo é, antes de tudo, um forte.

(Euclides da Cunha, “Os Sertões”).

RESUMO

Dentre as pragas que atacam o milho (*Zea mays* L.), *Sitophilus zeamais* e *Tribolium castaneum* destacam-se por ser responsáveis por perdas qualitativas e quantitativas nos grãos armazenados. Inseticidas sintéticos fumigantes e protetores são muito utilizados no controle desses insetos, porém são tóxicos ao homem e podem induzir o surgimento de populações resistentes. Plantas com ação inseticida têm sido cada vez mais utilizadas como método alternativo no controle contra as principais pragas que ocorrem em produtos armazenados. Neste trabalho, o óleo essencial obtido das folhas de *Croton argenteus*, *Croton laceratoglandulosus*, *Croton urticifolius* foram extraídos por hidrodestilação e caracterizados quanto à constituição química. Os óleos foram avaliados quanto à toxicidade contra *Sitophiluszeamais* e *Tribolium castaneum* por bioensaios de fumigação e ingestão. Parâmetros como repelência, emergência e taxa instantânea de crescimento, bem como parâmetros nutricionais foram determinados. A análise por cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massas (GC/MS) revelou que o óleo essencial de *C. argenteus*, *C. laceratoglandulosus*, *C. urticifolius* são ricos em terpenos com conhecida atividade inseticida; sendo o (E)-Cariofileno (23,38%) o majoritário para *C. argenteus* e o biciclogermacreno majoritário para o *C. laceratoglandulosus* com 28,08%, e *C. urticifolius* com 44,53%. Os óleos induziram a mortalidade das duas espécies de coleópteros, tanto por fumigação quanto por ingestão. Bioensaios de fumigação apresentaram CL₅₀ (que é a concentração de uma substância que causa a mortalidade da metade dos indivíduos) de 5,75 e 1,7 µg/g para o óleo de *C. argenteus*, 1,65 µL/g e 2,2 µL/g para *C. laceratoglandulosus* e 2,6 µL/g e 2,371 para *C. urticifolius*, para *S. zeamais* e *T. castaneum* respectivamente. A toxicidade por ingestão apresentou LC₅₀ maiores correspondendo a 35,22 e 27,5 µg/g para *C. argenteus*, 35,22 e 27,5 µg/g para *C. laceratoglandulosus* e 27,74 µL/g e 48,4 µL/g para *C. urticifolius*, para *S. zeamais* e *T. castaneum* respectivamente. A toxicidade por fumigação dos 3 óleos reduziu a taxa instantânea de crescimento, por promover repelência e diminuição da emergência de novos indivíduos. A toxicidade por ingestão ocorreu por promover efeitos anti-nutricionais que causaram perda de biomassa. Em conclusão, o óleo essencial de folhas de *C. argenteus*, *C. laceratoglandulosus* e *C. urticifolius* apresentaram toxicidade contra os insetos praga *S. zeamais* e *T. castaneum*, podendo ser um potencial agente inseticida.

Palavras-chaves: Caatinga; Caracterização química; *Croton*; Óleos voláteis.

ABSTRACT

Among the pests that attack maize (*Zea mays* L.), *Sitophilus zeamais* and *Tribolium castaneum* stand out for being responsible for qualitative and quantitative losses in stored grains. Fumigant and protective synthetic insecticides are widely used to control these insects, but they are toxic to humans and can induce the emergence of resistant populations. Plants with insecticidal action have been increasingly used as an alternative method to control the main pests that occur in stored products. In this work, the essential oil obtained from the leaves of *Croton argenteus*, *Croton laceratoglandulosus*, *Croton urticifolius* were extracted by hydrodistillation and characterized for chemical constitution. The oils were evaluated for toxicity against *Sitophilus zeamais* and *Tribolium castaneum* by fumigation bioassays and ingestion. Parameters such as repellency, emergence and instantaneous growth rate, as well as nutritional parameters were determined. GC/MS analysis revealed that *C. argenteus*, *C. laceratoglandulosus*, *C. urticifolius* essential oils are rich in terpenes with known insecticidal activity; being the (E)-Caryophyllene (23.38%) the majority for *C. argenteus* and the bicyclogermacrene major for *C. laceratoglandulosus* with 28.08%, and *C. urticifolius* with 44.53%. The oils induced mortality of both species of beetles, both by fumigation and ingestion. Fumigation bioassays presented LC_{50} of 5.75 and 1.7 $\mu\text{g/g}$ for *C. argenteus* oil, 1.65 and 2.2 $\mu\text{L/g}$ for *C. laceratoglandulosus* and 2.6 and 2.371 $\mu\text{L/g}$ for *C. urticifolius*, for *S. zeamais* and *T. castaneum* respectively. Ingestion toxicity showed higher LC_{50} than fumigation corresponding to 35.22 and 27.5 $\mu\text{g/g}$ for *C. argenteus*, 35.22 and 27.5 $\mu\text{g/g}$ for *C. laceratoglandulosus* and 27.74 and 48.4 $\mu\text{L/g}$ for *C. urticifolius*, for *S. zeamais* and *T. castaneum* respectively. The fumigation toxicity of the 3 oils reduced the instantaneous growth rate by promoting repellency and reducing the emergence of new individuals. Ingestion toxicity occurred by promoting anti-nutritional effects that caused loss of biomass. In conclusion, the essential oil of *C. argenteus*, *C. laceratoglandulosus* and *C. urticifolius* leaves showed toxicity against the insects *S. zeamais* and *T. castaneum*, and may be a potential insecticide agent.

Keywords: Caatinga; Chemical characterization; *Croton*; Volatile oils.

LISTA DE FIGURAS

FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

Figura 1 – Estrutura geral dos terpenoides e fenilpropanoides.....	19
Figura 2 – Representantes de monoterpenóides: a) acíclico; b) monocíclico e c) bicíclico e sesquiterpenoides: d) acíclico; e) monocíclico e f) bicíclico.....	20
Figura 3 – Estrutura de alguns fenilpropanóides.....	21
Figura 4 – <i>Croton argenteus</i> desenvolvendo-se nas bordas de lagoa no Parque Estadual Mata da Pimenteira em Serra Talhada-PE.....	35
Figura 5 – Folha de <i>Croton argenteus</i>	35
Figura 6 – Arbusto e folhas de <i>Croton laceratoglandulosus</i>	36
Figura 7 – Planta inteira e folhas de <i>Croton urticifolius</i>	37

ARTIGO 1

Figura 1 – Efeito fumigante do óleo essencial de <i>C. argenteus</i> sobre adultos de <i>S. zeamais</i> (A) e <i>T. castaneum</i> (B).....	68
Figura 2 – Mortalidade de adultos de <i>S. zeamais</i> alimentados com dieta artificial contendo óleo essencial de <i>C. argenteus</i>	70
Figura 3 – Parâmetros nutricionais de adultos de <i>S. zeamais</i> alimentados com dieta artificial contendo óleo essencial de <i>C. argenteus</i> : A) Ganho relativo de biomassa; B) ECAI: Eficiência de conversão do alimento ingerido.....	71
Figura 4 – Mortalidade de adultos de <i>T. castaneum</i> alimentados com dieta artificial contendo óleo essencial de <i>C. argenteus</i>	71
Figura 5 – Parâmetros nutricionais de adultos de <i>T. castaneum</i> alimentados com dieta artificial contendo óleo essencial de <i>C. argenteus</i> . A) Ganho relativo de biomassa; B. ECAI: Eficiência de conversão do alimento ingerido.....	72
Figura 6 – Efeito do óleo essencial de <i>C. argenteus</i> sobre a taxa instantânea de crescimento (r_i) de <i>S. zeamais</i> (A) e <i>T. castaneum</i> (B).....	76

ARTIGO 2

Figura 1 – Efeito fumigante do óleo essencial de <i>C. laceratoglandulosus</i> sobre <i>S. zeamais</i> (A) e <i>T. castaneum</i> (B).....	92
Figura 2 – Mortalidade de <i>S. zeamais</i> alimentados com dieta artificial incluída com óleo essencial de <i>C. laceratoglandulosus</i>	94
Figura 3 – Parâmetros nutricionais de <i>S. zeamais</i> alimentados com dieta artificial contendo óleo essencial de <i>C. laceratoglandulosus</i> . A. TGB: Taxa de ganho relativo de biomassa; B. ECAI: Eficiência de conversão do alimento ingerido.....	95
Figura 4 – Mortalidade de <i>T. castaneum</i> alimentados com dieta artificial incluída com óleo essencial de <i>C. laceratoglandulosus</i>	96
Figura 5 – Aspectos nutricionais de <i>T. castaneum</i> alimentados com dieta artificial contendo óleo essencial de <i>C. laceratoglandulosus</i> . A. TGB: Taxa de ganho relativo de biomassa; B. ECAI: Eficiência de conversão do alimento ingerido.....	97
Figura 6 – Efeito do óleo essencial de <i>C. laceratoglandulosus</i> sobre a taxa instantânea de crescimento (r_i) de <i>S. zeamais</i> (A) em milho armazenado e <i>T. castaneum</i> (B).....	100

ARTIGO 3

Figura 1 – Toxicidade por fumigação do óleo essencial de <i>C. urticifolius</i> sobre <i>S. zeamais</i> (A) e <i>T. castaneum</i> (B).....	118
Figura 2 – Mortalidade de adultos de <i>S. zeamais</i> alimentados com dieta artificial contendo óleo essencial de <i>C. urticifolius</i>	120
Figura 3 – Parâmetros nutricionais de adultos de <i>S. zeamais</i> alimentados com dieta artificial contendo óleo essencial de <i>C. urticifolius</i> . A) Ganho relativo de biomassa; B) ECAI: Eficiência de conversão do alimento ingerido.....	121
Figura 4 – Mortalidade de <i>T. castaneum</i> alimentados com dieta artificial acrescida de óleo essencial de <i>C. urticifolius</i>	122
Figura 5 – Parâmetros nutricionais de adultos de <i>T. castaneum</i> submetidos à alimentação artificial acrescida de óleo essencial de <i>C. urticifolius</i> . A) Ganho relativo de biomassa; B) ECAI: Eficiência de conversão do alimento ingerido.....	123
Figura 6 – Efeito do óleo essencial de <i>C. argenteus</i> sobre a taxa instantânea de crescimento (r_i) de <i>S. zeamais</i> (A) e <i>T. castaneum</i> (B).....	126

LISTA DE TABELAS

FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

Tabela 1 – Espécies de <i>Croton</i> produtoras de óleo essencial encontradas em áreas de Caatinga, seus principais constituintes químicos e atividades biológicas relacionadas na literatura.....	30
--	----

ARTIGO 1

Tabela 1 – Compostos químicos presente no óleo essencial extraídos das folhas de <i>C. argenteus</i>	65
Tabela 2 – Toxicidade por fumigação do óleo essencial de <i>C. argenteus</i> sobre <i>S. zeamais</i> e <i>T. castaneum</i> em laboratório (Temperatura: 28 ± 2 °C; Umidade Relativa: $70 \pm 5\%$; escotofase: 24 horas).....	69
Tabela 3 – Efeito repelente de <i>C. argenteus</i> sobre adultos de <i>S. zeamais</i> e <i>T. castaneum</i> em grãos e pó de milho tratados. Temp.: 28 ± 2 °C, UR: $70 \pm 5\%$ e fotofase: 24 horas.....	73
Tabela 4 – Porcentagem de redução do número de adultos de <i>S. zeamais</i> e <i>T. castaneum</i> emergidos em grãos e pó de milho tratados com de <i>C. argenteus</i> . Temp.: 28 ± 2 °C, UR: $70 \pm 5\%$ e fotofase: 24 horas.....	74

ARTIGO 2

Tabela 1 – Identificação dos constituintes do óleo essencial obtido das folhas de <i>C. laceratoglandulosus</i>	91
Tabela 2 – Toxicidade por fumigação do óleo essencial de <i>C. laceratoglandulosus</i> sobre <i>S. zeamais</i> e <i>T. castaneum</i> em laboratório (Temperatura: 28 ± 2 °C; Umidade Relativa: $70 \pm 5\%$; escotofase: 24 horas).....	91
Tabela 3 – Potencial repelente de <i>C. laceratoglandulosus</i> sobre adultos de <i>S. zeamais</i> e <i>T. castaneum</i> em grãos e pó de milho tratados. Temp.: 28 ± 2 °C, UR: $70 \pm 5\%$ e fotofase: 24 horas.....	98
Tabela 4 – Porcentagem de redução do número de adultos de <i>S. zeamais</i> e <i>T. castaneum</i> emergidos em grãos e pó de milho tratados com de <i>C. laceratoglandulosus</i> . Temp.: 28 ± 2 °C, UR: $70 \pm 5\%$ e fotofase: 24 horas.....	99

castaneum emergidos em grãos e pó de milho tratados com de *C. urticifolius*. Temp.: $28 \pm 2^{\circ}\text{C}$, UR: $70 \pm 5\%$ e fotofase: 24 horas.....

ARTIGO 3

Tabela 1 – Identificação dos constituintes do óleo essencial obtido das folhas de *C. urticifolius*..... 116

Tabela 2 – Toxicidade por fumigação do óleo essencial de *C. urticifolius* sobre *S. zeamais* e *T. castaneum* em laboratório (Temperatura: $28 \pm 2^{\circ}\text{C}$; Umidade Relativa: $70 \pm 5\%$; escotofase: 24 horas)..... 118

Tabela 3 – Efeito repelente de *C. urticifolius* sobre adultos de *S. zeamais* e *T. castaneum* estimado a partir da porcentagem de insetos que se deslocaram para a área contendo o milho ou pó de milho não tratado (controle) ou com o milho ou pó de milho tratado (tratamento) com óleo essencial. Temp.: $28 \pm 2^{\circ}\text{C}$, UR: $70 \pm 5\%$ e fotofase: 24 horas..... 123

Tabela 4 – Porcentagem de redução do número de adultos de *S. zeamais* e *T. castaneum* emergidos em grãos e pó de milho tratados com de *C. urticifolius*. Temp.: $28 \pm 2^{\circ}\text{C}$, UR: $70 \pm 5\%$ e fotofase: 24 horas..... 124

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	16
2	FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA.....	18
2.1	ÓLEOS ESSENCIAIS: DEFINIÇÃO E PRINCIPAIS CARACTERÍSTICAS	18
2.2	CONSTITUIÇÃO QUÍMICA DOS ÓLEOS ESSENCIAIS	18
2.3	MECANISMOS DE AÇÃO DOS ÓLEOS ESSENCIAIS	21
2.3.1	Atividades atraente e repelente	22
2.3.2	Atividade deterrente	23
2.3.3	Atividade tóxica	23
2.3.4	Inibição na locomoção e respiração	24
2.3.5	Redução no crescimento e fecundidade	24
2.4	MÉTODOS DE EXTRAÇÃO	25
2.4.1	Prensagem a frio	25
2.4.2	Enfloração.....	25
2.4.3	Extração com solventes orgânicos.....	26
2.4.4	Hidrodestilação	26
2.4.5	Arrastamento a vapor	26
2.4.6	Extração por fluido supercrítico	26
2.4.7	Extração por fluido subcrítico	27
2.4.8	Extração assistida por ultrassom	27
2.4.9	Extração assistida por micro-ondas.....	28
2.5	GÊNERO CROTON.....	28
2.6	ATIVIDADE INSETICIDA DE ÓLEOS ESSENCIAIS	32
2.7	ATIVIDADE INSETICIDA DE ÓLEOS ESSENCIAIS DO GÊNERO <i>CROTON</i>	33
2.8	ESPÉCIES UTILIZADAS NO ESTUDO	34
2.8.1	<i>Croton argenteus</i> Linnaeus	34
2.8.2	<i>Croton laceratoglandulosus</i> Caruzo & Cordeiro.....	35

2.8.3	<i>Croton urticifolius</i> Lamarck	36
2.9	<i>SITOPHILUS ZEAMAI</i> MOTSCHULSKY 1885 (COLEOPTERA: CURCULIONIDAE)	37
2.10	<i>TRIBOLIUM CASTANEUM</i> (HERBST) (COLEOPTERA: TENEBRIONIDAE).....	39
3	OBJETIVOS	41
3.1	OBJETIVO GERAL	41
3.2	OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	41
	REFERÊNCIAS	42
4	ARTIGO 1	54
5	ARTIGO 2	81
6	ARTIGO 3	106
7	CONCLUSÃO	130
	REFERÊNCIAS	131

1 INTRODUÇÃO

Em condições climáticas tropicais, os insetos adquirem particular importância como pragas dos grãos armazenados, pelo fato da massa de grãos constituir-se em ambiente ideal para seu desenvolvimento. Quando os níveis populacionais dos insetos-praga são altos, uma série de fatores interage colaborando para o comprometimento da qualidade dos produtos que, muitas vezes, se tornam impróprios para o consumo humano. Os danos sofridos pelos grãos armazenados são definitivos e irreparáveis, uma vez que o processo de alimentação das pragas causa uma considerável perda de peso, redução do valor nutricional e do poder germinativo, diminuição do grau de higiene e a desvalorização do produto. Ainda, a atividade dos insetos causa o aquecimento da massa de grãos no local da infestação, contribuindo para o aumento da atividade respiratória da massa de grãos, proporcionando maior consumo de matéria seca e, consequentemente, rápida deterioração do produto (FARONI; SILVA, 2008).

O método mais empregado para controlar insetos-praga na agricultura se faz por meio da aplicação de inseticidas químicos, sendo este considerado ainda o método mais eficiente. Porém, o uso exacerbado e de forma indiscriminada de inseticidas químicos ocasiona inúmeros problemas relacionados à saúde humana, de animais e do meio ambiente, como contaminação do solo e da água, intoxicação dos aplicadores, desequilíbrio no controle biológico e na polinização e promove a resistência dos insetos praga (FINKLER, 2012; BRAVO et al., 2011). Com o objetivo de reduzir tais impactos negativos, alternativas para o manejo destes insetos-praga vêm sendo pesquisadas e introduzidas no Brasil (MARIANO; SANTOS; SANTOS, 2006; FINKLER, 2012). Uma destas alternativas para diminuir o uso dos inseticidas químicos é a utilização de pós, extratos e óleos essenciais de plantas, os quais podem ser obtidos através de recursos renováveis (KIM et al., 2003a; SMANIOTTO et al., 2010).

Os danos causados por insetos-praga, em especial os carunchos e gorgulhos, são um dos maiores problemas para os grãos armazenados (SILVEIRA et al., 2006). Dentre esses se destacam as espécies *Sitophilus zeamais* Motschulsky, 1855 (Coleoptera: Curculionidae) e *Tribolium castaneum* (Herbst, 1797) (Coleoptera: Tenebrionidae), estando presentes principalmente nas regiões mais quentes e tropicais sendo consideradas pragas primária e secundária, respectivamente, de grande importância agrícola (FAZOLIN et al., 2010; ANTUNES et al., 2011).

Compostos provenientes do metabolismo secundário dos vegetais vêm sendo cada vez mais estudados quanto ao seu potencial inseticida.

De acordo com Raut e Karuppayil (2014) e Teixeira et al., (2013), os óleos essenciais são misturas complexas de substâncias voláteis e lipofílicas provenientes do metabolismo secundário vegetal e que vêm se mostrando promissores na agricultura, na qual se projeta o uso destes compostos como repelentes de insetos, inseticidas ou moluscicidas. Como por exemplo, os óleos essenciais extraídos de *Croton heliotropiifolius* Kunth e *Croton pulegioidorus* Baill, mostraram atividade inseticida frente a *S. zeamais* e *T. castaneum* (SANTOS et al., 2019; MAGALHÃES et al., 2015) e os de *C. heliotropiifolius* e *Croton argyrophyllus* Kunth demonstraram atividade antimicrobiana e antioxidante (DA SILVABRITO et al., 2018).

De acordo com Raut e Karuppayil (2014) e Teixeira et al., (2013), os óleos essenciais são misturas complexas de substâncias voláteis e lipofílicas provenientes do metabolismo secundário vegetal e que vêm se mostrando promissores na agricultura, na qual se projeta o uso destes compostos como repelentes de insetos, inseticidas ou moluscicidas.

Os óleos essenciais podem ser encontrados em várias famílias, como Anacardiaceae, Annonaceae, Euphorbiaceae, Fabaceae, Lamiaceae e Myrtaceae. Na família Euphorbiaceae, o gênero *Croton* se destaca como segundo maior gênero, com aproximadamente 1250 espécies (COSTA FILHO et al., 2012), com cerca de 321 espécies distribuídas em todos os biomas do Brasil (Amazônia, Cerrado, Mata Atlântica, Pampa e Caatinga) (CORDEIRO et al., 2015; SILVA et al., 2010). As espécies desse gênero têm ampla utilização na Medicina. Espécies de *Croton* são usadas para tratar de algumas doenças como diabetes, diarreia, malária, febre, inflamações do fígado, rins, vesícula e para controlar níveis elevados de colesterol (MACIEL et al., 2002), assim como atividade inseticida (DE LIMA et al., 2013; SILVA et al., 2014; DIAS; MORAES., 2014). Porém várias espécies do gênero continuam sem informações acerca da composição química ou sobre as possíveis potenciais atividades biológicas, como *Croton argenteus*, *Croton laceratoglandulosus* e *Croton urticifolius*.

Tendo em vista a escassez de informações a respeito da composição química e atividades biológicas de *C. argenteus*, *C. laceratoglandulosus* e *C. urticifolius*, este trabalho teve como objetivo verificar a composição química e potencial inseticida dos óleos essenciais das folhas de *C. argenteus*, *C. laceratoglandulosus* e *C. urticifolius*.

2 FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

2.1 ÓLEOS ESSENCIAIS: DEFINIÇÃO E PRINCIPAIS CARACTERÍSTICAS

Óleos essenciais podem ser definidos como misturas de compostos voláteis, líquidos e em sua grande maioria, odoríferos. São solúveis em soluções apolares e apresentam baixa solubilidade em água, porém suficiente para aromatizar soluções aquosas (ESCOBAR et al., 2010). Apresentam baixa estabilidade, principalmente quando expostos ao ar, mas também são poucos estáveis frente a calor, luz, umidade e metais, por isso são chamados de essências, etéreos ou óleos voláteis. Em geral, possuem aroma agradável e forte (SIMÕES et al., 2007; GUIMARÃES et al., 2008). Quanto à coloração, geralmente após extração são incolores ou amarelados; poucos são os óleos que apresentam uma cor definida, como o óleo essencial de camomila de coloração azul devido à alta concentração de azuleno (SIMÕES et al., 2007; GUIMARÃES et al., 2008).

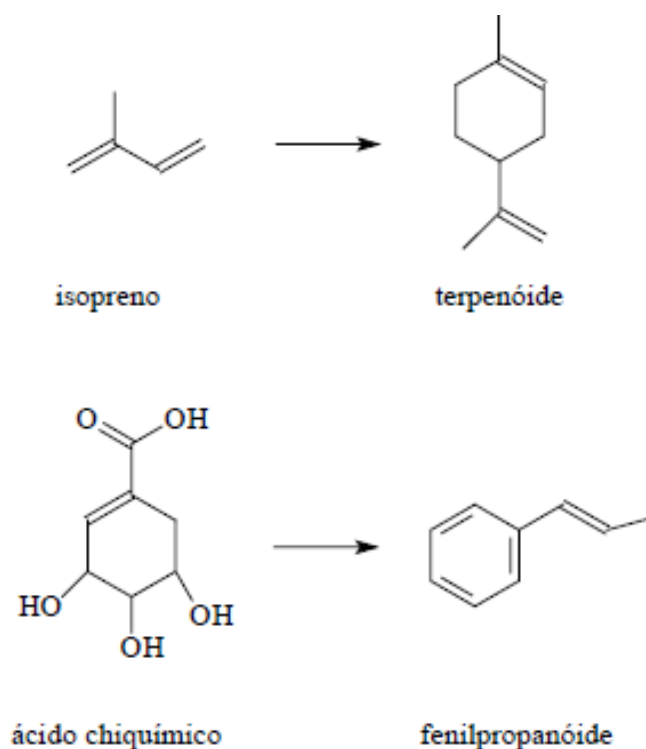
Os óleos essenciais podem estar presentes em várias partes das plantas, como flores, folhas, raiz, casca de caules, sementes e frutos (AMORATI et al., 2013) e são armazenados em células secretoras especializadas, como os tricomas glandulares, cavidades e canais secretores (BAKKALI et al., 2008), e normalmente são extraídos por destilação a vapor ou hidrodestilação (BAKKALI et al., 2008; TUREK; STINTZING, 2013).

Compõem o que se chama a “essência das plantas” (VALGIMIGLI et al., 2012), e por comumente apresentarem odor agradável podem ser utilizados em quantidades significativas nas indústrias de perfumes e aromas (CALO et al., 2015). Para Turek e Stintzing (2013), os óleos essenciais representam uma opção promissora nas áreas da nutrição, farmacêutica e agrícola, pelas inúmeras propriedades que apresentam, como antisséptico, antibacteriano, anti-inflamatório, analgésico, nematicida, antifúngica, inseticida e antioxidante (BAKKALI et al., 2008; BASSOLÉ; JULIANI., 2012; YORK et al., 2012; AMORATI et al., 2013).

2.2 CONSTITUIÇÃO QUÍMICA DOS ÓLEOS ESSENCIAIS

A constituição química dos óleos essenciais é determinada geneticamente e varia de acordo com a espécie, período vegetativo, clima, temperatura, ritmo circadiano e altitude (SIMÕES et al., 2007). Apresentam uma composição variada, às vezes contendo mais de 100 substâncias. Seus componentes podem ser hidrocarbonetos terpênicos, álcoois simples e terpênicos, aldeídos, cetonas, fenóis, ésteres, éteres, óxidos, peróxidos, furanos, ácidos orgânicos, lactonas e cumarinas. Os óleos essenciais apresentam diferentes concentrações dos constituintes químicos, mas geralmente um ou dois deles são majoritários (SIMÕES et al., 2003). As classes mais encontradas são os fenilpropanoides, terpenos (monoterpenos e sesquiterpenos) e seus derivados oxigenados (ISMAN et al., 2011 e SANGWAN et al., 2001). Os terpenos são mais abundantes e são derivados de unidades do isopreno, como demonstrado na figura 1. Já os fenilpropanoides, quando ocorrem, são os principais responsáveis pelo sabor e odor. Eles se formam a partir do ácido chiquímico (Figura 1), que forma as unidades básicas dos ácidos cinâmico e p-cumárico (LOBO; LOURENÇO, 2007; SIMÕES et al., 2007).

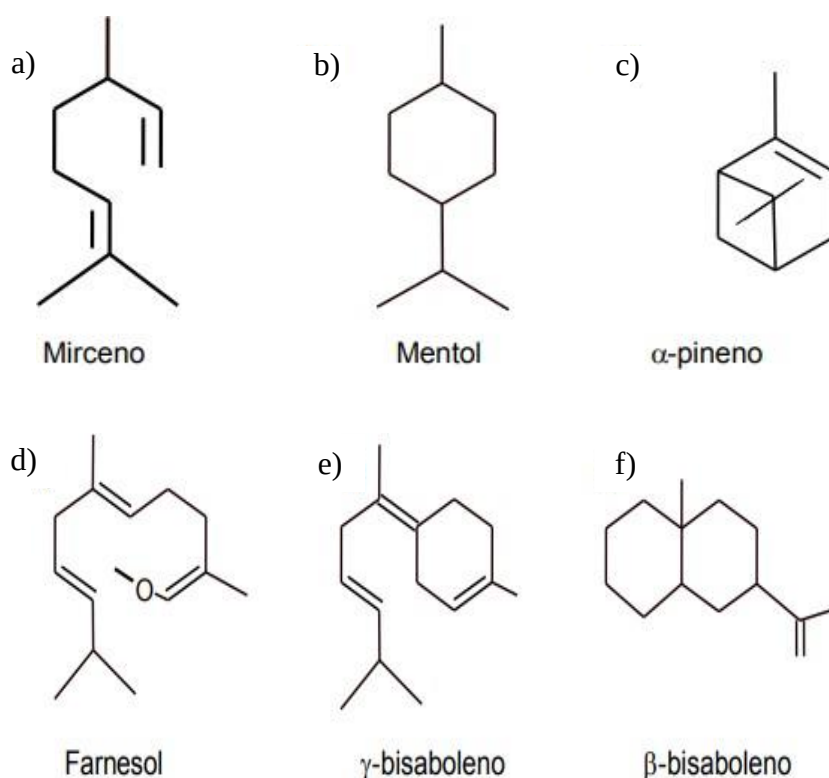
Figura 1 – Estrutura geral dos terpenoides e fenilpropanoides.



Fonte: Lupe (2007).

Os terpenoides compreendem o maior e mais rico grupo de compostos naturais de vegetais, estando presente em um grande número de espécies. São classificados quanto ao número de unidades isoprênicas que compõem sua estrutura. Desta forma, têm-se hemiterpenos com cinco carbonos, monoterpenos com dez carbonos, sesquiterpenos com quinze carbonos, diterpenos com vinte carbonos, triterpenos com trinta carbonos, tetraterpenos com quarenta carbonos e politerpenos ou poli-isoprenóides com várias unidades de cinco carbonos. Monoterpenos e sesquiterpenos geralmente são mais encontrados nos óleos essenciais. Podem conter estruturas cíclicas, aromáticas, alifáticas, como também podem ter em sua constituição átomos de oxigênio levando à formação de álcoois, ésteres, cetonas e aldeídos (SIMÕES et al., 2007), como os exemplos mostrados na figura 2.

Figura 2 – Representantes de monoterpenóides: a) acíclico; b) monocíclico e c) bicíclico e sesquiterpenoides: d) acíclico; e) monocíclico e f) bicíclico.

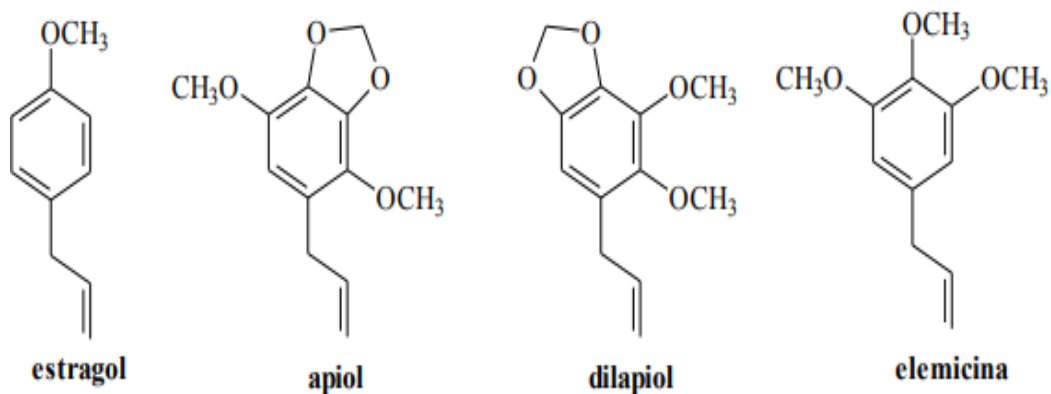


Fonte: adaptado de Simões et al. (2010).

Os monoterpenos atuam principalmente na atração de polinizadores e repelência de insetos-praga (PERES, 2004). Sesquiterpenos, geralmente, apresentam funções protetoras contra fungos e bactérias, enquanto que muitos diterpenos dão origem aos hormônios de crescimento vegetal. Os triterpenoides e derivados (esteroides) apresentam inúmeras funções, como proteção contra herbívoros, alguns são antimitóticos e outros atuam na germinação de sementes e na inibição do crescimento da raiz (HOLETZ et al., 2002; MORITA et al., 2000; EL-SAKHAWY et al., 1998).

Os fenilpropanoides, por outro lado, são consideravelmente menos variados do que os terpenoides, porém, não menos importantes. Os fenilpropanoides são caracterizados por apresentarem um anel aromático ligado a uma cadeia de três carbonos e são originados do ácido chiquímico (LORENZO et al., 2002; PERES, 2004). Geralmente, quando os fenilpropanoides estão presentes, eles ocorrem em quantidades significativas e tendem a ser os compostos majoritários (CARSON; HAMMER, 2011). Quando presentes nas plantas modificam de forma significativa as características sensoriais do óleo. Os fenilpropanóides mais comuns são o eugenol, metileugenol, miristicina, elemicina, chavicol, metil chavicol, dilapiol, anetol, estragol, apiol (Figura 3) (JAKIEMI, 2008).

Figura 3 – Estrutura de alguns fenilpropanóides.



Fonte: Moraes et al. (2006).

2.3 MECANISMOS DE AÇÃO DOS ÓLEOS ESSENCIAIS

Regnault-Roger et al. (2012) afirma que óleos essenciais são bons penetrantes e que aumentam sua própria biodisponibilidade e a de produtos coadministrados. Que por sua vez, podem afetar a fisiologia dos insetos de várias formas por atuarem em diferentes receptores.

Os óleos essenciais têm um amplo espectro de modos de como podem atuar sobre o organismo dos insetos, incluindo repelência, deterrência, toxicidade causando a morte, além de provocar alterações nos ciclos bioquímicos dos insetos como na octopamina, acetilcolinesterase e antagonista dos receptores de octopamina, inibição na locomoção e respiração, redução no crescimento e fecundidade, rompimento da cutícula, (MENEZES, 2005; ISMAN, 2006). A seguir estão expostas algumas delas.

2.3.1 Atividades atraente e repelente

Os insetos se alimentam de determinadas plantas e rejeitam outras. Para Nerio et al. (2010), esta preferência não pode ser explicada somente pela presença de substâncias atraentes, mas também pela ausência de compostos com propriedade repelente. Estas substâncias, atraentes ou repelentes, são em grande parte, óleos essenciais. Alguns compostos presentes nos óleos essenciais provocam a repelência, fazendo com que os insetos se afastem do alimento, evitando ou inibindo a alimentação e/ou oviposição (ALKOFAHI et al., 1987).

A atividade atraente pode estar diretamente relacionada à atração de polinizadores e dispersores de sementes, porém, para Carroll et al. (2006), a emissão de substâncias terpênicas pelas plantas pode atingir outros alvos não intencionais. Estudos que averiguam a ação atraente de óleos essenciais são antigos. Dethier (1941), em estudos com plantas da família Apiaceae e sua afinidade com a borboleta *Papilio ajax* (Lepidoptera: Papilionidae), verificou a atração do inseto usando um papel filtro contendo constituintes químicos dos óleos essenciais como metilchavicol, carvona e coriandrol.

Cox (2004) afirma que substâncias repelentes podem ser empregadas como barreiras de proteção em tonéis onde os grãos são acondicionados ou incorporados em embalagens para evitar o ataque dos insetos. A atividade repelente de espécies medicinais e aromáticas contra pragas de armazenamento já foi evidenciada para *Sitophilus granarius* (L.) (ZOUBIRI; BAALIOUAMER, 2011), *T. castaneum* (KIM et al., 2010, JEMÂA et al., 2012) e *Callosobruchus maculatus* (Fabr.) (ILBOUDO, 2010), o que demonstra que produtos naturais derivados de plantas apresentam potencial para serem utilizados para este fim.

2.3.2 Atividade deterrente

Alguns compostos provenientes de plantas possuem atividade deterrente, também chamada de fagoinibidora ou antialimentar. Esta atividade possui grande importância devido à especificidade que algumas pragas apresentam por algumas espécies vegetais (MAIA; MOORE, 2011).

Os óleos essenciais têm capacidade de atuar sobre enzimas digestivas bem como interagir com o tegumento do inseto (ISMAN, 2006). As substâncias deterrentes alimentares agem por ingestão e acarretam redução na atividade do tubo digestivo, com perda de estímulo para alimentação, levando o inseto à morte por inanição (KABERA et al., 2011).

2.3.3 Atividade tóxica

Os óleos essenciais podem exibir ação tóxica e causar a morte de insetos, e essa toxicidade vem da ação dos compostos ativos no sistema nervoso central dos insetos, interferindo na transmissão (sináptica ou axônica) normal dos impulsos nervosos (GUEDES, 2001; MENEZES, 2005).

Os compostos provenientes de óleos essenciais que têm modo de ação neurotóxico, podem causar hiperatividade, convulsões, tremores, podendo atuar como inibidores da acetilcolinesterase ou se ligar ao sistema octopaminérgico dos insetos. A octopamina é um neurotransmissor excitatório presente no sistema nervoso central e periférico de insetos, que desempenha um papel fundamental como um neurotransmissor, neuro-hormônio e neuromodulador em sistemas de invertebrados (ENÁN, 2005; BENELLI et al., 2012).

Buentello-Wong et al. (2016), estudando o efeito do óleo essencial de *Eugenia caryophyllus* L. sobre *Anastrepha ludens* (Loew) (mosca da fruta), verificaram que o óleo foi tóxico a adultos de *A. ludens* com uma CL_{50} de 3529 ppm e uma CL_{90} de 7763 ppm, possivelmente devido ao fato do metil eugenol ser o componente majoritário (77,58%). O eugenol é tóxico para várias espécies de Díptera (BARBOSA et al., 2012), interferindo nos receptores de octopamina (ENAN, 2005).

A acetilcolinesterase exerce papel fundamental nas sinapses colinérgicas. A inibição causada por compostos presentes em óleos essenciais resulta no acúmulo de acetilcolina nas sinapses, fazendo com que a membrana pós-sináptica permaneça em estado de estímulo

constante, provocando ataxia, ou seja, ausência de coordenação no sistema neuromuscular e por consequência morte (RATTAN, 2010).

Enan (2001) descreve o início da ação tóxica dos óleos essenciais em baratas (*Periplaneta americana*) com hiperatividade, acompanhada por hiperextensão das pernas e do abdômen, imobilização, seguida de morte.

2.3.4 Inibição na locomoção e respiração

Os óleos essenciais também apresentam ação inseticida através do contato direto ou pelas vias respiratórias dos insetos. Os compostos podem alcançar o sistema nervoso central dos insetos, por meio da penetração por qualquer parte da superfície do corpo ou pelas vias respiratórias (ação fumigante), causando a morte do inseto (LIMA et al., 2009; CORRÊA; SALGADO, 2011). Podendo atuar bloqueando a respiração de larvas e adultos de insetos (HUSSEIN, 2005).

Os óleos essenciais agem como venenos respiratórios, podendo originar uma película de cobertura em meio aquoso e impedir a respiração de larvas de várias espécies de mosquitos (KONSTANTOPOULOU et al., 2002). Além disso, esses óleos podem ser utilizados para matar cupins em túneis subterrâneos, devido à alta pressão de vapor e facilidade de penetração nos tecidos (PAVELA et al., 2016).

2.3.5 Redução no crescimento e fecundidade

Os compostos presentes em alguns óleos essenciais podem agir inibindo o crescimento e o desenvolvimento, resultando em alterações no metabolismo celular (MENEZES, 2005). A concentração ou dosagem utilizada de alguns óleos podem diminuir a viabilidade de ovos, ninfas, larvas e pupas. A diminuição do número de ovos e a inibição da oviposição são efeitos importantes dos óleos essenciais sobre a reprodução dos insetos (PHILLIPS; APPEL, 2010).

Estudos de Tandon et al. (2008) avaliaram o efeito dos óleos essenciais de *Vitex agnus castus* L. e *Vitex trifolia* L. sobre larvas de quinto ínstar de *Spilosoma obliqua* Walker. Sendo verificado que os tratamentos aumentaram o período larval e pupal, a mortalidade larval e provocou deformidades nos adultos, ainda reduziram a fecundidade das fêmeas e a fertilidade dos ovos. Os compostos químicos encontrados em *V. agnus castus* foram iridoides, flavonoides, diterpenos, monoterpenos e sesquiterpenos.

2.4 MÉTODOS DE EXTRAÇÃO

Os óleos essenciais podem ser obtidos por diferentes métodos, onde o tipo de extração tem impacto não só no rendimento do processo, mas também na composição do óleo essencial, assim como a concentração obtida para cada composto extraído (WENQIANG et al., 2007).

Os métodos de extração são classificados como métodos convencionais ou clássicos e métodos avançados ou inovadores. Cada um desses métodos de extração para óleos essenciais possuem vantagens e desvantagens. A opção do método de extração vai depender da localização do óleo no vegetal, de suas características e a proposta de utilização do mesmo (HAMID et al., 2011).

Os métodos convencionais são a prensagem a frio, enfloração, extração com solventes orgânicos, hidrodestilação e arrastamento. Com as melhorias na tecnologia, os métodos de extração tornaram-se mais rápidos, eficientes e com maior rendimento, obtendo-se cada vez mais óleos essenciais de melhor qualidade (ASBAHANI et al., 2015). Dentre os métodos avançados estão a extração por fluido supercrítico e subcrítico, extração assistida por ultrassom e por micro-ondas (ASBAHANI et al., 2015).

2.4.1 Prensagem a frio

A prensagem a frio é o método utilizado para extrair óleos essenciais de citrinos que estão presentes em bolsas no pericarpo. Por haver instabilidade térmica dos aldeídos presentes nestes frutos, este método baseia-se na prensagem a frio, onde se extrai o óleo junto com o sumo da fruta. Em seguida são separados por centrifugação ou decantação, onde são liberados os óleos essenciais (JURADO et al., 2015).

2.4.2 Enfloração

Este método também é conhecido por enfleurage. É utilizado para extrair óleos essenciais presentes em flores, onde as pétalas são expostas à temperatura ambiente dispostas sobre uma camada de gordura que absorve o óleo essencial. Posteriormente, a gordura é filtrada e destilada a baixas temperaturas obtendo-se apenas o óleo essencial (ABARCA et al., 2015).

2.4.3 Extração com solventes orgânicos

Alguns óleos essenciais são muito instáveis, não suportando aumentos de temperatura. Neste caso, o ideal é utilizar solventes orgânicos para extração, como hexano, benzeno, metanol, etanol, propanol, acetona, pentano e solventes clorados (FILIPPIS, 2001).

O processo de extração utilizando solvente consiste em adicionar um solvente orgânico em contato com a matriz vegetal. Aguarda-se um determinado tempo, para que ocorra a transferência dos constituintes solúveis presentes na planta, e realiza-se a separação das fases sólida e líquida. O óleo essencial é extraído através da evaporação do solvente presente na fase líquida (STEFFANI, 2003). Esse método de extração promove um maior rendimento na extração. Porém, a desvantagem é que, junto com o óleo essencial, o solvente também extrai ceras e pigmentos da matéria-prima, considerados contaminantes do óleo essencial (ASBAHANI et al., 2015; BIASI; DESCHAMPS, 2009).

2.4.4 Hidrodestilação

A hidrodestilação consiste em imergir o material vegetal em água destilada dentro de um balão de vidro e, através do calor fornecido, as paredes das células são quebradas, e o óleo essencial juntamente com a água é evaporado. Após o resfriamento a mistura é separada através das diferentes densidades (ASBAHANI et al., 2015; SILVA, 2011).

2.4.5 Arrastamento a vapor

Baseia-se na ação do vapor de água que arrasta os compostos voláteis, havendo posteriormente uma condensação por ação da gravidade, que separa o óleo da água. É um procedimento de extração muito utilizado para obtenção de óleos essenciais e assemelha-se à hidrodestilação. A principal vantagem desta técnica é a ausência de contato direto da parte a ser extraído o óleo com a água (ASBAHANI et al., 2015; MACHADO; FERNANDES Jr., 2011).

2.4.6 Extração por fluido supercrítico

O método de extração por fluido supercrítico baseia-se no princípio da solubilidade dos compostos orgânicos em fluidos supercríticos, em relação à solubilidade destes fluidos na fase vapor (SERAFINI et al., 2002; BRUNNER, 1994). Com o aumento na pressão e na temperatura o solvente chega ao ponto supercrítico, posteriormente, passa pelo material a ser obtido e arrasta materiais voláteis. Em seguida ocorre a descompressão, onde o produto extraído pelo solvente é levado para separadores, onde o fluido extrator pouco a pouco é descomprimido, para que ocorra a separação do material extraído do solvente que foi usado no processo de extração (FORNARI et al., 2012).

A extração com fluido supercrítico apresenta algumas vantagens quando comparada aos métodos convencionais de extração, como: o fato do solvente poder ser removido do soluto com facilidade, reduzindo a pressão e/ou ajuste a temperatura; necessita de menos energia do que os outros métodos de extração e permite que a extração seja mais rápida devido à baixa viscosidade, alta difusividade e alto poder de solvatação do fluido supercrítico; a extração com fluido supercrítico demanda o uso de uma menor quantidade ou nenhum solvente orgânico (BRUNNER, 2005; BRUNNER, 1994). Porém, mesmo com essas vantagens ainda são poucas as aplicações industriais da tecnologia supercrítica, onde a principal razão é o alto custo de investimento (ASBAHANI et al., 2015; PERRUT, 2000).

2.4.7 Extração por fluido subcrítico

O estado subcrítico ocorre quando a pressão é superior a pressão crítica, porém, a temperatura é inferior a temperatura crítica, ou o oposto. Nessas condições, água e o dióxido de carbono são solventes mais utilizados nesse método para extração de óleos essenciais (ASBAHANI et al., 2015). A extração por meio de fluidos subcríticos apresenta vantagens na extração de óleos essenciais, pois permite que a extração seja rápida e a baixas temperaturas, impedindo a volatilização dos compostos (AYALA; CASTRO, 2001).

2.4.8 Extração assistida por ultrassom

A extração assistida por ultrassom baseia-se na propagação de ondas ultrassônicas e de forças de cavitação resultantes, onde as bolhas que foram originadas podem se chocar fortemente e provocar pressão local ocasionando a quebra dos tecidos, proporcionando a liberação de substâncias intracelulares no solvente (SHALMASHI et al., 2009; GOULA,

2013). As vantagens da extração por ultrassom estão na simplicidade do equipamento, no uso de pouca quantidade de reagentes e no fato de poder utilizar diferentes solventes para extração (BENDICHO et al., 2012; CARDOSO et al., 2014).

2.4.9 Extração assistida por micro-ondas

A extração assistida por micro-ondas baseia-se no aquecimento do solvente pela energia provocada pelas micro-ondas que em contato com a amostra, provocam a partição do analito presente na amostra (PARE et al., 1994). Esse método de extração também oferece vantagens em relação às técnicas convencionais, por apresentar menor tempo para análise, baixo consumo de solvente redução de custos (MANDAL et al., 2007).

2.5 GÊNERO CROTON

Croton L. é um dos maiores gêneros da família Euphorbiaceae, agrupando aproximadamente 1.200 espécies (SILVA; SALES; CARNEIRO-TORRES, 2009), predominantemente distribuídas no continente americano, porém também nos continentes africano, asiático e na Oceania. O Brasil abriga a maior diversidade do gênero, com cerca de 340 espécies (BERRY et al., 2005), distribuídas nos mais variados ambientes, com expressividade, na Caatinga, campos rupestres e Cerrado (SILVA et al., 2010). Levantamentos florísticos realizados no nordeste do Brasil demonstraram uma grande diversidade de *Croton* para essa região com aproximadamente 85 espécies. Onde destas, cerca de 69 espécies podem ser encontradas na Caatinga (FLORA DO BRASIL 2020).

Craveiro (1981) descreve que as espécies do gênero *Croton* são representadas por árvores, arbustos, subarbustos, ervas e raramente lianas. Podem ser monoicas ou dioicas e possuem variadas formas de tricomas, podendo ser estrelados ou escamiformes. As folhas possuem revestimento piloso, inteiras ou raramente trilobadas com estípulas, principalmente nos ramos jovens e novos. Algumas contêm pêlos estrelados enquanto outras possuem pêlos lepidotos ou escamosos. As flores são pequenas, esbranquiçadas e dispostas em racemos algumas vezes especiformes, onde as masculinas comumente são mais numerosas, na parte apical e as femininas na parte basal. Suas pétalas são livres e em número de 5 enquanto que o número de estames varia de acordo com a espécie, não sendo inferior a 5. O fruto é uma

cápsula triococa, de 2 a 6 mm de diâmetro e as sementes, via de regra são escuras e oleaginosas.

Esse gênero é bastante rico em metabólitos secundários, principalmente alcaloides e terpenoides (GILLIJ et al., 2008) e estes metabólitos são os principais responsáveis pelas propriedades farmacológicas identificadas nessas espécies, e por sua defesa contra herbívoros e atração dos polinizadores (BARRETO et al., 2013).

Os óleos essenciais das espécies do gênero *Croton* possuem diversas atividades biológicas, como antimicrobiana, inseticida, antinoceptiva, entre outras, como pode ser observado na tabela 1.

Apesar do grande número de substâncias já isoladas e das atividades biológicas investigadas, ainda são poucas as espécies de *Croton* estudadas, quer seja do ponto de vista químico ou ecológico envolvendo plantas deste gênero, e é de extrema importância para um melhor conhecimento do potencial destas.

Tabela 1 – Espécies de *Croton* produtoras de óleo essencial encontradas em áreas de Caatinga, seus principais constituintes químicos e atividades biológicas relacionadas na literatura.

Espécie	Principais constituintes	Local de coleta	Atividade biológica	Referência
<i>Croton adamantinus</i> Müll.	Metileugenol e 1,8-cineol	Salgueiro-PE	Antinociceptivo Cicatrizante Antibacteriano	XIMENES, R. M. et al., 2013
<i>Croton argyrophyllus</i> Kunth.	Biciclogermacreno, β -pineno e espatulenol	São Domingos-BA; Conceição do Coité-BA	Antibacteriano Antioxidante	DA SILVA BRITO, S. S. et al., 2018
<i>Croton argyrophyloides</i> Muell. Arg.	α -Pineno e trans- β -guaieno	Viçosa-CE	Larvicida	LIMA, M. G. A. et al., 2006
<i>Croton blanchetianus</i> Baill.	Sonderianina, Escopoletina, sonderianol e 3,4-seco-sonderianol	Serra Talhada-PE	Antimicrobiano (conservante alimentar) Inseticida	XAVIER, M. V. A. et al., 2015; MELO. et al., 2013
<i>Croton cordiifolius</i> Baill.	α - e β -pineno	Salgueiro-PE	Anti-inflamatória Antinociceptivo	ALVES, I. A. B. S. et al., 2017; NOGUEIRA, L. M. et al., 2015
<i>Croton grewoides</i> Baill.	Estragol e anetol	Viçosa-CE	Antifúngico	FONTENELLE, R. O. S. et al., 2008
<i>Croton heliotropiifolius</i> Kunth.	β -cariofileno, γ -muuroleno e viridiflorene	Amargosa-BA; São Domingos-BA; Conceição do Coité-BA;	Antibacteriano Antioxidante Inseticida	DA SILVA BRITO, S. S. et al., 2018; ARAÚJO, F. M. et al., 2017; BRITO, S. S. S. et al., 2015; MAGALHÃES, C. R. I. et al., 2015; MAGALHÃES, C. R. I. et al., 2014

		Triunfo-PE		
<i>Croton nepetaefolius</i> Baill.	Metileugenol, α -Copaeno e Trans-cariofileno	Viçosa-CE	Larvicida	LIMA, M. G. A. et al., 2006
<i>Croton pulegioidorus</i> Baill.	β -cariofileno, biciclogermacreno, germacreno D e β -Copaen-4- α -ol	Triunfo-PE	Inseticida	BRITO, S. S. S. et al., 2015; MAGALHÃES, C. R. I. et al., 2015; MAGALHÃES, C. R. I. et al., 2014;
<i>Croton zehntneri</i> Pax et Hoffm.	Anetol, estragol, 1,8-cineol e trans-cariofileno	Viçosa-CE	Cicatrizante	MALVEIRA CAVALCANTI, J. et al., 2012

2.6 ATIVIDADE INSETICIDA DE ÓLEOS ESSENCIAIS

O uso intensivo, incorreto e indiscriminado de inseticidas sintéticos para realizar o controle de vários insetos-praga, provoca vários problemas como a presença de resíduos tóxicos em alimentos, intoxicação dos aplicadores e consumidores, contaminação da água e do solo, seleção de indivíduos resistentes e danos a populações de organismos não-alvo, como os inimigos naturais (BRAVO et al., 2011; HASSAN; PRIJONO, 2011; LÓPEZ et al., 2011). Estes problemas vêm motivando a busca por novas moléculas, naturais ou sintéticas, para um controle eficiente de pragas de importância agrícola. E entre as possíveis alternativas estão os óleos essenciais, que possuem comprovadas atividades inseticida, repelente e deterrente de oviposição (SANTOS et al., 2019; MAGALHÃES et al., 2015; SANTOS et al., 2014).

Karabörklü et al. (2010) avaliaram a atividade inseticida do óleo essencial de várias plantas sobre *Acanthoscelides obtectus* (Say) e verificaram uma relação inversa entre a dose testada e a longevidade. Em grãos de feijão tratados com óleos essenciais de *Myrtus communis* L., *Laurus nobilis* L. e *Tanacetum armenum* DC., a mortalidade do inseto foi de 100% em todas as concentrações (de 50 a 150 µl por 24 h), exceto para *M. communis*, que causou 100% de mortalidade com doses a partir de 100 µL.

Hameed et al. (2012) avaliando extratos de nim (*Azadirachta indica*) e de Kanair (*Nerium oleander*) para o controle de *Tribolium castaneum* (Herbst) em grãos de trigo armazenados, utilizando as doses de 0,5; 1,0; 1,5; 2,0 e 2,5% com tempos de exposição de 24, 48, 72 e 168 h; verificaram que a dose e o tempo de exposição aumentaram a taxa de mortalidade.

Soares et al. (2011) verificaram uma mortalidade elevada sobre a lagarta desfolhadora *Thyriniteina arnobia* (Stoll, 1782) (Lepidoptera: Geometridae) com o óleo essencial de *Piper longum*, que causou 80% de mortalidade na concentração de 1,0%, e 100% de mortalidade nas concentrações mais altas (5,0 e 10,0%).

Bueno e Andrade (2010) avaliaram o efeito repelente de óleos essenciais de nove plantas sobre fêmeas de *Aedes albopictus*, comprovando que o óleo essencial de citronela (*Cymbopogon nardus* (L.)) promoveu repelência expressiva, com índices médios de 98%.

O óleo essencial de frutos de *Schinus terebinthifolius* Raddi (aroeira) demonstrou atividade larvicida, inseticida e repelente contra o *Aedes aegypti* (COLE, 2008) e inseticida para *Anopheles gambiae* e *Culex quinquefasciatus* (KWEKA et al., 2011).

2.7 ATIVIDADE INSETICIDA DE ÓLEOS ESSENCIAIS DO GÊNERO *CROTON*

Os óleos essenciais das espécies do gênero *Croton* são constituídos geralmente por terpenos (mono e sesquiterpenos) e fenilpropanoides. Os monoterpenos mais frequentes são o α - e β -pineno, linalol e 1,8-cineol. Entre os sesquiterpenos estão o β -cariofileno e germacreno D. E entre os fenilpropanoides, o metileugenol (REGNAULT-ROGER; VINCENT; ARNASON, 2012) e a atividade inseticida, pode estar associada à composição química de cada óleo, e seu modo de ação pode variar desde a morte por contato, repelência, inibição da oviposição, redução no desenvolvimento larval e até redução nas taxas de fecundidade e fertilidade de adultos (OLIVEIRA et al., 1999), podendo ser tóxicos por via tópica ou fumigante (PAPACHRISTOS et al., 2004; PHILLIPS e APPEL, 2010).

Estudos realizados por Kim et al. (2003b), descreveram a importância da afinidade entre a estrutura química e atividade biológica das substâncias presentes nos óleos essenciais. Quanto maior for a capacidade do composto em se ligar à camada lipídica maior será a penetração deste no tegumento do inseto.

O gênero *Croton* merece destaque quanto à eficiência dos óleos essenciais como inseticida, por apresentar inúmeros resultados que comprovam tal potencial, como observado por Dória et al. (2010), que comprovaram que os óleos essenciais obtidos de folhas de *Croton heliotropiifolius* Kunth. e *Croton pulegioidorus* Baill. causaram em 100% de mortalidade em larvas de *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae) (Linnaeus, 1762).

Os óleos essenciais das folhas e caule de *Croton grewoides* Baill. demonstraram atividade inseticida por fumigação contra *Zabrotes subfasciatus* (Bohemann, 1833) (Coleoptera, Bruchidae), com CL₅₀ de 4,0 μ L/L e 13,7 μ L/L, respectivamente (SILVA et al., 2008). O óleo essencial extraído de *Croton sonderianus* Muell. Arg., demonstrou atividades inseticida contra *Nasutitermes corniger* (Motsch.) (Isoptera: Termitidae) (LIMA et al., 2013) e repelente contra *Callosobruchus maculatus* (F.) (Coleoptera: Chrysomelidae: Bruchinae) (MELO et al., 2015), *Zabrotes subfasciatus* (Boheman) (Coleoptera: Bruchidae) (SILVA et al., 2008) e *Tribolium castaneum* (Herbst) (Coleoptera: Tenebrionidae) (JARAMILLO- COLORADO et al., 2014).

Lima et al. (2006) constataram que hidrolatos, oriundos de caules e das folhas de *Croton zehntneri* Pax e Hoffm., *Croton nepetaefolius* Baill. e *Croton argyrophyloides* Muell Arg., resultaram em 100% de mortalidade das larvas de *A. aegypti*.

Souza et al. (2016) observaram que o óleo essencial de *C. pulegioidorus* apresentou propriedades fumigantes para controlar *Rhyzopertha dominica* F. (Coleoptera: Bostrichidae) ratificando o potencial de utilização no manejo deste coleóptero.

Figueiredo et al. (2010), testaram diferentes concentrações (1,0; 2,0; e 3,0%) do óleo essencial de *C. grewioides* sobre a mosca das frutas *Ceratitis capitata* (Diptera: Tephritidae), sendo que as concentrações CL₅₀ e CL₉₀ foram estimadas em 0,29 e 0,95%, respectivamente. O estudo demonstrou que o óleo essencial afetou significativamente a mortalidade de pupas de *C. capitata*, permitindo tornar-se mais uma medida alternativa em programas de manejo deste inseto.

2.8 ESPÉCIES UTILIZADAS NO ESTUDO

2.8.1 *Croton argenteus* Linnaeus

É uma espécie neotropical com vasta distribuição no Brasil sendo encontrada nos estados do AM, BA, MT, MA, MS, PA, PE, PI, RJ e RN. Geralmente pode ser encontrada em áreas alagadiças, em matas ciliares sobre solos do tipo arenoso, podendo ocorrer do nível do mar até 500 metros de altitude. No estado de Pernambuco foi encontrada na zona da Mata, desenvolvendo-se na borda da mata, em solos arenosos (SILVA et al., 2010) e no Parque Estadual Mata da Pimenteira em Serra Talhada, nas bordas de lagoas.

Pode ser descrito como um pequeno arbusto que pode chegar a 1,20 m de altura, possui folhas com tonalidade verde escura, aveludadas e flores amarelas (MORON RODRIGUEZ et al., 2006) como pode ser observado nas figuras 4 e 5.

Figura 4 – *Croton argenteus* desenvolvendo-se nas bordas de lagoa no Parque Estadual Mata da Pimenteira em Serra Talhada-PE.



Fonte: Silva (2017).

Figura 5 – Folha de *Croton argenteus*.



Fonte: Silva (2017).

2.8.2 *Croton laceratoglandulosus* Caruzo & Cordeiro

É uma espécie descrita no ano de 2008, que apresenta distribuição disjunta entre o semiárido brasileiro nos estados brasileiros do Piauí, Ceará, Bahia e Minas Gerais e no sudeste da Bolívia podendo ser encontrada em ambientes de florestas secas e Caatinga com

altitudes entre 300 e 820 metros (CORDEIRO et al., 2008). Em Pernambuco foi registrada por Silva et al. (2010) na zona fitogeográfica das caatingas (subzona do Sertão) desenvolvendo-se em vegetação sobre solo do tipo arenoso no município de Salgueiro. Também encontrada no Sítio Agreste, município de São José do Belmonte-PE.

São plantas arbustivas que podem medir entre 0,7 e 2 metros de altura, apresentam folhas cordadas a largo-elípticas, possui látex incolor, ramos pilosos, tricomas denso-estrelados, estípulas extensas e profundamente lacerato-glandulosas, brácteas lacerato-glandulosas e estiletes multífidos (SILVA et al., 2010) (Figura 6).

Figura 6 – Arbusto e folhas de *Croton laceratoglandulosus*.



Fonte: Marques (2017).

2.8.3 *Croton urticifolius* Lamarck

Geralmente presente em ambientes secos, é encontrada nos estados brasileiros de AM, AL, BA, CE, ES, MG, PA, PI, PE, PB, RJ, RN e SE, em zonas de Caatinga, floresta decídua e campo rupestre (CARNEIRO-TORRES, 2009). No estado de Pernambuco é encontrada desde

a zona da Mata até a zona da Caatinga, geralmente encontrada em áreas degradadas, margens de estradas e bordas de mata (SILVA et al., 2010) (Figura 7).

Figura 7 – Planta e folhas de *Croton urticifolius*.



Fonte: Lira (2017).

2.9 *SITOPHILUS ZEAMAI* MOTSCHULSKY 1885 (COLEOPTERA: CURCULIONIDAE)

Comumente chamada de gorgulho do milho, é uma das mais importantes pragas de grãos armazenados no milho. Trata-se de uma praga primária (ataca grãos intactos) e cosmopolita. Apresenta infestação cruzada, ou seja, pode infestar os grãos ainda no campo e também no armazenamento. Pode atacar vários grãos além do milho, como trigo, arroz e cevada. São inúmeros os danos causados, podendo destacar a redução de peso e da qualidade do grão (LORINI & SCHNEIDER, 1994; LOECK, 2002; LORINI, 2008).

Os ovos de *S. zeamais* apresentam coloração amarelo-claro, tamanho médio de 0,8 x 0,3 mm (ANTUNES; DIONELLO, 2010). As larvas são ápodas, do tipo curculioniforme, também apresentam coloração amarelada, a cabeça é um pouco mais escura, perfil ventral retilíneo, perfil dorsal semicircular com os três primeiros seguimentos abdominais possuindo duas pregas/sucos transversais no dorso. As pupas têm coloração amarelo-claro. Os adultos podem medir 2,0 a 3,5 mm, apresentam coloração castanho-escuro com algumas manchas claras nos élitros (asas anteriores), que são melhores observadas após a emergência. A cabeça é projetada para frente na forma de rostro curvado. Os machos apresentam o rostro um pouco menor e mais grosso, já as fêmeas apresentam o rostro maior e mais fino (LORINI & SCHNEIDER, 1994; LOECK, 2002; ATHIÉ, 2002; GALLO et al., 2002; ANTUNES; DIONELLO, 2010; FERNANDES, 2012; LORINI et al., 2015).

Para realizar a postura, as fêmeas, com o auxílio do rostro, abrem uma pequena abertura no grão e depositam apenas um ovo por grão. Posteriormente, através de glândulas presentes no ovipositor, secretam uma substância de aspecto gelatinoso, que funciona para fechar a cavidade aberta. Ao eclodirem, as larvas se alimentam no interior dos grãos, e passam por quatro ínstares. A fase de pupa ainda ocorre no interior do grão e após esta fase ocorre a emergência do inseto já na fase adulta, que cava sua saída e deixa uma abertura no grão (ATHIÉ, 2002; ANTUNES; DIONELLO, 2010).

O *S. zeamais* exibe seu melhor comportamento em grãos de milho sob a temperatura de 28 °C e umidade relativa de 60% (LORINI et al., 2015). Antunes; Dionello (2010) observaram que em grãos com umidade inferior a 12,5% as fêmeas não conseguem ovipositar, pois quanto mais seco for o grão maior é a sua dureza e desse modo maior será a resistência ao ataque do inseto.

O controle de *S. zeamais* está relacionado com a adoção de procedimentos simples que incluem limpeza e secagem dos grãos, correta aeração e temperatura, bem como o uso de inseticidas sintéticos, como malathion, deltametrina e fosfina (LAZZARI et al., 2006; VINHA et al., 2011). Entretanto, o controle químico intensivo pode originar diversos problemas como, contaminação de aplicadores, atacar insetos não alvo, além do surgimento de resistência entre os insetos (VENDRAMIM; THOMAZINI, 2001; BENHALIMA et al., 2004). Por isso, se faz necessária a avaliação de produtos naturais que possuam atividade inseticida, como os óleos essenciais.

Alguns estudos realizados com o uso de óleos essenciais (com propriedades bioinseticidas) extraídos de plantas tem se mostrado eficaz no controle de insetos-praga, (PROCÓPIO et al., 2015).

Em estudos realizados por Coitinho et al. (2006) com óleos essenciais sobre o controle de *S. zeamais*, evidenciaram que os óleos de *Eucaliptus globulus* Labill, *Syzygium aromaticum*, *Lippia gracillis* Schauer e *Azadirachta indica* A. Jussieu na dose de 50 µL em 20 gramas de milho, apresentaram uma toxicidade alevada, causando 100% de mortalidade em insetos adultos de *S. zeamais* em grãos de milho.

Savaris et al. (2014) avaliando a eficiência do óleo essencial de *Cunila angustifolia* Benth, sobre adultos de *S. zeamais*, verificaram eficiência de 100% do óleo sobre os insetos após 24 h de tratamento nas concentrações de 0,04; 0,08 e 0,16ml.

Os óleos essenciais extraídos das folhas de *Artemisia capillaris* Thunb. e *Artemisia mongolica* Fisch. ex Bess. exibiram efeito fumigante contra *S. zeamais* (CL₅₀ de 5,31 e 7,35 µg/mL). Os óleos também causaram toxidade por contato com DL₅₀ de 105,95 e 87,92µg/adulto (LIU et al., 2010).

Chu et al. (2012) verificaram que óleos essenciais de flores de *Artemisia giraldii* Pamp. e *Artemisia subdigitata* Mattf. apresentaram efeito fumigante para *S. zeamais* com CL₅₀ de 6,29 e 17,01 mg/L de ar, além de toxicidade por contato (DL₅₀ de 40,51 e 76,34 µg/adultos).

Estudo realizado por Torres et al. (2014) mostrou que o óleo essencial de *Laurelia sempervirens* Tul. exibiu atividade inseticida por contato (CL₅₀ de 2,3 mL de OE/Kg de grãos) e por fumigação (CL₅₀ de 177 µL/L de ar) contra *S. zeamais*.

2.10 *TRIBOLIUM CASTANEUM* (HERBST) (COLEOPTERA: TENEBRIONIDAE)

A família Tenebrionidae inclui a espécie *Tribolium castaneum*, que tem ocorrência mundial, sendo uma praga secundária de cereais, como o arroz, milho e trigo (LORINI et al., 2010).

Os ovos de *T. castaneum* são pequenos, medem 0,6 x 0,3 mm de comprimento, são claros e envolvidos por uma substância viscosa. São postos de forma aleatória, com período de incubação de sete dias. Uma única fêmea pode ovipositar cerca de 450 ovos, mediante condições ótimas para o desenvolvimento, que são temperatura de 32 °C e 70% de umidade relativa (PUZZI, 1977). O ciclo de vida de *T. castaneum* pode variar de 30 a 40 dias (GALLO et al., 2002). Diferentemente de *S. zeamais*, a postura é realizada fora dos grãos em média de duas a três vezes ao dia (BELCHOL; TEIXEIRA, 2007). As larvas são branco- amareladas, cilíndricas, medem 7 mm de comprimento, com mandíbulas pouco resistentes.

Passam por 6 a 8 instares e possuem o último segmento abdominal bifurcado. Apresentam um período pupal de 7 a 8 dias (GALLO et al., 2002). Os insetos na fase adulta podem atingir de 3 a 4 mm de comprimento, com coloração marrom avermelhada. Tem corpo achatado, com duas depressões transversais na cabeça (CORRÊA, 2008).

O *T. castaneum* ataca praticamente todos os tipos de grãos moídos, desde farelos, grãos com trincas, defeituosos ou que já tenham sido atacados por outras pragas. Sua presença é geralmente associada ao fato de os grãos estarem infestados por pragas primárias. Pode causar prejuízos maiores que os causados pelo ataque de pragas primárias que permitiram sua instalação (GALLO et al., 2002).

O controle desses insetos tem sido realizado principalmente com o uso do inseticida fumigante fosfeto de alumínio, cujo princípio ativo é a fosfina (BRIDI et al., 2010), o que representa grande risco ao desenvolvimento de resistência a este produto, como já observado por Chaudhry et al. (2004) e Pratt (2005). E por isso como uma alternativa, o uso de inseticidas naturais entra como opção para o controle aos insetos.

Magalhães et al. (2015) observaram que os óleos essenciais de folhas de *C. heliotropiifolius* e *C. pulegioidorus* apresentaram efeito repelente e reduziram a taxa instantânea de crescimento desse inseto.

Olmedo et al. (2015) ao estudarem o efeito do óleo essencial de *Tagetes filifolia* Lag (Asteraceae) sobre *T. castaneum* concluíram que o óleo puro causou efeito tóxico nos insetos comparados aos compostos isolados anetol e estragol.

Almeida et al. (2014) ao expor insetos adultos de *T. castaneum* ao óleo de copaíba (*Copaifera langsdorffii*) com a concentração de 10% em um período de 24 h obteve 36,8% de eficiência.

Karabörklü et al. (2010) avaliaram a atividade inseticida do óleo essencial de nim (*Azadirachta indica*) e de Kanair (*Nerium oleander*) para o controle de *T. castaneum* em grãos de trigo armazenados, utilizando as doses de 0,5; 1,0; 1,5; 2,0 e 2,5% de óleo e com tempos de exposição de 24, 48, 72 e 168 h, concluíram que tanto a dose como o tempo de exposição aumentaram a taxa de mortalidade.

3 OBJETIVOS

3.1 OBJETIVO GERAL

Caracterizar e avaliar o potencial inseticida dos óleos essenciais obtidos de folhas de *Croton argenteus*, *Croton laceratoglandulosus* e *Croton urticifolius* sobre coleópteros-praga de milho (*Sitophilus zeamais* e *Tribolium castaneum*).

3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Extrair os óleos essenciais de *Croton argenteus*, *Croton laceratoglandulosus* e *Croton urticifolius* por meio de hidrodestilação em aparelho de Clevenger.
- Determinar a composição química dos óleos essenciais de folhas de *C. argenteus*, *C. laceratoglandulosus* e *C. urticifolius*.
- Avaliar o potencial inseticida por meio de bioensaios de fumigação e ingestão.
- Avaliar o efeito repelente e sua consequência na taxa instantânea de crescimento da população (r_i).
- Avaliar as consequências da toxicidade por ingestão dos óleos nos parâmetros nutricionais (taxa relativa de ganho de biomassa, taxa de consumo relativo e eficiência de conversão do alimento ingerido) de adultos de *S. zeamais* e *T. castaneum*.

REFERÊNCIAS

- ALKOFAHI, A. et al. Search for new pesticides from higher plants. **Insecticides of Plant Origin**, ACS Symposium Series 387, Washington, v.3, p.24-25, 1987.
- ALMEIDA, F. A. C et al. **Emprego do óleo de *Copaifera langsdorffii* no controle de *Tribolium castaneum* (Coleoptera: Tenebrionidae)**. In: Anais XLIII Congresso Brasileiro de Engenharia Agrícola - CONBEA, Campo Grande- MS, Brasil, 2014.
- ALVES, I. A. B. S. et al. Chemical composition, antioxidant and topical antiinflammatory activities of *Croton cordiifolius* Baill. (Euphorbiaceae). **Journal of Medicinal Plant Research**, v. 11, p. 22-33, 2017.
- AMORATI, R.; FOTI, M. C.; VALGIMIGLI, L. Antioxidant Activity of Essential Oils. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 61, n. 46, p. 10835-10847, 2013.
- ANTUNES, L. E. G. et al. Características físico-químicas de grãos de milho atacados por *Sitophilus zeamais* durante o armazenamento. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola Ambiental**, v. 15, n. 6, p. 615-620, 2011.
- ANTUNES, L. E. G.; DIONELLO, R. G. **Bioecologia de *Sitophilus zeamais* Motschulsky 1885 (Coleoptera: Curculionidae)**. 2010. Artigo em hipertexto. Disponível em: <http://www.infobibos.com/Artigos/2010_2/Sitophilus/index.htm>. Acesso em: 30/08/2018.
- ARAÚJO, F. M. et al. Antibacterial activity and chemical composition of the essential oil of *Croton heliotropiifolius* Kunth from Amargosa, Bahia, Brazil. *Industrial Crops and Products*, v. 105, p. 203-206, 2017.
- ASBAHANI, A. et al. Essential oils: From extraction to encapsulation. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 483, n. 1-2, p. 220-243, 2015.
- ATHIÉ, I. **Insetos de grãos armazenados: aspectos biológicos e identificação**. 2ª ed. São Paulo: Livraria Varela, 2002.
- AYALA, R. S.; CASTRO, M. D. L. Continuous subcritical water extraction as a useful tool for isolation of edible essential oils. **Food Chemistry**, v. 75, n. 1, p. 109-113, 2001.
- BAKKALI, F. et al. Biological effects of essential oils - A review. **Food and Chemical Toxicology**, v. 46, n. 2, p. 446-475, 2008.
- BARBOSA, J. D.; SILVA, V. B.; ALVES, P. B. Structure-activity relationships of eugenol derivatives against, *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae) larvae. **Pest Management Science**, v. 68, n. 6, p. 1478-1483, 2012.
- BARRETO, M. B. et al. Flavonoids and terpenoids from *Croton muscicarpa* (Euphorbiaceae). **Química Nova**, v. 36, n. 5, p. 675-679, 2013.
- BASSOLÉ, I. H. N; JULIANI, H. R. Essential oils in combination and their antimicrobial properties. **Molecules**, v. 17, n. 4, p. 3989-4006, 2012.

BELCHOL, F. S.; TEIXEIRA, I. R. V. **Preferência alimentar, performance e aceitabilidade de *Tribolium castaneum* (Coleoptera: Tenebrionidae) na farinha de soja integral**. 2007. Disponível

em: http://www.revistaanalytica.com.br/analytica/ed_anteriores/28/art01.pdf. Acesso em: 30/08/2018.

BENDICHO, C. et al. Ultrasound-assisted pretreatment of solid samples in the context of green analytical chemistry. **TrAC Trends in Analytical Chemistry**, v. 31, p. 50-60, 2012.

BENELLI, G. et al. Toxicity of some essential oil formulations against the Mediterranean fruit fly, *Ceratitis capitata* (Wiedemann) (Diptera Tephritidae). **Crop Protection**, v. 42, n. 1, p. 223- 229, 2012.

BENHALIMA, H. et al. Phosphine resistance in stored-product insects collected from various grain storage facilities in Morocco. **Journal of Stored Products Research**, v. 40, n. 3, p. 241-249, 2004.

BERRY, P. E. et al. Molecular phylogenetics of the giant genus *Croton* and tribe Crotonae (Euphorbiaceae sensu stricto) using ITS and trnL-trnF sequence data. **American Journal of Botany**, v. 92, p. 1520-1534, 2005.

BIASI, L. A.; DESCHAMPS, C. **Plantas aromáticas: do cultivo à produção de óleo essencial**. Curitiba: Layer Studio Gráfico e Editora Ltda, 2009.

BRAVO, A. et al. *Bacillus thuringiensis*: A story of a successful bioinsecticide. **Insect Biochemistry and Molecular Biology**, v. 41, n. 7, p. 423-431, 2011.

BRIDI, J.; LORINI, I.; SALVADORI, J. R. Efeito da fosfina em três concentrações na qualidade fisiológica da semente de trigo armazenada. In: CONFERÊNCIA BRASILEIRA DE PÓS-COLHEITA, 5, **Anais...**, Foz do Iguaçu, p. 281-286, 2010.

BRITO, S. S. S. et al. Bioatividade de óleos essenciais sobre *Zabrotes subfasciatus* Boh. (Coleoptera: Chrysomelidae) em feijão-comum armazenado. **Revista Brasileira de Ciências Agrárias**, v. 10, p. 243-248, 2015.

BRUNNER, G. Gas extraction: an introduction to fundamentals of supercritical fluids and the application to separation processes. 1st. Ed. Darmstadt: Steinkopff, New York: **Springer**, 387 p, 1994.

BRUNNER, G. Supercritical fluids: technology and application for food processing. **Journal of Food Engineering**, v. 67, p. 21-33, 2005.

BUENO, V. S.; ANDRADE, C. F. S. Avaliação preliminar de óleos essenciais de plantas como repelentes para *Aedes albopictus* (Skuse, 1894) (Diptera: Culicidae). **Revista Brasileira de Plantas Medicinais**, Botucatu, v. 12, n. 2, p. 215-219, 2010.

BUENTELLO-WONG, S. et al. Toxicity of some essential oil formulations against the Mexican fruit fly *Anastrepha ludens* (Loew) (Diptera: Tephritidae). **Industrial Crops and Products**, EUA, v. 85, n. 1, p. 58-62, 2016.

CALO, J. R. et al. Essential oils as antimicrobials in food systems - A review. **Food Control**, v. 54, p. 111-119, 2015.

CARDOSO, W. A. et al. Comparação entre métodos de extração de óleo de microalgas. **Revista Iniciação Científica**, Criciúma, v. 12, n. 1, p. 1-12, 2014.

CARNEIRO-TORRES, D. S. **Diversidade de Croton L. (Euphorbiaceae) no bioma Caatinga**. 295p. Tese de Doutorado (Doutorado em Programa de Pós-graduação em Botânica) - Universidade Estadual de Feira de Santana, Feira de Santana, Bahia, 2009.

CARROLL, M. J. et al. Attraction of *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae) larvae to volatiles from herbivore-damaged maize seedlings. **Journal of Chemical Ecology**, New York, v. 32, n. 9, p. 1911-1924, 2006.

CARSON, C. F.; HAMMER, K. A. Chemistry and bioactivity of essential oils. In: THORMAR, H. **Lipids and essential oils as antimicrobial agents**. West Sussex: John Wiley & Sons, cap. 9, p. 203-238, 2011.

CHAUDHRY, M. Q. et al. Effect of low temperatures on the rate of respiration and uptake of phosphine in different life stages of the cigarette beetle *Lasioderma serricorne* (F.). **Journal of Stored Products Research**, v. 40, p. 125-134, 2004.

CHU, S. S.; LIU, Q.R.; LIU, Z. L. Insecticidal activity and chemical composition of the essential oil of *Artemisia vestita* from China against *Sitophilus zeamais*. **Biochemical Systematics and Ecology**. v. 38, p. 489-492, 2010.

COITINHO, R. L. B. C. et al. Atividade inseticida de óleos vegetais sobre *Sitophilus zeamais* Mots. (Coleoptera: Curculionidae) em milho armazenado. **Revista Caatinga**, v. 19, n. 2, p. 176-182, 2006.

COLE, E. R. **Estudo fitoquímico do óleo essencial dos frutos da aroeira (*Schinus terebinthifolius* Raddi) e sua eficácia no combate ao dengue**. 82p. Dissertação (Mestrado em Química) – Universidade Federal do Espírito Santo, Vitória, 2008.

CORDEIRO, I. et al. *Croton laceratoglandulosus* Euphorbiaceae s.s., a new glandular-stipulate species from Brazil and Bolivia, and its systematic position based on molecular analysis. **Botanical Journal of the Linnean Society**, v. 158, p. 493-498, 2008.

CORDEIRO, I. et al. **Lista de Espécies da Flora do Brasil**. Rio de Janeiro: Jardim Botânico do Rio de Janeiro, 2015.

CORDEIRO, I.; CARNEIRO-TORRES, D. S. **Euphorbiaceae**. In: GIULIETTI, A. M.; CONCEIÇÃO, A. A.; QUEIROZ, L. P. Diversidade e caracterização das fanerógamas do semi-árido Brasileiro, v. 1, p. 106-116, 2006.

CORREIA, G. M. **Tecnigran: controle integrado de pragas**. Material didático. Maringá: Tecnigran, 2008.

CORREIA, J. C. R.; SALGADO, H. R. N. Atividade inseticida das plantas e aplicações: revisão. **Revista Brasileira de Plantas Medicinais**, v. 13, n. 4, p. 500-506, 2011.

COSTA FILHO, L. O. et al. Foliar cuticular n-alkane of some *Croton* species from Brazilian semiarid vegetation. **Biochemical Systematics and Ecology**, v. 41, p. 13–15, 2012.

COX, P. D. Potential for using semiochemicals to protect stored products from insect infestation. **Journal of Stored Products Research**, Amsterdam, v. 40, n. 1, p. 1-25, 2004.

CRAVEIRO, A. A. **Óleos essenciais de plantas do Nordeste**. Fortaleza. UFC, 1981.

DA SILVA BRITO, S. S. et al. *Croton argyrophyllus* Kunth and *Croton heliotropiifolius* Kunth: Phytochemical characterization and bioactive properties. **Industrial Crops and Products**, v. 113, p. 308-315, 2018.

DE LIMA, G. P. G. et al. Further insecticidal activities of essential oils from *Lippia sidoides* and *Croton* species against *Aedes aegypti* L. **Parasitology Research**, v. 112, p. 1953- 1958, 2013.

DE MARTINO, L. et al. In: PREEDY, V. R.; WATSON, R. R.. (ed). 1º Ed. Essencial oils from Mediterranean Aromatic Plants. The Mediterranean Diet: An Evidence-Based Approach. Londres: **Elsevier**, Chap. 58, p. 649-661, 2014.

DETHIER, V. G. Chemical factors determining the choice of food plants by *Papilio* larvae. **American Naturalist**, Salem, v. 75, n. 756, p. 61-73, 1941.

DIAS, C. N; MORAES, D. F. C. Essential oils and their compounds as *Aedes aegypti* L. (Diptera: Culicidae) larvicides: review. **Parasitology Research**, v. 113, p. 565-592, 2014.

DÓRIA, G. A. et al. A study of the larvicidal activity of two *Croton* species from northeastern Brazil against *Aedes aegypti*. **Pharmaceutical Biology**, v. 48, n. 6, p. 615-620, 2010.

EL- SAKHAWY, F.S. et al. Composition and antimicrobial activity of the essential oil of *Murraya exotica* L. **Flavour and Fragrance Journal**. v. 13, p. 59-62, 1998.

ENAN, E. E. Molecular and pharmacological analysis of an octopamine receptor from American cockroach and fruit fly in response to plant essential oils. **Archives of Insect Biochemistry and Physiology**, v. 59, p. 161-171, 2005.

ENAN, E. E. Insecticidal activity of essential oils: octopaminergics sites of action. **Comparative Biochemistry and Physiology**. Part C, London, v. 130, n. 3, p. 325-337, 2001.

ESCOBAR, P. et al. Chemical composition and antiprotozoal activities of Colombian *Lippia* spp. essential oils and their major components. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, p. 184-190, 2010.

FARONI, L. R. D'A.; SILVA, J. S. Manejo de pragas no ecossistema de grãos armazenados. In: SILVA, J. S. (Ed.). **Secagem e armazenagem de produtos agrícolas**. Viçosa: Aprenda Fácil, p.371-406, 2008.

FAZOLIN, M. et al. Fumigação de milho para o controle do gorgulho utilizando caule de *Tanaecium nocturnum* (Bignoniaceae). **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 45, p. 1-6, 2010.

FERNANDES, J. R. C. *Sitophilus zeamais* e *Sitotriga cerealella*: pragas do milho. **Revista Técnico-Científica Agrícola**. Portugal. n. 2, p. 72-76, 2012.

FIGUEIREDO, W. R. S. et al. Bioactivity of Oil from *Croton grewoides* on the Control of Mediterranean Fruit Fly. **Engenharia Ambiental**, v. 7, n. 4, p. 113-118, 2010.

FILIPPIS, F. M. **Extração com CO₂ supercrítico de óleos essenciais de Hon-sho e Ho-sho-experimentos e modelagem**. 114f. Dissertação (Mestrado em Engenharia Química) – Departamento de Engenharia Química, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, 2001.

FINKLER, C. L. L. Controle de insetos: uma breve revisão. **Anais da Academia Pernambucana de Ciência Agronômica**, Recife, v. 8 e 9, p.169-189, 2011/2012.

Flora do Brasil 2020 em construção. Jardim Botânico do Rio de Janeiro. **Croton**. Disponível em: <<http://floradobrasil.jbrj.gov.br/reflora/floradobrasil/FB17497>>. Acesso em: 09 Set. 2019.

FONTENELLE, R. O. S. et al. Antifungal activity of essential oils of *Croton* species from the Brazilian Caatinga biome. **Journal of Applied Microbiology**, v. 104, n. 5, p. 1383-1390, 2008.

FORNARI, T.; VICENTE, G.; VÁZQUEZ, E.; GARCÍA-RISCO, M. R.; REGLERO, G. Isolation of essential oil from different plants and herbs by supercritical fluid extraction. **Journal of Chromatography A**, v. 1250, p. 34-48, 2012.

FÜLLER, T. N. **Caracterização fenotípica, fitoquímica e molecular de populações de *Elionurus* SP. Humb. & Bompl ex Willd (capim-limão)**. 75p. Dissertação (Mestrado em Fitotecnia). Faculdade de Agronomia - Universidade Federal do Rio Grande do Sul. Porto Alegre, 2008.

GALLO, D. et al. **Entomologia agrícola**. Piracicaba: FEALQ, 2002.

GEROMINI, K.V.N. et al. Atividade antimicrobiana de óleos essenciais de plantas medicinais. **Arquivos de Ciências Veterinárias e Zoologia da UNIPAR**, p. 127-131, 2012.

GILLIJ, Y. G.; GLEISER, R. M.; ZYGADLO, J. A. Mosquito repellent activity of essential oils of aromatic plants growing in Argentina. **Bioresource Technology**, v. 99, n. 7, p. 2507-2515, 2008.

GOULA, A. M. Ultrasound-assisted extraction of pomegranate seed oil – Kinetic modeling. **Journal of Food Engineering**, v. 117, p. 492-498, 2013.

GUEDES, A. G. L. Timbó (*Derris urucu*): defensivo alternativo para uso em agricultura. **Agroecologia Hoje**, v.1, n.6, p. 18-19, 2001.

HAMEED, A. et al. Toxicological effects of neem (*Azadirachta indica*), Kanair (*Nerium oleander*) and spinosad (Tracer 240 SC) on the red flour beetle (*Tribolium castaneum*) (Herbst.). **African Journal of Agricultural Research**, v. 7, p. 555-560, 2012.

HAMID, A.; AIYELAAGBE, O.; USMAN, L., Essential oils: its medicinal and pharmacological uses. **International Journal of current research**, v. 33 (2), p. 86–98, 2011.

HASSAN, E.; PRIJONO, D. Plants as a source of biopesticides for pest control: a new perspective. In: GÖKCEKUS, H.; TÜRKER, U.; LaMOREAUX, J. W. (Ed.). Survival and sustainability: environmental concerns in the 21st century. Dordrecht: **Springer**, p. 1491-1508, 2011.

HOLETZ, F. B. et al. Screening of some plants used in the Brazilian folk medicine for the treatment of infeccious diseases. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, Rio de Janeiro, v. 97, n. 7, p. 1027-1031, 2002.

ILBOUDO, Z. et al. Biological activity and persistence of four essential oil towards the main pest of stored cowpeas, *Callosobruchus maculatus* (F.) (Coleoptera: Bruchidae). **Journal of Stored Products Research**, Amsterdam, v. 46, n. 2, p. 124-128, 2010.

ISMAN, M. B.; MIRESMAILLI, S.; MACHIAL, C. Comercial opportunities for pesticides based on plant essential oils in agriculture, industry and consumer produtcs. **Phytochemistry Reviews**, v. 10, p. 197-204, 2011.

JAKIEMIU, E. A. R. **Uma contribuição ao estudo do óleo essencial e do extrato de tomilho (*Thymus vulgaris* L.)**. 90 p. Dissertação de Mestrado (Mestrado em Tecnologia de Alimentos) - Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2008.

JARAMILLO-COLORADO. et al. Volatile secondary metabolites from Colombian *Croton malambo* (Karst) by different extraction methods and repellent activity of its essential oil. **Journal of Essential Oil Bearing Plants**, London, v. 17, n. 5, p. 992-1001, 2014.

JEMÂA, J. M. B. et al. Insecticidal activities of essential oil from leaves of *Laurus nobilis* L. from Tunisia, Algeria and Morocco, and comparative chemical composition. **Journal of Stored Products Research**, Amsterdam, v. 48, p. 97-104, 2012.

JURADO, F. R. et al. Essential oils: antimicrobial activities, extraction methods, and their modeling. **Food Engineering Reviews**, v. 7 (3), p. 275-297, 2015.

KABERA, J. et al. Insecticidal effects of essential oil of *Pelargonium graveolens* and *Cymbopogon citratus* on *Sitophilus zeamais* (Motsch.). **African Journal of Food Science**, v. 5, n. 6, p. 366-375, 2011.

KARABÖRKLÜ, S.; AYVAZ, A.; YILMAZ, S. Bioactivities of different essential oils against the adults of two stored product insects. **Pakistan Journal of Zoology**, v. 42, p. 679-686, 2010.

KIM, S. I. et al. Contact and fumigant activities of aromatic plant extracts and essential oils against *Lasioderma serricorne* (Coleoptera: Anobiidae). **Journal of Stored Products Research**, Amsterdam, v. 39, n. 1, p. 11-19, 2003b.

KIM, S. I. et al. Insecticidal activities of aromatic plant extracts and essential oils against *Sitophilus oryzae* and *Callosobruchus chinensis*. **Journal of Stored Products Research**, v. 39, p. 293– 303, 2003a.

KIM, S. I. et al. Toxicity and repellency of *origanum* essential oil and its components against *Tribolium castaneum* (Coleoptera: Tenebrionidae) adults. **Journal of Asia-Pacific Entomology**, Amsterdam, v. 13, n. 4, p. 369-373, 2010.

KONSTANTOPOULOU, M. A.; KROKOS, F. D.; MAZOMENOS, B. E. Chemical composition of corn leaf essential oils and their role in the oviposition behavior of *Sesamia nonagrioides* females. **Journal of Chemical Ecology**, v. 30, n. 1, p. 2243-2256, 2002.

KWEKA, E. J. et al. Insecticidal activity of the essential oil from fruits and seeds of *Schinus terebinthifolia* Raddi against African malaria vectors. **Parasites & vectors**, v. 4, n. 1, p. 129, 2011.

LAZZARI, S. M. N; KARKLE, A. F; LAZZARI, F. A. Resfriamento artificial para o controle de Coleoptera em arroz armazenado em silo metálico. **Revista Brasileira de entomologia**. v. 50, n. 2, p. 293-296, 2006.

LIMA, J. K. A. et al. Biototoxicity of some plant essential oils against the termite *Nasutitermes corniger* (Isoptera: Termitidae). **Industrial Crops and Products**, v. 47, p. 246-251, 2013.

LIMA, M. G. A. et al. Effect of stalk and leaf extracts from Euphorbiaceae species on *Aedes aegypti* (Diptera, Culicidae) larvae. **Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo**, v. 48, n. 4, p. 211-214, 2006.

LIMA, R. K. Insecticidal activity of long-pepper essential oil (*Piper hispidinervum* C. DC.) on fall armyworm *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith, 1797) (Lepidoptera: Noctuidae). **Acta Amazonica**, v. 39, n. 2, p. 377-382, 2009.

LIU, Z. L.; CHU, S. S.; LIU, Q. R. Chemical Composition and Insecticidal Activity against *Sitophilus zeamais* of the Essential Oils of *Artemisia capillaris* and *Artemisia mongolica*. **Molecules**, v. 15, n. 4, p. 2600-2608, 2010.

LOBO, A.M.; LOURENÇO, A.M. **Biossíntese de produtos naturais**. Lisboa: IST Press, Instituto Superior Técnico, 2007.

LOECK, A. E. **Praga de Produtos Armazenados**. Pelotas, RS, EGUFPEL, 113p, 2002.

LÓPEZ, S. B. et al. Composition and Anti-insect Activity of Essential Oils from *Tagetes* L. Species (Asteraceae, Helenieae) on *Ceratitis capitata* Wiedemann and *Triatoma infestans* Klug. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 59, p. 5286-5292, 2011.

LORENZO, D.; GONZALEZ, G.; ROSSINI, C. **Farmacognosia y Productos Naturales**. Contenido del curso teórico, Apostila 04: Aceites Esenciales. Universidad de la Republica do Uruguay, Montevideo, p. 14-18, 2002.

LORINI, I. et al. **Manejo integrado de pragas de grãos e sementes armazenadas**, Brasília: Embrapa, v. 86001, p. 970, 2015.

LORINI, I. et al. **Principais pragas e métodos de controle em sementes durante o armazenamento** – Série Sementes. Londrina: Embrapa Soja, (Embrapa Soja. Circular Técnica, 73), 12 p, 2010.

LORINI, I. **Manejo Integrado de Pragas de Grãos de Cereais Armazenados**. Passo Fundo: Embrapa Trigo, 72p, 2008.

LORINI, I.; SCHNEIDER, S. **Pragas de Grãos Armazenados: resultados de pesquisa**. Passo Fundo: EMBRAPA-CNPT, 47p, 1994.

LUPE, F. A. **Estudo da composição química de óleos essenciais de plantas aromáticas da amazônia**. 120 p. Dissertação (Mestrado) – Instituto de Química – Universidade Estadual de Campinas, São Paulo, Campinas, 2007.

MACHADO, B. F. M. T.; FERNADES Jr., A. Óleos essenciais: aspectos gerais e usos em terapias naturais. **Cadernos Acadêmicos**, v. 3, n. 2, p. 105-127, 2011.

MACIEL, M.A.M. et al. Medicinal plants: the need for multidisciplinary scientific studies. **Química Nova**, v.25, n.3, p.429-438, 2002.

MAGALHAES, C. R. I. et al. Óleos essenciais na emergência de grãos de milho (*Zea mays* L.). **Enciclopédia Biosfera**, v. 10, p. 338-349, 2014.

MAGALHÃES, C.R.I. et al. Potencial inseticida de óleos essenciais sobre *Tribolium castaneum* em milho armazenado. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v. 17, p. 1150-1158, 2015.

MAIA, M. F.; MOORE, S. J. Plant-based insect repellents: a review of their efficacy, development and testing. **Malaria Journal**, London, v. 10, (suppl. 1), 2011.

MALVEIRA CAVALCANTI, J. et al. The essential oil of *Croton zehntneri* and trans-anethole improves cutaneous wound healing. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 144, p. 240-247, 2012.

MANDAL, V.; MOHAN, Y.; HEMALATHA, S. Microwave assisted extraction – an innovative and promising extraction tool for medicinal plant research. **Pharmacognosy Reviews**, v. 1, p. 7-18, 2007.

MARIANO, F. D.; SANTOS, S.; SANTOS, F. F. Utilização de terra de diatomácea como alternativa no controle de insetos em grãos de trigo armazenado. **Revista Analytica**, v. 3, n. 24, p. 60-64, 2006.

MELO B. A. et al. Repellency and bioactivity of Caatinga biome plant powders against *Callosobruchus maculatus* (Coleoptera: Chrysomelidae: Bruchinae). **Florida Entomologist**, Lutz, v. 98, n. 2, p. 417–423, 2015.

MELO, G. F. A. E. et al. The sensitivity of bacterial foodborne pathogens to *Croton blanchetianus* Baill essential oil. **Brazilian Journal of Microbiology**, v. 4, p.1189-119, 2013.

MENEZES, E. L. A. **Inseticidas botânicos: seus princípios ativos, modo de ação e uso agrícola**. Seropédica, Rio de Janeiro: Embrapa Agrobiologia, 58p, 2005.

MONTEIRO-SANTOS, P. É. et al. Contact toxicity of essential oil of *Croton pulegioidorus* Baill on *Sitophilus zeamais* Motschulsky. **Revista Caatinga**, Mossoró, v. 32, n. 2, p. 329 – 335, 2019.

MORAIS, S. M. et al. Larvicidal activity of essential oils from Brazilian *Croton* species against *Aedes aegypti* L. **J Am Mosq Control Assoc.**, v. 22, n. 1, p. 161-164, 2006.

MORITA, M. et al. Molecular cloning and functional expression of triterpene synthases from pea (*Pisum sativum*): new α -amyrin-producing enzyme is a multifunctional triterpene synthase. **European Journal of Biochemistry**, v. 267, n. 12, p. 3453–3460, 2000.

MORÓN RODRIGUEZ, F. et al. Validación preclínica de extractos fluidos de *Croton argenteus* L.. **Revista Cubana Plant Med**, v. 11, n. 2, p. 0-0, 2006.

NERIO, L. S.; OLIVERO-VERBEL J, STASHENKO E. Repellent activity of essential oils: a review. **Bioresour Technol**, v. 101, p. 372–378, 2010.

NOGUEIRA, L. M. et al. Antinociceptive effect of the essential oil obtained from the leaves of *Croton cordifolius* Baill. (Euphorbiaceae) in mice. **Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine**, v. 2015, p. 1-7, 2015.

OLIVEIRA, J.; VENDRAMIM, J.; HADDAD, M. Bioatividade de pós vegetais sobre o caruncho do feijão armazenado. **Revista de Agricultura**, v. 4, p. 44-48, 1999.

OLMEDO, R. et al. Essential oil of *Tagetes filifolia* against the flour beetle *Tribolium castaneum* and its relation to acetylcholinesterase activity and lipid peroxidation. **Agriscientia**, v. 32, n. 2, p. 113-121, 2015.

PAPACHRISTOS, D. P. et al. The relationship between the chemical composition of 40 three essential oils and their insecticidal activity against *Acanthoscelides obtectus* (Say). **Pest Management Science**, v. 60, p. 514-520, 2004.

PAVELA, R. et al. Essential oils as prospective fumigants against *Tetranychus urticae* Koch. **Industrial Crops and Products**, v. 94, n. 1, p. 755-761, 2016.

PERES, L. E. P. **Metabolismo Secundário**. Piracicaba – São Paulo: Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz. ESALQ/USP, p. 1-10, 2004.

PERRUT, M. Supercritical fluid applications: industrial developments and economic issues. **Industrial and Engineering Chemistry Research**, v. 39 (12), p. 4531-4535, 2000.

PHILLIPS, A. K.; APPEL, A. G. Fumigant Toxicity of Essential Oils to the German Cockroach (Dictyoptera: Blattellidae). **Journal of Economic Entomology**, v. 103, n. 3, p. 781-790, 2010.

PRADO, D. E.; GIBBS, P. E. Patterns of species distributions in the dry seasonal forest South America. **Annals of the Missouri Botanical Garden**, Missouri, v. 80, p. 902-927, 1993.

PRATT, S. J. **Insect toxicology of phosphine**. 293p. Acton: Ed. Australian National University, (PhD. Thesis), 2005.

PROCÓPIO, T. F. et al. Interferência do extrato aquoso de folhas de *Tradescantia spathacea* na fisiologia nutricional do gorgulho do milho, *Sitophilus zeamais*. **Arrudea**, v.1, n. 1, p. 24 – 27, 2015.

PUZZI, D. **Manual de Armazenamento de Grãos**. São Paulo: Agronômica Ceres, 1977.

RATTAN, R. S. Mechanism of action of insecticidal secondary metabolites of plant origin. **Crop Protection**, v. 29, n. 1, p. 913-920, 2010.

RAUT, J. S.; KARUPPAYIL, S. M. A status review on the medicinal properties of essential oils. **Industrial Crops and Products**, v. 62, p. 250-264, 2014.

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

SAITO, M. L.; LUCCHINI, F. **Substâncias obtidas de plantas e a procura por praguicidas eficientes e seguros ao meio ambiente**. Jaguariúna, Embrapa – CNPMA, 46p. (Embrapa CNPMA. Série Documentos, 12), 1998.

SALOMÉ-ABARCA, L. F. et al. Chemical composition of scented extracts obtained from *Calendula officinalis* by three extraction methods. **Botanical Sciences**, v. 93 (3), p. 633–638, 2015.

SANGWAN, N. S. et al. Regulation of essential oil production in plants. **Plant Growth Regulation**, v. 34, p. 3-21, 2001.

SANTOS, G. K. N. et al. Effects of *Croton rhamnifolioides* Essential Oil on *Aedes aegypti* Oviposition, Larval Toxicity and Trypsin Activity. **Molecules**, v.19, n.10, p.16573-16587, 2014.

SAVARIS, M. et al. Evaluation of extracts and essential oils from *Cunila angustifolia* (Lamiales: Lamiaceae) leaves to control adults of maize weevil, *Sitophilus zeamais* (Coleoptera: Curculionidae). **International Journal of Entomological Research**, v. 2, n. 1, p. 23-28, 2014.

SERAFINI, L. A. et al. **Extrações e aplicações de óleos essenciais de plantas aromáticas e medicinais**. Caxias do Sul: EDUCS, 2002.

SHALMASHI, A. Ultrasound-assisted extraction of oil from tea seeds. **Journal of Food Lipids**, v. 16 (4), p. 465-474, 2009.

SILVA, C. V. et al. Composition and Insecticidal Activity of the Essential Oil of *Croton grewoides* Baill. Against Mexican Bean Weevil (*Zabrotes subfasciatus* Boheman). **Journal of Essential Oil Research**, v. 20, p. 179-182, 2008.

SILVA, J. S. et al. Sinopse das espécies de *Croton* L. (Euphorbiaceae) no estado de Pernambuco, Brasil. **Acta Bot. Bras**, v. 24, n. 2, p. 441-453, 2010.

SILVA, J. S.; SALES, F.; CARNEIRO-TORRES, D. S. O gênero *Croton* (Euphorbiaceae) na Microrregião do Vale do Ipanema, Pernambuco, Brasil. **Rodriguésia**, v. 4, p. 879-901, 2009.

SILVA, M. G. F. **Atividade antioxidante e antimicrobiana in vitro de óleos essenciais e extratos hidroalcóolicos de manjerona (*Origanum majorana* L.) e manjerição (*Ocimum basilicum* L.)**. 70 f. Trabalho de Conclusão de Curso (Bacharelado em Química Industrial/Licenciatura em Química), Universidade Tecnológica Federal do Paraná. Pato Branco, 2011.

SILVA, S. L. C. E. et al. Avaliação da atividade larvicida de extratos obtidos do caule de *Croton linearifolius* Mull. Arg. (Euphorbiaceae) sobre larvas de *Aedes aegypti* (Linnaeus, 1762) (Diptera: Culicidae). **Revista Biotemas**, Florianópolis, v. 27, n. 2, p. 79-85, 2014.

SILVEIRA, R. D. et al. Influência da temperatura do grão de milho, no momento da pulverização e do período de armazenamento, na mortalidade de *Sitophilus zeamais* e *Tribolium castaneum*, pela mistura bifenthrin e pirimifós-metil. **Revista Brasileira de Armazenamento**, v. 31, n. 2, p. 120-124, 2006.

SIMÕES, C. M. O. et al. **Farmacognosia: da planta ao medicamento**. Porto Alegre: UFRGS, 821p, 2007.

SIMÕES, C. M. O. et al. **Farmacognosia: da planta ao medicamento**. 5ª edição. Porto Alegre/Florianópolis: Editora UFRGS/Editora UFSC, 2003. p. 43-74.

SIMÕES, C. M. O. et al. **Farmacognosia: da planta ao medicamento**. 6. ed. Porto Alegre: Universidade Federal do Rio Grande do Sul, 2010. 1104 p.

SMANIOTTO, L. et al. Bioatividade da *Cabralea canjerana* (Vell.) Mart. (Meliaceae) no controle de adultos de *Acanthoscelides obtectus* (Coleoptera: Bruchidae) em laboratório. **Biotemas**, v. 23, n. 2, p. 31-35, 2010.

SOARES, C. S. A. et al. Ação inseticida de óleos essenciais sobre a lagarta desfolhadora *Thyrintina arnobia* (Stoll) (Lepidoptera: Geometridae). **Revista Verde** (Mossoró-RN), v. 6, n. 2, p. 154-157, 2011.

SOUZA, V. N. D. et al. Fumigation Toxicity Of Essential Oils Against *Rhyzopertha dominica* (F.) In Stored Maize Grain. **Revista Caatinga**, Mossoró, v. 29, n. 2, p. 435-440, 2016.

STEFFANI, E. **Modelagem matemática do processo de extração supercrítica de óleo essencial de Ho-Sho (*Cinnamomum camphora* Nees & Eberm var. *linaloolífera* Fujita) Utilizando CO₂**. 106 p. Tese (Doutorado em Engenharia Química) – Universidade Federal de Santa Catarina, 2003.

TANDON, S.; MITTAL, A. K.; PANT, A. K. Insect growth regulatory activity of *Vitex trifolia* and *Vitex agnus-castus* essential oils against *Spilosoma obliqua*. **Fitoterapia**, Amsterdam, v. 79, n. 4, p. 283-286, 2008.

TEIXEIRA, B. et al. Chemical composition and antibacterial and antioxidant properties of commercial essential oils. **Industrial Crops and Products**, v. 43. pp. 587-595, 2013.

TORRES, C. et al. Insecticidal activity of *Laurelia sempervirens* (Ruiz & Pav.) Tul. Essential oil against *Sitophilus zeamais* Motschulsky. **Chilean Journal of Agricultural Research**, v. 74, n. 4, p. 421-426, 2014.

TUREK, C.; STINTZING, F. C. Stability of Essential Oils: A Review. **Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety**, v. 12, n. 1, p. 40-53, 2013.

VALGIMIGLI, L. Essential oils as natural food additives: composition, applications, antioxidant and antimicrobial properties 1. ed. New York: **Nova Science Publishers**, 2012, 466 p.

VENDRAMIM, J. D.; THOMAZINI, A. P. B W. Traça *Tuta absoluta* (Meyrick) em cultivares de tomateiro tratadas com extratos aquosos de *Trichilia pallida* Swartz. **Scientia Agrícola**, v. 58, n. 3, p. 607-611, 2001.

VINHA, M. B. et al. Impactos do uso indiscriminado de agrotóxicos em frutas e hortaliças. **Revista Brasileira de Agropecuária Sustentável**, v. 3, n. 1, p. 1-5, 2011.

VOLPATO, A. et al. Avaliação in vitro dos efeitos inseticida e larvicida de oito óleos essenciais sobre o cascudinho aviário (*Alphitobius diaperinus*), **Archives of Veterinary Science**, v. 23, n. 2, p. 84-90, 2018.

WENQIANG, G. et al. Comparison of essential oils of clove buds extracted with supercritical carbon dioxide and other three traditional extraction methods. **Food Chemistry**, v. 101, p. 1558–1564, 2007.

XAVIER, M. V. A. et al. Toxicidade e repelência de extratos de plantas da caatinga sobre *Tetranychus bastosi* Tutler, Baker & Sales (Acari: Tetranychidae) em pinhão-mansão. **Revista Brasileira de Plantas Medicinais**, v. 18, p. 14-063, 2015.

XIMENES, R. M. et al. Antinociceptive and wound healing activities of *Croton adamantinus* Müll. Arg. essential oil. **Journal of Natural Medicines**, v. 67, n. 4, p. 758-764, 2013.

YORK, T.; VANVUUREN, S. F.; DEWET, H. An antimicrobial evaluation of plants used for the treatment of respiratory infections in rural Maputaland, KwaZulu-Natal, South Africa. **Journal of Ethnopharmacol**, [S.l.], v. 144, p. 118–127, 2012.

ZOUBIRI, S.; BAALIOUAMER, A. Chemical composition and insecticidal properties of some aromatic herbs essential oils from Algeria. **Food Chemistry**, Amsterdam, v. 129, n. 1, p. 179-182, 2011.

4 ARTIGO 1

Caracterização química e atividade inseticida do óleo essencial de folhas de *Croton argenteus* sobre *Sitophilus zeamais* e *Tribolium castaneum*

O artigo será submetido ao periódico *Pest Management Science*



Fator de impacto: 3.249

Caracterização química e atividade inseticida do óleo essencial de folhas de *Croton argenteus* sobre *Sitophilus zeamais* e *Tribolium castaneum*

Cilene Rejane Inácio de Magalhães Lira^a, Antonielson Bezerra da Silva^c, Patryck Érmerson Monteiro dos Santos^a, Thâmarah de Albuquerque Lima^a, Júlio César Ribeiro de Oliveira Farias de Aguiar^d, Daniela Maria do Amaral Ferraz Navarro^d, Carlos Romero Ferreira de Oliveira^b, Thiago Henrique Napoleão^a, Patrícia Maria Guedes Paiva^{a*}.

^a*Departamento de Bioquímica, Centro de Biociências, Universidade Federal de Pernambuco, Recife, Pernambuco, Brasil.*

^b*Universidade Federal Rural de Pernambuco/Unidade Acadêmica de Serra Talhada, Serra Talhada, Pernambuco, Brasil.*

^c*Departamento de Entomologia, Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia, Manaus, Amazonas, Brasil.*

^d*Departamento de Química Fundamental, Centro de Ciências Exatas e Naturais, Universidade Federal de Pernambuco, Recife, Pernambuco, Brasil.*

*Corresponding author. E-mail address: ppaivaufpe@yahoo.com.br

RESUMO

Plantas com ação inseticida têm sido cada vez mais utilizadas como método alternativo no controle de pragas que ocorrem em produtos armazenados. Neste trabalho foram avaliadas a composição química e a toxicidade do óleo essencial obtido de folhas de *C. argenteus* sobre as espécies-praga *Sitophilus zeamais* e *Tribolium castaneum*. O óleo foi obtido por meio de hidrodestilação em Clevenger e seus constituintes foram caracterizados e quantificados por cromatografia gasosa seguida de espectrometria de massa (CG/MS). A análise cromatográfica revelou o (E)-cariofileno (23,38%), germacreno D (14,66%), α -Guaieno (9,75%) e β -Elemeno (7,05%) como sendo compostos encontrados em maior quantidade. Nos ensaios de toxicidade por fumigação e ingestão, o óleo essencial de *C. argenteus* mostrou-se inseticida sobre *S. zeamais* e *T. castaneum*. As CL₅₀ para os ensaios de fumigação foram de 5,75 e 1,7 μ g/g de milho para *S. zeamais* e *T. castaneum* respectivamente. No ensaio de toxicidade por ingestão

o óleo apresentou CL₅₀ de 35,22 e 27,5 µL/L para *S. zeamais* e *T. castaneum*. Foi observada atividade repelente para ambas espécies de insetos, provocando redução na oviposição e emergência, resultando, consequentemente, em redução na taxa instantânea de crescimento. A repelência também afetou os parâmetros nutricionais, pois havendo recusa à dieta artificial oferecida houve perda de peso. Após as análises, conclui-se que óleo essencial de *C. argenteus* provocou efeito tóxico por fumigação e ingestão à *S. zeamais* e *T. castaneum*, demonstrando ser uma alternativa para o uso nos programas de manejo desses insetos em unidades armazenadoras.

Palavras-chave: Produtos armazenados; Inseticidas botânicos; Insetos-praga.

ABSTRACT

Plantas com ação inseticida têm sido cada vez mais utilizadas como método alternativo no controle de pragas que ocorrem em produtos armazenados. Neste trabalho foram avaliadas a composição química e a toxicidade do óleo essencial obtido de folhas de *C. argenteus* sobre as espécies-praga *Sitophilus zeamais* e *Tribolium castaneum*. O óleo foi obtido por meio de hidrodestilação em Clevenger e seus constituintes foram caracterizados e quantificados por cromatografia gasosa seguida de espectrometria de massa (CG/MS). A análise cromatográfica revelou o (E)-cariofileno (23,38%), germacreno D (14,66%), α-Guaieno (9,75%) e β-Elemeno (7,05%) como sendo compostos encontrados em maior quantidade. Nos ensaios de toxicidade por fumigação e ingestão, o óleo essencial de *C. argenteus* mostrou-se inseticida sobre *S. zeamais* e *T. castaneum*. As CL₅₀ para os ensaios de fumigação foram de 5,75 e 1,7 µg/g de milho para *S. zeamais* e *T. castaneum* respectivamente. No ensaio de toxicidade por ingestão o óleo apresentou CL₅₀ de 35,22 e 27,5 µL/L para *S. zeamais* e *T. castaneum*. Foi observada atividade repelente para ambas espécies de insetos, provocando redução na oviposição e emergência, resultando, consequentemente, em redução na taxa instantânea de crescimento. A repelência também afetou os parâmetros nutricionais, pois havendo recusa à dieta artificial oferecida houve perda de peso. Após as análises, conclui-se que óleo essencial de *C. argenteus* provocou efeito tóxico por fumigação e ingestão à *S. zeamais* e *T. castaneum*, demonstrando ser uma alternativa para o uso nos programas de manejo desses insetos em unidades armazenadoras.

Keywords: Stored products; Botanical insecticides; Pest insects.

1. Introdução

O Brasil apresenta um considerável potencial para o crescimento de sua produção de cereais, incluindo o milho (*Zea mays* L.), de forma eficiente e menos agressiva com relação ao meio ambiente, por meio do aumento da produtividade, produção e com melhorias nas condições no armazenamento. Atualmente, é o terceiro maior produtor de milho, tendo sido produzidas cerca de 82 milhões de toneladas nas safras 2018/2019 e com aumento para a safra de 2019/2020, cerca de 98.409,3 milhões de toneladas (CONAB, 2019). Mesmo com tamanha produtividade, ocorrem enormes perdas durante o armazenamento do grão por vários fatores, incluindo o ataque de insetos praga, destacando-se o *Sitophilus zeamais* (Motschulsky, 1885) (Coleoptera: Curculionidae) como praga primária e *Tribolium castaneum* (Herbest, 1797) (Coleoptera: Tenebrionidae) como secundária (SILVA et al., 2012; MIKAMI et al., 2012).

O *S. zeamais* é a principal praga primária de milho armazenado, conhecida popularmente como caruncho. Possui elevada capacidade reprodutiva, habilidade para atacar grãos nos mais variados ambientes, desde o campo até os armazéns e de sobreviver nos ambientes mais hostis (silos) e, devido a sua alta taxa de multiplicação, causa elevados prejuízos econômicos (ELIAS et al., 2009). *T. castaneum* é uma praga secundária, devido ao fato de se aproveitar para estabelecer-se em grãos moídos, quebradiços ou já atacados por pragas primárias (LORINI et al., 2010; ANTUNES et al., 2011). Esse inseto pode ocasionar perdas ainda maiores que as causadas pelo ataque de pragas primárias (ATHIÉ, 2002).

O método mais utilizado para controlar insetos-praga na agricultura ainda se dá por meio da utilização de inseticidas químicos. Contudo, inúmeros fatores negativos apareceram devido ao uso indiscriminado desses inseticidas, os quais são altamente tóxicos aos aplicadores, causam contaminação ambiental e têm sido associados com o desenvolvimento de populações de insetos resistentes (BRAVO et al., 2011; FINKLER, 2012).

Com a finalidade de reduzir tais impactos negativos, alternativas para o manejo destes insetos-praga vêm sendo estudadas (FINKLER, 2012). Uma das formas para minimizar o uso dos inseticidas sintéticos é o uso de óleos essenciais de plantas, pós ou extratos vegetais, que são degradados de maneira mais rápida e que geralmente são ecologicamente corretos e seguros para os seres humanos (SMANIOTTO et al., 2010; EBADOLLAHI, 2011; DUTTA, 2015).

Pesquisas atuais vêm evidenciando o potencial de óleos essenciais na proteção de sementes e no manejo de várias pragas de produtos armazenados no Brasil (COITINHO et al., 2011; BRITO et al., 2015; MAGALHÃES et al., 2015; SOUZA et al., 2016; ARAÚJO

et al., 2017). Os óleos essenciais podem agir de diferentes formas sobre os insetos (SUTHISUT; FIELDS; CHANDRAPATYA, 2011; KŁYS; MALEJKY; NOWAK-CHMURA, 2017), provocando alterações bioquímicas, fisiológicas e comportamentais que podem resultar em morte ou afetarem o seu crescimento e reprodução (CABALLERO-GALLARDO et al., 2011; CHAUBEY, 2016).

Diversos trabalhos comprovam a eficácia de óleos essenciais obtidos de espécies de *Croton* L. (Euphorbiaceae), quanto ao potencial inseticida sobre coleópteros pragas de produtos armazenados. Silva et al. (2012) avaliando a toxicidade de contato do extrato etanólico de *Croton heliotropiifolius* Kunth. sobre *S. zeamais*, concluíram que o mesmo possui atividade inseticida de contato contra adultos de *S. zeamais* e que a resposta a essa toxicidade varia de acordo com a origem geográfica da população analisada. Brito et al. (2015) avaliaram a toxicidade por fumigação, o efeito repelente, o efeito na oviposição e na emergência da geração F1 dos óleos essenciais de *C. heliotropiifolius*, *Croton pulegioidorus* Baill., *Myracrodruon urundeuva* Allemão e *Ocimum basilicum* L. sobre *Zabrotes subfasciatus* Boh. (Coleoptera: Chrysomelidae) e concluíram que os óleos de *O. basilicum* e *C. pulegioidorus* são promissores no controle de populações de *Z. subfasciatus*. Magalhães et al. (2015) ao investigarem o potencial inseticida dos mesmos óleos essenciais usados por Brito et al. (2015) sobre adultos de *Tribolium castaneum* (Herbst, 1797) (Coleoptera: Tenebrionidae), verificaram atividade inseticida do óleo essencial de *M. urundeuva*; atividade repelente e redução na taxa de emergência para os quatro óleos testados e redução no crescimento populacional de *T. castaneum* em grãos de milho tratados os óleos essenciais de *C. pulegioidorus* e *O. basilicum*. Em um estudo realizado por Carvalho et al. (2016), foi possível mostrar que os óleos essenciais da casca e das folhas de *Croton urucurana* Baill (Euphorbiaceae) foram tóxicos para o gorgulho do feijão *Callosobruchus maculatus* (Coleoptera: Chrysomelidae: Bruchinae), onde o óleo essencial da casca causou uma mortalidade superior a 80% e ambos reduziram o crescimento populacional de insetos. Já no que se refere às pesquisas sobre o potencial do óleo essencial obtido de *Croton argenteus* Linnaeus no controle de insetos, nada foi encontrado até o momento na literatura.

Diante do ponto de vista de fornecer subsídios para o manejo de *S. zeamais* e de *T. castaneum* e com o intuito de encontrar métodos alternativos sob a perspectiva ecológica, esta pesquisa teve como objetivos caracterizar os compostos secundários do óleo essencial obtido de folhas de *C. argenteus*, avaliar sua toxicidade por meio de fumigação e ingestão, analisando parâmetros como repelência, taxa instantânea de crescimento e fatores nutricionais sobre as espécies de coleópteros-praga de milho, *Sitophilus zeamais* e *Tribolium castaneum*.

2. Material e Métodos

2.1. Área de estudo

Os experimentos foram desenvolvidos no Núcleo de Ecologia de Artrópodes (NEA) e no Laboratório da Pós-Graduação em Produção Vegetal, da Unidade Acadêmica de Serra Talhada (UAST), da Universidade Federal Rural de Pernambuco (UFRPE), no município de Serra Talhada-PE.

2.2. Criações de *Sitophilus zeamais* e *Tribolium castaneum*

Primeiramente foram mantidas criações sucessivas de *S. zeamais* e *T. castaneum* em condições de laboratório. Os insetos foram postos em potes plásticos, fechados, com a tampa plástica sido perfurada e revestida internamente com tecido fino para que houvessem as trocas gasosas. As criações foram mantidas em câmara climática tipo B.O.D, a 28 ± 2 °C, $70 \pm 5\%$ de UR e 24h de fotofase, tendo sido utilizados grãos de milho e pó de milho triturado como substrato alimentar, com teor de umidade de 13% base úmida (b.u.). Em todos os ensaios foram utilizados insetos não sexados e com idade conhecida (0 a 15 dias).

2.3. Coleta do material vegetal

O material vegetal utilizado para a produção do óleo essencial de *C. argenteus* foi coletado no Parque Estadual Mata da Pimenteira no Município de Serra Talhada-PE, Brasil, em 22 de Março de 2017, no horário entre 07h00 e 09h00, localizado nas coordenadas geográficas: latitude 7° 51' 45.234"S e longitude 38° 10' 30.389"W. Foi realizada apenas uma coleta. O clima, segundo a classificação de Köppen, é do tipo BSw. Os dados climatológicos no mês da realização do estudo foram obtidos do INMET - Instituto Nacional de Meteorologia. A temperatura manteve uma média de 27,1 °C com a temperatura máxima de 33,2 °C e mínima de 22,4°C, precipitação de 103 mm e umidade relativa de 57%. A identificação da planta foi realizada por especialista do Herbário do Semiárido do Brasil (HESBRA) onde exsiccatas testemunhas foram depositadas, sob Voucher: HESBRA 1944 (R. Melo & S. S. Matos 59).

2.4. Obtenção do óleo essencial

Para obtenção do óleo essencial, foram utilizadas folhas de *C. argenteus*. Após a coleta, as folhas foram colocadas em sacos de papel do tipo kraft (2 kg) e em seguida colocadas para secar em uma estufa a 50 °C, durante aproximadamente 48 horas. Posteriormente, as folhas secas foram submetidas ao processo de hidrodestilação com aparato de Clevenger, seguindo a metodologia de Santos et al., (2007) com modificações, por aproximadamente 2 horas. Em cada extração foram utilizadas 200 g de folhas secas e 3 L de água destilada. Em seguida, com o auxílio de um funil de decantação foram adicionados 400 mL de emulsão e 100 mL do solvente diclorometano (CH_2Cl_2), e a reação formou duas fases: uma de óleo-solvente e outra de água. Após a retirada do funil, a mistura óleo-solvente foi submetida ao processo de separação do óleo/solvente através de um rotaevaporador acoplado a uma bomba de vácuo. O óleo essencial obtido foi armazenado em um vidro do tipo âmbar, sob temperatura entre 6 e 10 °C.

2.5. Análise por cromatografia gasosa acoplada a espectrometria de massas

Para a análise dos compostos do óleo essencial de *C. argenteus*, foram dissolvidos 2 mg do óleo em 1 mL de hexano bidestilado. 1 μL dessa solução foi injetada e analisada em um cromatógrafo gasoso acoplado a um espectrômetro de massas com analisador do tipo quadrupolo Agilent 5975C Series (Agilent Technologies, Palo Alto, USA) equipado com coluna apolar HP-5 (Agilent J&W, 60 m $\times$ 0.25 mm diâmetro interno; espessura do filme 0.25 μm). As amostras foram avaliadas sob as seguintes condições: temperatura inicial de 40 °C (mantida por 2 min), rampa de aquecimento de 4 °C/min e temperatura final de 230 °C, que foi mantida por 5 minutos. O gás de arraste utilizado foi o hélio, a fluxo constante de 1 mL por minuto e a temperatura do injetor foi mantida a 250 °C. Os compostos eluídos da coluna cromatográfica foram ionizados por impacto de elétrons a 70 eV. A fonte de ionização foi mantida a 230 °C e o quadrupolo a 150 °C. Os espectros de massa foram obtidos no modo *scan* com velocidade de 0,5 scan por segundo, com faixa de varredura de m/z de 35 a 550.

Uma alíquota de 1 μL do óleo essencial foi injetada em modo *split 1:50*. Os compostos foram identificados por meio da análise dos espectros de massa de cada pico cromatográfico, comparação com padrões autênticos e cálculo de índices de retenção. Foram calculados os índices de retenção linear dos componentes do óleo de *C. argenteus* utilizando-se os tempos de retenção de cada composto e os tempos de retenção de n-alcenos (C_9 a C_{25}) analisados sob

as mesmas condições. Os valores calculados foram comparados com os índices de retenção publicados na literatura (ADAMS, 2007; NIST WebBook, 2014).

A mesma amostra foi quantificada através da injeção em triplicata de 1 µL em modo *splitless* em um cromatógrafo gasoso equipado com coluna apolar VB-5 (thermo trace GC ultra, 60 m × 0.25 mm diâmetro interno; espessura do filme 0.25 µm). As amostras foram analisadas sob as seguintes condições: temperatura inicial de 40 °C (mantida por 2 min), rampa de aquecimento de 4 °C/min e temperatura final de 230 °C, que foi mantida por 5 minutos. O gás de arraste utilizado foi o nitrogênio, a fluxo constante de 1 mL por minuto e a temperatura do injetor foi mantida a 250 °C. Os compostos eluídos da coluna cromatográfica foram detectados através de queimadores em chama (FID) a 250 °C.

2.6. Efeito fumigante do óleo essencial sobre *Sitophilus zeamais* e *Tribolium castaneum*

Os experimentos foram conduzidos em câmara climatizada ajustada a 28 ± 2 °C, $70 \pm 5\%$ UR e fotofase de 24 h. Avaliou-se o efeito fumigante do óleo essencial de *C. argenteus* sobre adultos de *S. zeamais* e *T. castaneum* de acordo com uma adaptação da metodologia descrita por Aslan et al. (2004). Foram utilizados como câmaras de fumigação potes de vidro (tipo bomboniere) de 300 mL de capacidade, onde foram confinados 10 adultos de *S. zeamais* ou *T. castaneum* (em experimentos individuais) não sexados e com zero a quinze dias de idade. As concentrações utilizadas do óleo essencial de *C. argenteus* foram 10, 20, 40, 60, 80 e 100 µL/L de ar e controle (sem tratamento). O óleo foi impregnado com pipetador automático, em tiras de papel de filtro de 5 x 2 cm, fixadas na superfície inferior da tampa dos recipientes.

Para evitar o contato direto dos insetos com o óleo essencial, foi utilizado um tecido poroso (tipo “voil”), entre a tampa e o recipiente propriamente dito. Os recipientes foram vedados com filme plástico (PVC) e fita adesiva, visando evitar a saída dos vapores. Após 48 horas avaliou-se a porcentagem de mortalidade. Os resultados obtidos foram submetidos à análise de probitos para a estimativa das concentrações letais (CL₅₀ e CL₉₀), para cada um dos insetos, ou seja, a concentração necessária para matar 50% e 90% dos insetos. Após o resultado da análise de Probit, os resultados foram testados novamente para confirmação das CL₅₀ e CL₉₀. Os bioensaios foram montados separadamente para cada espécie, em delineamento inteiramente casualizado, com sete concentrações em quadruplicata.

2.7. Avaliação da toxicidade por ingestão do óleo essencial na fisiologia nutricional de *Sitophilus zeamais* e *Tribolium castaneum*

Os ensaios foram realizados de acordo com uma adaptação da metodologia de Xie et al. (1996) descrita por Napoleão et al. (2013). Cada ensaio consistiu em placas de petri com dimensões de 90 x 15 mm contendo cinco discos de uma mistura composta por farinha de trigo com o óleo essencial de *C. argenteus*. Para o preparo da dieta artificial, quantidades crescentes de óleo em 1% de dimetilsulfóxido (DMSO) foram utilizadas para preparar suspensões com farinha de trigo autoclavada com concentrações finais de 10, 30, 40 e 50 µL/g (µL óleo puro/g de farinha de trigo) e no controle negativo foi utilizada farinha contendo 1% dimetilsulfóxido. A suspensão foi homogeneizada por cerca de 5 min, em seguida foram preparados os discos, retirando-se uma alíquota de 200 µL da mistura para cada disco. As placas de petri foram levadas à estufa na temperatura de 56 °C por um período de 24 h, posteriormente o peso dos discos foi registrado. Grupos de 15 insetos (*S. zeamais* ou *T. castaneum*) com peso conhecido foram transferidos para cada uma das placas de petri. Os ensaios foram realizados em quintuplicata e levados à B.O.D com temperatura de 28 ± 2 °C. Decorridos 7 dias da montagem do experimento, foram avaliados o peso dos discos e dos insetos. E passados 7 e 15 dias avaliada a taxa de mortalidade. Ainda foram estimados os seguintes dados nutricionais: Taxa de ganho relativo de biomassa (TGB): $(\text{biomassa ganha})/(\text{biomassa inicial dos insetos} \times \text{dias})$ e eficiência de conversão do alimento ingerido (ECAI): $(\text{biomassa adquirida}/\text{biomassa ingerida}) \times 100$.

2.8. Efeitos repelente e emergência de adultos de sobre *Sitophilus zeamais* e *Tribolium castaneum*

Os experimentos foram conduzidos em câmara climatizada ajustada a 28 ± 2 °C, $70 \pm 5\%$ UR e fotofase de 24 h. Avaliou-se o efeito repelente do óleo essencial de *C. argenteus* sobre adultos de *S. zeamais* e *T. castaneum*, sendo utilizadas as concentrações de 10, 20, 40, 60, 80 e 100 µL e controle (sem tratamento).

O óleo foi testado em arenas compostas por dois potes plásticos, um contendo 20 g de grãos de milho para *S. zeamais* ou pó de milho triturado para *T. castaneum* tratados com o óleo essencial e no outro a mesma quantidade não tratada (controle), ambos interligados simetricamente a um pote central por dois tubos plásticos. As concentrações do óleo foram aplicadas diretamente nos grãos de milho ou pó com pipetador automático. No pote localizado

na região central foram colocados 10 adultos não sexados de *S. zeamais* ou *T. castaneum* com 0 a 15 dias de idade. Foram montados experimentos individuais para cada uma das espécies, em delineamento inteiramente casualizado, com 07 concentrações e quatro repetições.

Após cinco dias da colocação no pote central, os insetos contidos em cada pote foram contabilizados e descartados. Os grãos ou pó foram acondicionados em outros recipientes plásticos e levados à B.O.D a 28 ± 2 °C, $70 \pm 5\%$ UR e fotofase de 24 h e os adultos emergidos foram contabilizados após 34 dias (*S. zeamais*) e 28 dias (*T. castaneum*) da infestação.

O índice de repelência (IR) foi obtido pela fórmula: $IR = 2G / (G + P)$, onde G = % de insetos atraídos no tratamento e P = % de insetos atraídos na testemunha. Os valores de IR podem variar entre zero e dois, sendo que IR = 1 indica repelência semelhante entre o tratamento e a testemunha (tratamento neutro), IR > 1 indica menor repelência do tratamento em relação à testemunha (tratamento atraente) e IR < 1 corresponde à maior repelência do tratamento em relação à testemunha (tratamento repelente). O intervalo de segurança (IS) é utilizado para considerar se o tratamento é ou não repelente, obtido usando-se a média dos IR (índice de repelência) e o respectivo desvio padrão (DP), ou seja, se a média dos IR for menor que $1 - DP$, o óleo é repelente; se for maior que $1 + DP$ o óleo é atraente e se estiver entre $1 - DP$ e $1 + DP$ o óleo é considerado neutro (FINNEY, 1971).

A porcentagem média da emergência de adultos foi calculada, de acordo com a fórmula: $PR = [(NC - NT) / (NC + NT) \times 100]$, sendo PR= percentual médio de emergência, NC= média de insetos emergidos na testemunha e NT= média de insetos emergidos no tratamento (OBENG-OFORI, 1995).

2.9. Efeito do óleo essencial sobre a taxa instantânea de crescimento (r_i) de *Sitophilus zeamais* e *Tribolium castaneum*

Foram montados experimentos independentes para cada espécie de inseto, sob delineamento inteiramente casualizado, com as concentrações de 10, 20, 40, 60, 80 e 100 µL e controle (sem tratamento) em quadruplicata.

As unidades experimentais consistiram de potes fechados com a tampa plástica perfurada e revestida internamente com tecido fino para permitir as trocas gasosas. Em cada pote foram colocadas 20 g de grãos de milho para *S. zeamais* ou pó de milho triturado para *T. castaneum*. O óleo foi aplicado diretamente nos grãos de milho ou pó de milho triturado com auxílio de pipetador automático. Em cada um dos potes foram liberados 10 adultos não

sexados de *S. zeamais* ou *T. castaneum* com 0 a 15 dias de idade. Os potes foram armazenados por 60 dias em câmara climatizada ajustada a 28 ± 2 °C, $70 \pm 5\%$ UR e fotofase de 24 h.

Decorridos 60 dias, foi contabilizado o número de insetos emergidos e calculada a taxa instantânea de crescimento populacional. Utilizando-se a equação: $r_i = [\ln(N_f/N_0)/\Delta T]$, onde N_f = Número final de insetos; N_0 = Número inicial de insetos e ΔT = Variação de tempo (número de dias em que o ensaio foi executado). Valor positivo de r_i indica crescimento populacional; $r_i = 0$ significa que a população encontra-se estável e valor negativo de r_i indica declínio da população até a extinção, quando $N_f = 0$ (WALTHALL; STARK, 1997).

2.10. Análise estatística

As diferenças significativas entre os tratamentos foram analisadas pelo teste de Tukey ($p < 0,05$) empregando-se o programa computacional ASSISTAT versão 7.7 Beta.

Os dados de mortalidade foram analisados pelo modelo Probit (FINNEY, 1971) para determinar os valores da CL_{50} e CL_{90} , com intervalos de confiança de 95%, por meio do software *R versão 3.5.0* para Windows

3. Resultados e discussão

O gênero *Croton* possui várias espécies com potencial inseticida, inclusive encontradas na Caatinga, que têm se mostrado promissoras para o controle de insetos-pragade grãos armazenados (SOUZA et al., 2010; COITINHO et al., 2011; OOTANI et al., 2011; HAMEED et al., 2012; QUEIROGA et al., 2012).

As análises cromatográficas realizadas em CG/EM permitiram a detecção dos componentes presentes no óleo essencial de *C. argenteus* (Tabela 1).

Tabela 1 – Compostos químicos presente no óleo essencial extraídos das folhas de *C. argenteus*.

Composto	Índice de Retenção		Área (%)	S.D
	Calculado	Literatura		
δ -Elemeno	1341	1335	2,21	0,06
α -Copaeno	1380	1374	6,34	0,17
β -Elemeno	1396	1389	7,05	0,12

Cypereno	1403	1398	2,68	0,06
(E)-Cariofileno	1424	1417	23,38	0,58
γ -Elemeno	1438	1434	2,18	0,13
α -Guaieno	1443	1437	9,75	0,07
α -Humuleno	1458	1452	4,65	0,12
γ -Muuroleno	1481	1478	1,16	0,10
Germacreno D	1486	1480	14,66	0,14
δ -Selineno	1496	1492	1,14	0,04
Biciclogermacreno	1501	1500	4,59	0,02
α -Bulneseno	1511	1509	2,84	0,04
δ -Cadineno	1529	1522	2,21	0,06
Germacreno B	1563	1559	0,53	0,02
Identificados			85,38	
Não identificados			14,62	

A análise dos constituintes do óleo essencial de folhas *C. argenteus* permitiu a identificação de 15 compostos representando 85,38% dos constituintes do óleo e revelou a presença de componentes reconhecidamente inseticidas, como o (E)-Cariofileno, germacreno D, γ -elemeno e biciclogermacreno (PIETRO et al., 2011; GUO et al., 2015). Essa análise revelou também que os compostos majoritários eram: (E)-Cariofileno (23,38%), Germacreno D (14,66%), α -Guaieno (9,75%) e β -Elemeno (7,05%). O índice de retenção e a percentagem de compostos identificados constam na Tabela 1. O óleo essencial de *C. argenteus* foi caracterizado pela predominância de constituintes químicos da classe dos sesquiterpenos como principais componentes.

Óleos essenciais de várias espécies do gênero *Croton* têm sido classificados como misturas complexas, apresentando monoterpenos e sesquiterpenos como composição predominante (MECCIA et al., 2000), dados compatíveis aos encontrados neste trabalho. No que se diz respeito aos sesquiterpenos, encontrados em maiores proporções no óleo essencial de *C. argenteus*, o germacreno D é encontrado em vários óleos essenciais, e apresenta atividades biológicas, incluindo toxicidade para algumas espécies de insetos (PIETRO et al., 2011).

Santos (2016) identificou e quantificou 15 constituintes presentes em folhas e caule de *C. argenteus*, correspondendo a 66% em massa, dos quais 2 eram monoterpenos, 12 sesquiterpenos e 1 diterpeno. Entre os compostos identificados estão óxido de cariofileno (26,6%) como composto majoritário, seguido de espatulenol (9,0%) e cariofileno (4,8%).

A composição química de *C. argenteus* é semelhante com dados da literatura para várias espécies de *Croton*, onde monoterpenos e sesquiterpenos são predominantes na composição química desses óleos essenciais (MECCIA et al., 2000).

Foram observadas diferenças significativas em todas as concentrações na taxa de mortalidade para o efeito fumigante do óleo essencial de *C. argenteus* sobre *S. zeamais* ($F=6.77$; $p < 0.000$; $GL=6$) (Figura 1A) e para *T. castaneum* ($F=47.78$; $p < 0.000$; $GL=6$) (Figura 1B). De maneira geral, nos testes de fumigação observou-se um aumento gradativo da mortalidade tanto para *S. zeamais* como para *T. castaneum*, com o aumento das concentrações utilizadas (Figuras 1A e 1B). Quando comparado o efeito do óleo essencial de *C. argenteus* entre os dois insetos, nota-se que em *S. zeamais* apresentou mortalidades inferiores às de *T. castaneum*, onde a partir da concentração de 100 $\mu\text{L/L}$ de ar só foi observada 60% para *S. zeamais*, já para *T. castaneum*, com doses mais baixas, 40 $\mu\text{L/L}$ de ar, foi detectada 60% de mortalidade.

Brito et al. (2015), estudando os óleos essenciais de *Croton heliotropiifolius* Kunth (Euphorbiaceae) e *Croton pulegioidorus* Baill (Euphorbiaceae), espécies encontradas na Caatinga, sobre coleópteros-praga de feijão armazenado, observaram em testes de fumigação que *C. pulegioidorus* é promissor para o manejo integrado de *Zabrotes subfasciatus* (Coleoptera, Bruchidae) em feijão-comum armazenado, tendo a concentração mais baixa (5 $\mu\text{L/L}$ de ar) provocado 100% de mortalidade dos adultos infestantes.

Silva (2006) identificou 56 constituintes do óleo essencial do *C. pulegioidorus*, os quais representaram 85,32% do total. Os monoterpenos e os sesquiterpenos representaram 2,11% e 83,21% respectivamente, do total de constituintes. Sendo β -Cariofileno (21,80%), biciclogermacreno (17,49%), germacreno D (10,16%), t- Cadinol (4,22%) e b- Copaen-4-a-ol (4,15%) como constituintes majoritários.

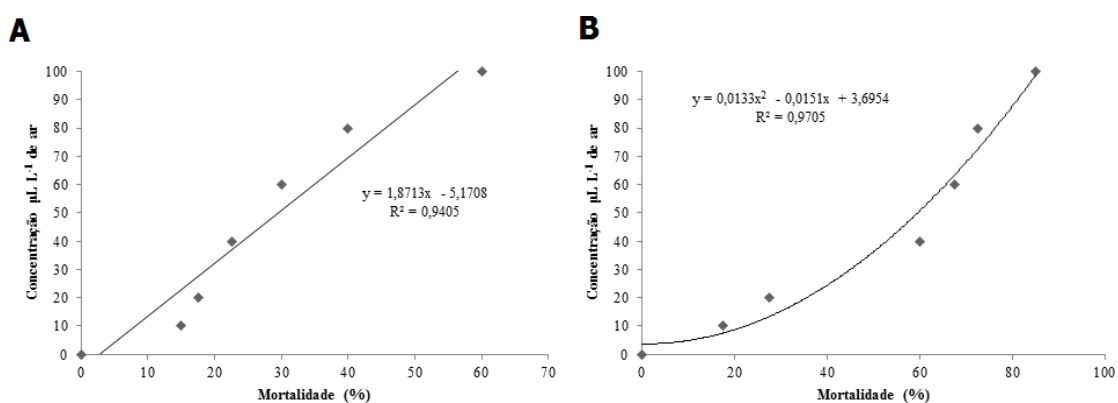
Mercês et al. (2018) avaliaram e identificaram a composição fitoquímica do óleo essencial de *Hymenaea courbaril* L. var. *courbaril* e verificaram os efeitos sobre *Tetranychus urticae* Koch e *S. zeamais*, sendo identificado o óxido de cariofileno e β -cariofileno como compostos majoritários no óleo essencial desta espécie, $20,63 \pm 0,18\%$ e $16,78 \pm 0,54\%$, respectivamente. Ainda foi observado que o óleo essencial demonstrou ser um potencial controle das pragas testadas por afetar o metabolismo e a reprodução, corroborando com os resultados obtidos para *S. zeamais* com *C. argenteus*, já que o (E)-Caryophyllene também foi o composto majoritário.

O (E)-Caryophyllene, componente em maior abundância em *C. argenteus*, também foi encontrado por Guo et al. (2015) no óleo essencial obtido de *Etlingera yunnanensis* e testado

no controle de *T. castaneum* e *Liposcelis bostrychophila*, tendo ocasionado mortalidades significativas, ressaltando, que o fato do óleo ter demonstrado boa eficiência, provavelmente está relacionado à presença desse componente químico.

Uma das principais propriedades de um fumigante é o poder de difusão na massa de grãos (TINKEU et al., 2004). A mortalidade de insetos é de início um dos principais efeitos a serem atingidos no controle de pragas com plantas que possuam efeito inseticida, porém almeja-se que plantas inseticidas também causem efeitos secundários, como diminuição da alimentação, redução da taxa de oviposição, e consequentemente diminuição na reprodução dos insetos-praga (VENDRAMIM & CASTIGLIONE, 2000).

Figura 1 – Efeito fumigante do óleo essencial de *C. argenteus* sobre adultos de *S. zeamais* (A) e *T. castaneum* (B).



Foram obtidas as CL_{50} e CL_{90} da população de *T. castaneum* e CL_{50} para *S. zeamais* referentes ao óleo essencial de *C. argenteus* (Tabela 2), sendo observada variação na resposta de *S. zeamais* à toxicidade deste óleo essencial. A CL_{50} ($5,75 \mu\text{L/g}$ de milho) seguiu uma linearidade como demonstrado no teste de fumigação (Figura 1A), porém não foi possível obter a CL_{90} . Para *T. castaneum* observou-se que as CL_{50} ($1,7 \mu\text{L/g}$) e CL_{90} ($5,75 \mu\text{L/g}$) (Tabela 2) mantiveram-se em concordância com o obtido nos testes de fumigação para o óleo de *C. argenteus* (Figura 1B). Neste sentido, a população de *T. castaneum* foi considerada sensível ao óleo essencial de *C. argenteus* do que *S. zeamais*.

Tabela 2 – Toxicidade por fumigação do óleo essencial de *C. argenteus* sobre *S. zeamais* e *T. castaneum* em laboratório (Temperatura: $28 \pm 2^\circ\text{C}$; Umidade Relativa: $70 \pm 5\%$; escotofase: 24 horas).

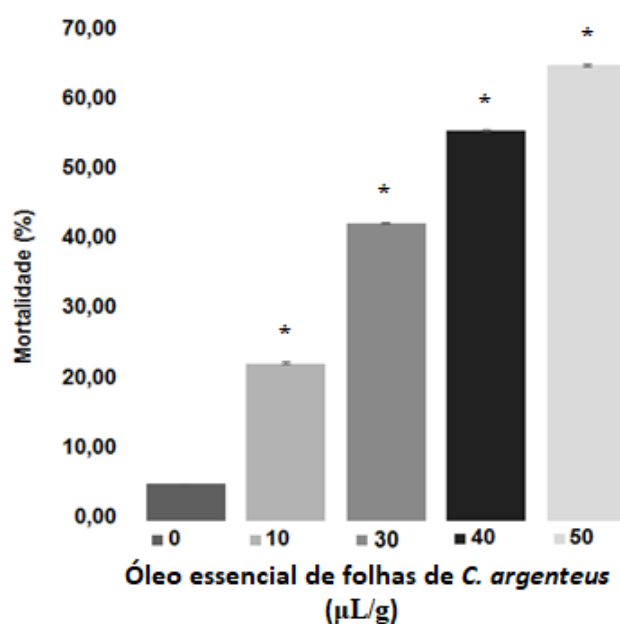
Inseto	N	(CL ₅₀ µL/g de milho) (I.C. 95%)	(CL ₉₀ µL/g de milho) (I.C. 95%)	GL	X ²
<i>Sitophilus zeamais</i>	240	5,75	ND	4	5,38
<i>Tribolium castaneum</i>	240	1,7	5,75	4	1,64

N= Número de indivíduos testados; CL= Concentração letal; I.C= Intervalo de confiança; GL: Graus de liberdade; X²= Qui-quadrado; ND= Não definida.

Pesquisas com populações de *S. zeamais* demonstraram resistência a alguns inseticidas e fumigantes e também tem apresentado alta tolerância ou susceptibilidade a alguns óleos essenciais (PIMENTEL, 2009; ARAÚJO et al., 2017), o que mostra grande plasticidade desse inseto.

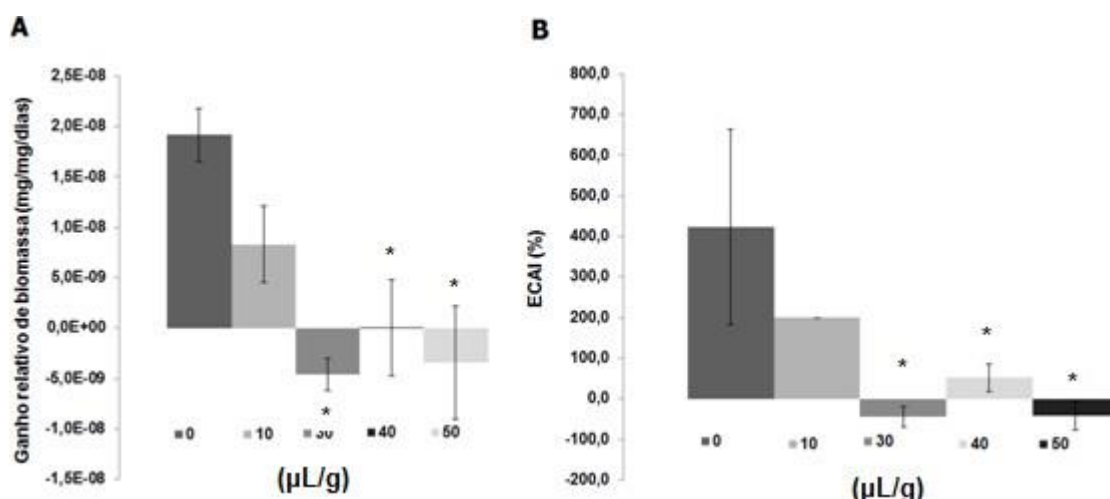
A ingestão da dieta artificial contendo óleo essencial de *C. argenteus* foi tóxica ao *S. zeamais*, causando respostas fisiológicas e comportamentais, pois à medida que as concentrações foram aumentadas houve aumento da mortalidade, ultrapassando 60% (Figura 2). A curva de concentração-mortalidade de *S. zeamais* exposta ao óleo essencial *C. argenteus*, foi usada para determinar a CL₅₀ no valor de 35,22 µL/g.

Figura 2 – Mortalidade de adultos de *S. zeamais* alimentados com dieta artificial contendo óleo essencial de *C. argenteus*.



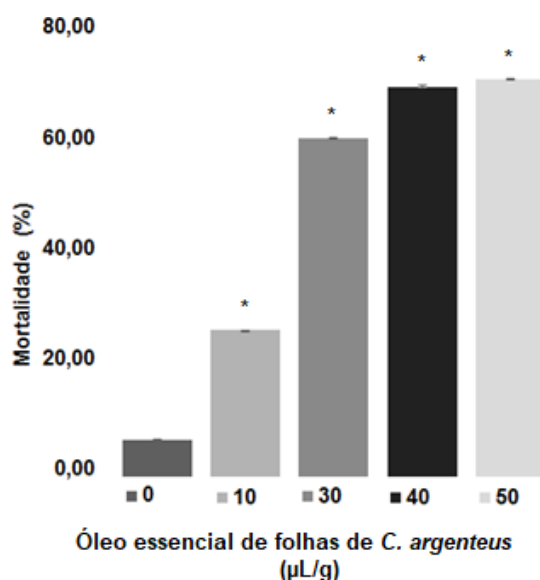
A ingestão dos discos contendo o óleo essencial provocou distúrbios nutricionais em todas as concentrações testadas. Os valores de ganho relativo de biomassa foi reduzido na concentração de 10 µL/g (Figura 3A), e negativo nas concentrações de 30, 40 e 50 µL/g, indicando que houve perda de biomassa pelos insetos. A ECAI teve o mesmo comportamento (Figura 3B), indicando que o alimento ingerido foi insuficiente para contrabalancear os danos causados.

Figura 3 – Parâmetros nutricionais de adultos de *S. zeamais* alimentados com dieta artificial contendo óleo essencial de *C. argenteus*: A) Ganho relativo de biomassa; B) ECAI: Eficiência de conversão do alimento ingerido.



A adição do óleo essencial de *C. argenteus* à alimentação de *T. castaneum* teve o mesmo comportamento que em *S. zeamais*. Com o aumento das concentrações usadas aumentou-se a taxa de insetos mortos (Figura 4). A CL_{50} obtida foi de 27,50 µL/g.

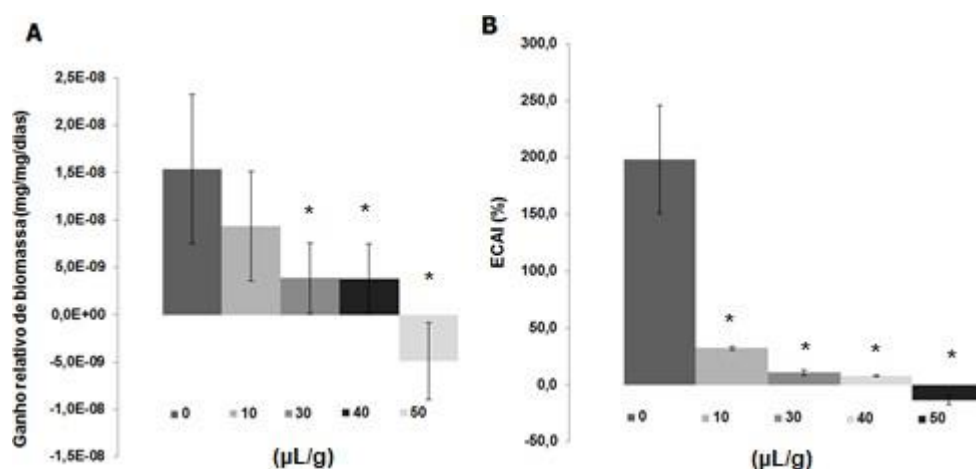
Figura 4 – Mortalidade de adultos de *T. castaneum* alimentados com dieta artificial contendo óleo essencial de *C. argenteus*.



T. castaneum sofreu alterações em seus parâmetros nutricionais e/ou fisiológicos. O óleo essencial de *C. argenteus* acrescentado à alimentação artificial resultou em baixos valores de ganho relativo de biomassa (Figura 5A), e como esperado, o maior ganho de biomassa se deu no controle e com valores negativos para a concentração de 50 µL/g promovendo perda de biomassa pelo inseto-praga. Valores da eficiência de conversão do

alimento ingerido (ECAI) mostram o quanto da dieta alimentar foi ingerida e convertida em biomassa do inseto, exibiram maiores valores no controle com redução nas concentrações de 40 $\mu\text{L/g}$ e valores negativos para a concentração de 50 $\mu\text{L/g}$ (Figura 5B).

Figura 5 – Parâmetros nutricionais de adultos de *T. castaneum* alimentados com dieta artificial contendo óleo essencial de *C. argenteus*. A) Ganho relativo de biomassa; B. ECAI: Eficiência de conversão do alimento ingerido.



A taxa de ganho relativo de biomassa nos tratamentos com o óleo para as duas espécies de insetos foi significativamente mais baixa ($P < 0.05$) do que o controle (Figuras 5Ae 5A). Esses valores seguiram negativos nos tratamentos com as concentrações mais altas do óleo essencial, sugerindo que o inseto não só teve baixo ganho de peso, mas que também perdeu biomassa. Napoleão et al. (2013) verificou o extrato e lectina de *M. urundeuva* modificaram os processos de ingestão e a absorção, de modo que o inseto começou a metabolizar as suas reservas corporais para sobreviver. Os resultados da eficiência de conversão do alimento ingerido (ECAI) para as duas espécies de insetos, com exceção da concentração de 40 $\mu\text{L/g}$ para *S. zeamais* mostram que os insetos não conseguiram incorporar a dieta artificial e que a quantidade do alimento que foi ingerido não foi ideal para contrabalançar os efeitos deletérios provocados pelo óleo, acarretando em perda de biomassa, logo isso evidenciou que a adição do óleo das folhas de *C. argenteus* na dieta dos insetos, provocou em alterações no crescimento e na fisiologia do inseto.

O óleo essencial de *C. argenteus* alterou os parâmetros nutricionais de *S. zeamais* e *T. castaneum* de forma significativa nas menores concentrações testadas e esses efeitos na

fisiologia nutricional, observados para os dois insetos indicam que este óleo essencial pode promover toxicidade permanente sobre as duas pragas de grãos armazenados.

Nos ensaios de repelência para *S. zeamais*, observaram-se diferenças significativas entre todas as concentrações testadas do óleo essencial de *C. argenteus* e suas testemunhas, com exceção da concentração de 40 µL/20g que foi classificada como neutra, as demais foram consideradas repelentes (Tabela 3). Para *T. castaneum*, com exceção da menor concentração (10 µL/20g) de *C. argenteus*, as demais diferiram significativamente de suas testemunhas pelo teste “t” ($P < 0,05$) e foram classificadas como repelentes (Tabela 3). Resultando em índices de repelência (IR) de 0,2 a 0,15 para *S. zeamais* e 0,25 a 0,89 para *T. castaneum* (Tabela 3).

Tabela 3 – Efeito repelente de *C. argenteus* sobre adultos de *S. zeamais* e *T. castaneum* em grãos e pó de milho tratados. Temp.: 28 ± 2 °C, UR: $70 \pm 5\%$ e fotofase: 24 horas.

Tratamento	Dose (µL/20g)	Média de Adultos Atraídos (%)		IR ¹ M ± DP	IS ²
		Óleo	Controle		
<i>Sitophilus zeamais</i>	10	1,0	9,0 *	0,2 ± 0,23	R
	20	1,0	9,0 *	0,2 ± 0,28	R
	40	0,75	7,75 *	0,15 ± 0,3	N
	60	0,75	7,0 *	0,15 ± 0,19	R
	80	0,5	8,25 *	0,10 ± 0,12	R
	100	0,5	8,25 *	0,11 ± 0,22	R
<i>Tribolium castaneum</i>	10	3,0	4,0 ^{ns}	0,89 ± 0,32	N
	20	2,25	7,25 *	0,49 ± 0,17	R
	40	2,25	6,75 *	0,45 ± 0,41	R
	60	2,25	7,5 *	0,47 ± 0,31	R
	80	1,25	8,75 *	0,25 ± 0,19	R
	100	1,75	8,25 *	0,35 ± 0,34	R

* Médias, nas linhas, diferem entre si pelo teste “t” ($P < 0,05$).

^{ns} Médias, nas linhas, não diferem entre si pelo teste “t” ($P < 0,05$).

¹ Índice de Repelência.

M = Média.

DP = Desvio Padrão.

² IS = Intervalo de Segurança, onde R= Repelente, N= Neutro e A= Atraente.

A repelência dos adultos de *S. zeamais* e *T. castaneum* certamente foi a responsável pela não emergência de insetos nos grãos e pó tratados com óleo essencial de *C. argenteus*, como pode observado na tabela 4. Para *S. zeamais*, a partir da concentração de 20 µL já houve baixa emergência de insetos e todos os tratamentos diferiram estatisticamente de suas testemunhas pelo teste “t” ($P < 0,05$) (Tabela 4). Já, para *T. castaneum* todas as concentrações testadas reduziram em 100% a emergência de insetos (Tabela 4).

Tabela 4 – Porcentagem de redução do número de adultos de *S. zeamais* e *T. castaneum* emergidos em grãos e pó de milho tratados com de *C. argenteus*. Temp.: $28 \pm 2^\circ\text{C}$, UR: $70 \pm 5\%$ e fotofase: 24 horas.

Tratamento	Concentração (µL/20g)	Média de Adultos Emergidos		DP		Redução (%)
		Óleo	Controle	Óleo	Controle	
<i>Sitophilus zeamais</i>	10	1,0	2,5 ^{ns}	1,41	1,29	42,86
	20	0,5	2,0 ^{ns}	1	1,63	60,00
	40	0,25	2,75 ^{ns}	0,5	1,71	83,33
	60	0,0	1,0 ^{ns}	0	0,82	100
	80	0,0	2,25 ^{ns}	0	2,22	100
	100	0,0	1,25 ^{ns}	0	0,96	100
<i>Tribolium castaneum</i>	10	0,0	2,0 [*]	0	0,82	100
	20	0,0	1,5 ^{ns}	0	1,29	100
	40	0,0	1,25 ^{ns}	0	1,89	100
	60	0,0	6,25 ^{ns}	0	4,03	100
	80	0,0	5,5 [*]	0	1,91	100
	100	0,0	1,5 [*]	0	0,58	100

* Médias, nas linhas, diferem estatisticamente entre si pelo teste “t” ($P < 0,05$).

^{ns} Médias, nas linhas, não diferem entre si pelo teste “t” ($P < 0,05$).

DP = Desvio Padrão.

Brito et al. (2015), analisando o efeito de óleos essenciais de *C. heliotropiifolius* e *C. pulegioidorus* sobre coleópteros-praga de feijão armazenado, verificaram redução na emergência de adultos, além de efeito ovicida/larvicida. Da mesma forma, também foi

constatado por Magalhães et al. (2015), tendo os mesmos óleos essenciais ocasionado redução de 100% na emergência de *T. castaneum* em milho armazenado, como observado para *T. castaneum* com *C. argenteus*.

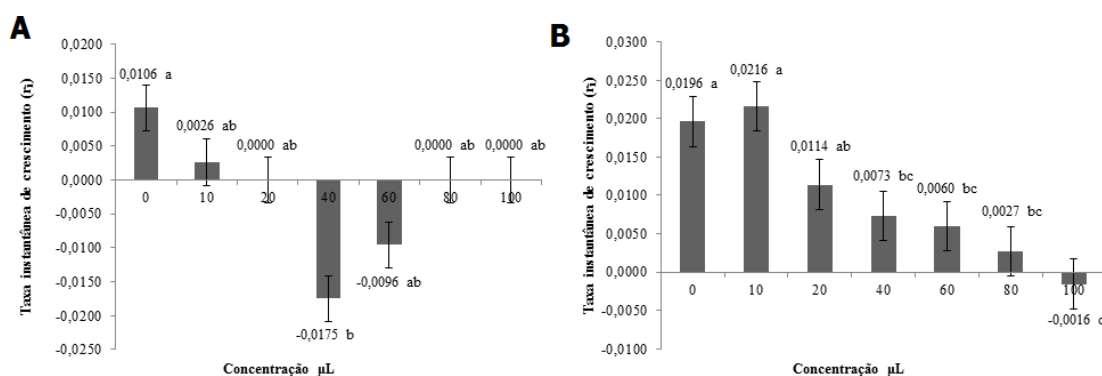
A mortalidade dos insetos é apenas um dos efeitos a serem alcançados no controle de pragas utilizando plantas inseticidas. No entanto, a principal finalidade nesse tipo de controle é que estas acarretem efeitos secundários como diminuir a oviposição, a alimentação e a reprodução dos insetos-praga e estas implicações podem ser observadas em testes de repelência (VENDRAMIM; CASTIGLIONE, 2000; BRITO et al., 2015).

O gênero *Croton* é considerado o mais rico da família como fonte de substâncias bioativas (GUERRERO et al., 2004). A análise da composição química de algumas espécies do gênero mostrou como constituintes majoritários monoterpenoides, sesquiterpenoides e fenilpropanoides (TORRES, 2008; SANTANA, 2011), assim como em *C. argenteus* que prevaleceu a presença de sesquiterpenos. Para Isman (2006), a ação inseticida dos óleos essenciais está correlacionada aos seus compostos majoritários (monoterpenos e sesquiterpenos), entretanto, seu potencial pode ser modulado pelas demais substâncias que compõem a amostra (HOET et al., 2006), fato que pode explicar a escolha de *S. zeamais* e *T. castaneum* ao milho e pó não tratados com o óleo essencial de *C. argenteus*.

O óleo essencial de *C. argenteus* promoveu a redução na taxa instantânea de crescimento (r_i) de *S. zeamais* e *T. castaneum* para os grãos de milho e pó com esse óleo essencial (Figura 6A e 6B). Foram observadas diferenças significativas entre as concentrações do óleo essencial de *C. argenteus* sobre *S. zeamais* ($F=3.516$; $p < 0.0144$; $GL=6$) (Figura 6A) e para *T. castaneum* ($F= 12.421$; $p < 0.0000$; $GL=6$) (Figura 6B).

Os baixos valores observados para a taxa de crescimento dos dois insetos indicam o potencial do óleo de *C. argenteus*, podendo reduzir o número de gerações dos insetos-praga, em relação a grãos não tratados.

Figura 6 – Efeito do óleo essencial de *C. argenteus* sobre a taxa instantânea de crescimento (r_i) de *S. zeamais* (A) e *T. castaneum* (B).



Com o aumento das concentrações, a r_i de *C. argenteus* decresceu significativamente para os dois insetos, o que indica que as populações de ambos diminuiriam até a extinção. Estes dados concordam com Ndomo et al. (2008) tendo a (r_i) de *Acanthoscelides obtectus* (Say) decrescido à medida que a dose por contato de óleo essencial de *Clausena anisata* (Willd) aumentou.

Jumbo (2013) também observou comportamento semelhante ao apresentado pelo óleo essencial de *C. argenteus* sobre *S. zeamais* e *T. castaneum*, onde a (r_i) de *A. obtectus* decresceu à medida que se foi aumentando a dose aplicada de óleos essenciais de cravo e canela, após 45 dias. Deste modo, a redução da r_i pode ter sido influenciada pelos compostos voláteis do óleo essencial reduzindo assim a eclosão das larvas.

4. Conclusões

O óleo essencial de folhas de *C. argenteus* é fonte de diversos componentes inseticida e mostrou-se tóxico para as espécies-pragas *S. zeamais* e *T. castaneum*. Os resultados mostraram que a toxicidade por fumigação é um método mais eficaz em relação à ingestão por ser eficiente em concentrações menores. O óleo mostrou ser repelente tanto por fumigação quanto por ingestão, pois reduziu a taxa de emergência e provocou recusa da dieta artificial oferecida. Essa atividade reduziu a taxa de crescimento populacional e produziu efeitos anti-nutricionais. De fato, o óleo essencial extraído das folhas de *C. argenteus* é fonte de compostos com ação deletéria sobre funções bioquímicas e fisiológicas de *S. zeamais* e *T. castaneum*.

REFERÊNCIAS

- ADAMS, R. P. **Identification of Essential Oils Components by Gás Chromatography/Quadrupole Mass Spectroscopy**. Carol Stream: Allured Publishing Corporation, 804p, 2007.
- ANTUNES, L. E. G. et al. Características físico-químicas de grãos de milho atacados por *Sitophilus zeamais* durante o armazenamento. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola Ambiental**, v. 15, n. 6, p. 615-620, 2011.
- ARAÚJO, A. M. N. et al. Lethal and sublethal responses of *Sitophilus zeamais* populations to essential oils. **Journal of Pest Science**, New York, v. 90, n. 2, p. 589-600, 2017.
- ASLAN, I. et al. Toxicity of essential oil vapours to two greenhouse pests, *Tetranychus urticae* Koch and *Bemisia tabaci* Genn. **Industrial Crops and Products**, v. 19, p. 167-173, 2004.
- ATHIÉ, I.; PAULA, D. C. **Insetos de Grãos Armazenados: Aspectos Biológicos e Identificação**. 2ª ed. São Paulo. Livraria Varela, 2002.
- BRAVO, A. et al. *Bacillus thuringiensis*: A story of a successful bioinsecticide. **Insect Biochemistry Molecular Biology**, v. 41, p. 423-431, 2011.
- BRITO, S. S. S. et al. Bioatividade de óleos essenciais sobre *Zabrotes subfasciatus* Boh. (Coleoptera: Chrysomelidae) em feijão-comum armazenado. **Revista Brasileira de Ciências Agrárias**, Recife, v. 10, n. 2, p. 243-248, 2015.
- CABALLERO-GALLARDO, K.; OLIVERO-VERBEL, J. STASHENKO, E. E. Repellent Activity of Essential Oils and Some of Their Individual Constituents against *Tribolium castaneum* Herbst. **Journal of Agricultural And Food Chemistry**, Washington, v. 56, n. 5, p. 1690-1690, 2011.
- CARVALHO, G. S. et al. Insecticidal activity of plant extracts and essential oils of bleed water against the bean weevil. **Journal of Stored Products and Postharvest Research**, Oxford, v. 7, n. 7, p. 69-75, 2016.
- CHAUBEY, M. K. Fumigant and contact toxicity of *Allium sativum* (Alliaceae) essential oil against *Sitophilus oryzae* L. (Coleoptera: Dryophthoridae). **Entomology and Applied Science Letters**, Coimbatore, v. 3, n. 2, p. 43-48, 2016.
- COITINHO, R. L. B. C. et al. Toxicidade por fumigação, contato e ingestão de óleos essenciais para *Sitophilus zeamais* Motschulsky, 1885 (Coleoptera: Curculionidae). **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 35, n. 1, p. 172-178, 2011.
- CONAB. **Acompanhamento da safra nacional de grãos 2017/2018**, Décimo primeiro levantamento. Brasília, v. 5, n. 11, p. 1-148, 2018.
- DUTTA, S. Biopesticides: an ecofriendly approach for pest control. **World Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences**, v. 4, p. 250-265, 2015.

- EBADOLLAHI, A. Susceptibility of Two *Sitophilus* species (Coleoptera: Curculionidae) to Essential Oils from *Foeniculum vulgare* and *Satureja hortensis*. **Ecologia Balkanica**, v. 3, p. 1-8, 2011.
- ELIAS, M. C. et al. Umidade de colheita, métodos de secagem e tempo de armazenamento na qualidade tecnológica de grãos de trigo (cv. „Embrapa 16“). **Ciência Rural**, v. 39, n. 1, p. 25-30, 2009.
- FINNEY, D. J. **Probit analysis**. Cambridge, Cambridge University Press, 255p, 1971.
- FINKLER, C. L. L. Controle de insetos: uma breve revisão. **Anais da Academia Pernambucana de Ciência Agronômica**, Recife, v. 8 e 9, p. 169-189, 2011/2012.
- GUERRERO, M. F. et al. Vaso relaxant effect of new neo clerodane diterpenoids isolated from *Croton schiedeanus*. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 94, n. 1, p. 185-189, 2004.
- HAMEED, A. et al. Toxicological effects of neem (*Azadirachta indica*), Kanair (*Nerium oleander*) and spinosad (Tracer 240 SC) on the red flour beetle (*Tribolium castaneum*) (Herbst.). **African Journal of Agricultural Research**, v. 7, n. 4, p. 555-560, 2012.
- HARBORNE, J. B. Recent Advances in chemical Ecology. **Natural Product Reports**, v. 6, n. 2, p. 85-109, 1993.
- HOET, S. et al. Antitrypanosomal compounds from leaf essential oil of *Strychnos spinosa*. **Planta Medica**, Stuttgart, v. 72, n. 5, p. 480-482, 2006.
- ISMAN, M. B. Botanical insecticides, deterrents, and repellents in modern agriculture and an increasingly regulated world. **Annual Review of Entomology**, v. 51, p. 45-66, 2006.
- JUMBO, L. O. V. **Atividade inseticida e de repelência de óleos essenciais de cravo e canela sobre o caruncho *Acanthoscelides obtectus* (Say)**. 44p. Dissertação (Mestrado em Entomologia) Universidade Federal de Viçosa, Minas Gerais, 2013.
- JUNG, P. H. et al. Atividade Inseticida de *Eugenia uniflora* L. e *Melia azedarach* L. sobre *Atta laevigata* Smith. **Floresta e Ambiente**, v. 20, n. 2, p. 191-196, 2013.
- KŁYS, M.; MALEJKY, N.; NOWAK-CHMURA, M. The repellent effect of plants and their active substances against the beetle storage pests. **Journal of Stored Products Research**, Oxford, v. 72, n. 1, p. 66-77, 2017.
- LIU, Z. L.; GOH, S. H.; HO, S. H. Screening of Chinese medicinal herbs for bioactivity against *Sitophilus zeamais* Motschulsky and *Tribolium castaneum* (Herbst). **Journal of Stored Products Research**, v. 43, p. 290-296, 2007.
- LORINI, I. et al. Principais pragas e métodos de controle em sementes durante o armazenamento. **Série sementes**. Paraná: Embrapa, 12p, 2010.
- MAGALHÃES, C. et al. Potencial inseticida de óleos essenciais sobre *Tribolium castaneum* em milho armazenado. **Revista Brasileira de Plantas Medicinais**, v. 17, n. 4, p. 1150-1158, 2015.

MECCIA, G. Essential oil of *Croton ovalifolius* Vahl from Venezuela. **Journal Flavour Fragrance**, v. 15, p. 144-146, 2000.

MERCÊS, P. F. F. et al. Phytochemical characterization and evaluation of the acaricide and insecticidal potential of the *Hymenaea courbaril* L. var. *courbaril* essential oil on the two-spotted spider mite and maize weevil. **Journal of Environmental Analysis and Progress**, v. 03, n. 04, p. 417-428, 2018.

MIKAMI, A. Y.; CARPENTIERI-PÍPOLO, V.; VENTURA, M. U. Resistance of Maize Landraces to the Maize Weevil *Sitophilus zeamais* Mots. (Coleoptera: Curculionidae). **Neotropical Entomology**, Uruçua, v. 41, n. 5, p. 404–408, 2012.

NAPOLÊÃO, T. H. et al. Deleterious effects of *Myracrodruon urundeuva* leaf extract and lectin on the maize weevil, *Sitophilus zeamais* (Coleoptera, Curculionidae). **Journal of Stored Products Research**, v. 54, p. 26-33, 2013.

NDOMO, A. F. et al. Insecticidal effects of the powdery formulation based on clay and essential oil from the leaves of *Clausena anisata* (Willd.) J. D. Hook ex. Benth. (Rutaceae) against *Acanthoscelides obtectus* (Say) (Coleoptera: Bruchidae). **Journal Pest Science**, v. 81, p. 227-234, 2008.

NIST WebBookk (2014). National Institute of Standards and technology.
<http://www.nist.gov/>.

OBENG-OFORI, D. Plant oils as grain protectants against infestations of *Cryptolestes pusillus* and *Rhyzopertha dominica* in stored grain. **Entomologia Experimentalis et Applicata**, v. 77, p. 133-139, 1995.

OOTANI, M. A. et al. Toxicidade de Óleos Essenciais de Eucalipto e Citronela sobre *Sitophilus zeamais* Motschulsky (Coleoptera: Curculionidae). **Bioscience Journal**, v. 27, n. 4, p. 609-618, 2011.

PIMENTEL, M. A. G. et al. Phosphine resistance in Brazilian populations of *Sitophilus zeamais* Motschusky (Coleoptera: Curculionidae). **Journal of Stored Products Research**, Oxford, v. 45, n. 1, p. 71-74, 2009.

QUEIROGA, M. F. C. et al. Aplicação de óleo no controle de *Zabrotes subfasciatus* e na germinação de *Phaseolus vulgaris*, **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, v. 16, n. 7, p. 777-783, 2012.

SANTANA, V. S. **Estudo comparativo de óleos essenciais de espécies de *Croton* do estado de Sergipe**. 95p. Dissertação (Mestrado em Química)- Universidade Federal de Sergipe, São Cristóvão, 2011.

SANTOS, L. G. M. et al. Avaliação do potencial fungitóxico do óleo essencial de *Syzygium aromaticum* (L.) Merr & Perry (cravo-da-índia). **Tecno-lógica**. Santa Cruz do Sul, v. 11, n. 1, p. 11-14, 2007.

SANTOS, I. C. **Estudo da composição química de *Croton argenteus* e perfil da atividade antioxidante e bacteriostático**. 42f. Monografia (Bacharelado em Química). Instituto de Química da Universidade Federal do Rio Grande do Norte, 2016.

SILVA, F. A. S. ASSISTAT 7.7. UFCG, Campina Grande, 2013.

SILVA, L. B. et al. Toxicity of ethanolic extract of *Croton heliotropiifolius* in weevil populations of stored maize grains. **Journal of Entomology**, Nova York, v. 6, n. 3, p. 413–421, 2012.

SILVA, W. J. **Atividade larvicida do óleo essencial de plantas existentes no estado de Sergipe contra *Aedes aegypti* Linn**. 69f. Dissertação (Mestrado em Desenvolvimento e Meio Ambiente). Universidade Federal de Sergipe, 2006.

SILVA, L. B. et al. Toxicity of ethanolic extract of *Croton heliotropiifolius* in weevil populations of stored maize grains. **Journal of Entomology**, Nova York, v. 6, n. 3, p. 413–421, 2012.

SMANIOTTO, L. et al. Bioatividade da *Cabralea canjerana* (Vell.) Mart. (Meliaceae) no controle de adultos de *Acanthoscelides obtectus* (Coleoptera: Bruchidae) em laboratório. **Biotemas**, v. 23, n. 2, p. 31-35, 2010.

SOUZA, A. P. et al. Insecticidal effects of extracts from native plants to Mato Grosso do Sul, Brazil, on *Sitophilus zeamais* Mots. (Coleoptera: curculionidae). **BioAssay**, v. 5, p. 1-5, 2010.

SOUZA, V. N. D. et al. Fumigation toxicity of essential oils against *Rhyzopertha dominica* (F.) in stored maize grain. **Revista Caatinga**, v. 29, n. 2, p. 435-440, 2016.

SUTHISUT, D.; FIELDS, P.G.; CHANDRAPATYA, A. Fumigant toxicity of essential oils from three Thai plants (Zingiberaceae) and their major compounds against *Sitophilus zeamais*, *Tribolium castaneum* and two parasitoids. **Journal of Stored Products Research**. Oxford, v. 47, n. 3, p. 222-230, 2011.

TORRES, M. C. M. **Estudo químico e biológico de *Croton regelianus* var. *matosii* (Euphorbiaceae)**. 179p. Dissertação (Mestrado em Química Orgânica) - Centro de Ciências, Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, 2008.

VENDRAMIM, J. D.; CASTIGLIONI, E. Aleloquímicos, resistência de plantas e plantas inseticidas. In: GUEDES, C. et al. (Org.). **Bases e técnicas do manejo de insetos**. Santa Maria: UFSM/CCR/DFS, p. 113-128, 2000.

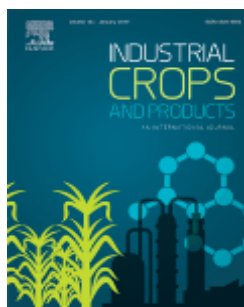
WALTHALL, W. K.; STARK, J. D. A comparison of acute mortality and population growth rate as endpoints of toxicological effect. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 37, p. 45-52, 1997.

XIE, M. et al. Lectin modified trifunctional nanobiosensors for mapping cell surface

5 ARTIGO 2

Composição química e potencial inseticida do óleo essencial de folhas de *Croton laceratoglandulosus* sobre *Sitophilus zeamais* e *Tribolium castaneum*

O artigo será submetido ao periódico *Industrial Crops and Products*



Fator de impacto: 3.849

Composição química e potencial inseticida do óleo essencial de folhas de *Croton laceratoglandulosus* sobre *Sitophilus zeamais* e *Tribolium castaneum*

Cilene Rejane Inácio de Magalhães Lira^a, Antonielson Bezerra da Silva^c, Patryck Érmerson Monteiro dos Santos^a, Thâmarah de Albuquerque Lima^a, Júlio César Ribeiro de Oliveira Farias de Aguiar^d, Daniela Maria do Amaral Ferraz Navarro^d, Carlos Romero Ferreira de Oliveira^b, Thiago Henrique Napoleão^a, Patrícia Maria Guedes Paiva^{a*}.

^a*Departamento de Bioquímica, Centro de Biociências, Universidade Federal de Pernambuco, Recife, Pernambuco, Brasil.*

^b*Universidade Federal Rural de Pernambuco/Unidade Acadêmica de Serra Talhada, Serra Talhada, Pernambuco, Brasil.*

^c*Departamento de Entomologia, Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia, Manaus, Amazonas, Brasil.*

^d*Departamento de Química Fundamental, Centro de Ciências Exatas e Naturais, Universidade Federal de Pernambuco, Recife, Pernambuco, Brasil.*

*Corresponding author. E-mail address: ppaivaufpe@yahoo.com.br

RESUMO

Dentre as pragas que atacam o milho (*Zea mays* L.), *Sitophilus zeamais* e *Tribolium castaneum* destacam-se por ser responsáveis por perdas qualitativas e quantitativas nos grãos armazenados. Inseticidas sintéticos fumigantes e protetores são muito utilizados no controle desses insetos, porém são tóxicos ao homem e podem induzir o surgimento de populações resistentes. Produtos alternativos como óleos essenciais de origem vegetal, têm sido bastante pesquisados nos últimos anos, com resultados promissores. Neste trabalho, o óleo essencial obtido das folhas de *Croton laceratoglandulosus* foi avaliado quanto à constituição química, à toxicidade por fumigação e por ingestão, à ação repelente e influência sobre taxa instantânea de crescimento de *Sitophilus zeamais* e *Tribolium castaneum*. A análise por GC/MS revelou 18 componentes pertencentes às classes dos monoterpenos e sesquiterpenos. O biciclogermacreno (28,08%) e (E)-Cariofileno (24,95%) foram os compostos majoritários. O óleo essencial apresentou toxicidade por fumigação para as duas espécies de insetos de modo

dose dependente, com CL_{50} de 1,65 $\mu\text{L/g}$ e 2,2 $\mu\text{L/g}$ para *S. zeamais* e *T. castaneum*, respectivamente. O óleo essencial também foi tóxico quando ingerido, com CL_{50} de 36,59 $\mu\text{L/g}$ e 35,51 $\mu\text{L/g}$ para *S. zeamais* e *T. castaneum*, respectivamente, além de causar alterações nos parâmetros nutricionais. O óleo de *C. laceratoglandulosus* foi repelente e reduziu a taxa de crescimento populacional dos insetos. Em conclusão, o óleo essencial de folhas de *C. laceratoglandulosus* apresentou toxicidade contra os insetos praga *S. zeamais* e *T. castaneum*, podendo ser um potencial agente inseticida.

Palavras-chave: Controle alternativo; Inseticidas botânicos; Coleoptera; Grãos armazenados.

ABSTRACT

Among the pests that attack corn (*Zea mays* L.), *Sitophilus zeamais* and *Tribolium castaneum* stand out for being responsible for qualitative and quantitative losses in stored grains. Synthetic fumigant and protective insecticides are widely used to control these insects, but they are toxic to humans and can induce the emergence of resistant populations. Alternative products such as essential oils of vegetable origin have been extensively researched in recent years, with promising results. In this work, the essential oil obtained from the leaves of *Croton laceratoglandulosus* was evaluated for chemical constitution, toxicity by fumigation and ingestion, repellent action and influence on the instantaneous growth rate of *Sitophilus zeamais* and *Tribolium castaneum*. The GC/MS analysis revealed 18 components belonging to the classes of monoterpenes and sesquiterpenes. Bicyclogermacrene (28.08%) and (E)-Caryophyllene (24.95%) were the major compounds. The essential oil showed toxicity by fumigation for both insect species in a dose-dependent manner, with a LC_{50} of 1.65 $\mu\text{L/g}$ and 2.2 $\mu\text{L/g}$ for *S. zeamais* and *T. castaneum*, respectively. The essential oil was also toxic when ingested, with a LC_{50} of 36.59 $\mu\text{L/g}$ and 35.51 $\mu\text{L/g}$ for *S. zeamais* and *T. castaneum*, respectively, in addition to causing changes in nutritional parameters. The oil of *C. laceratoglandulosus* was repellent and reduced the insect population growth rate. In conclusion, the essential oil from leaves of *C. laceratoglandulosus* presented toxicity against the pest insects *S. zeamais* and *T. castaneum*, and could be a potential insecticidal agent.

Keywords: Alternative control; Botanical insecticides; Coleoptera; Stored grains.

1. Introdução

O milho (*Zea mays* L.) é um dos três cereais mais cultivados no mundo e contribui, em vários países da África, América Latina e Ásia, com aproximadamente 20% da energia e 15% da proteína dietária, e em alguns casos, esse cereal é única fonte diária de proteína da alimentação de algumas pessoas (CASTRO et al., 2009). Sendo assim, o milho é largamente empregado na alimentação humana e animal, devido ao seu alto conteúdo em amido, disponível numa forma naturalmente digerível (NAVES et al., 2011).

Os insetos-praga causam graves danos nos grãos de milho durante o período de armazenamento, e em alguns casos, danos irreversíveis (LORINI et al., 2015). Várias são as espécies de insetos que se alimentam do grão de milho ou de seus subprodutos, porém o gorgulho do milho, *Sitophilus zeamais* (Motschulsky, 1885) (Coleoptera: Curculionidae) e o *Tribolium castaneum* (Herbest, 1797) (Coleoptera: Tenebrionidae), têm causado muitos prejuízos durante o armazenamento do grão, sendo responsáveis por danos quantitativos e qualitativos (GALLO et al., 2002).

O controle químico destes insetos é, normalmente, efetuado através de inseticidas fumigantes (fosfeto de alumínio e de magnésio) e com residuais protetores (piretróides e organofosforados). Esses inseticidas são a principal forma de controle e tem, como finalidade, controlar e proteger os armazéns dos ataques de pragas. Mas apesar de eficiência bastante conhecida, podem ocasionar intoxicações aos aplicadores, presença de resíduos tóxicos nos grãos e surgimento de populações de insetos resistentes (VASQUEZ-CASTRO, 2006; LORINI, 2013).

Diante da preocupação cada vez mais crescente com relação aos danos provenientes do uso exacerbado de inseticidas químicos para o controle de insetos pragas em grãos armazenados, surge como alternativa o uso de inseticidas vegetais. Podendo estes serem utilizados como pós, extratos aquosos ou orgânicos, óleos essenciais e emulsionáveis, exibindo toxicidade aos insetos via contato, ingestão e fumigação (BUSTAMANTE, 1999; COITINHO, 2009).

De acordo com Silva et al. (2010), o gênero *Croton* vem se destacando nas pesquisas com óleos essenciais, devido ao número de espécies com bioatividade e eficiência inseticida. Silva et al. (2006) verificaram atividade inseticida do óleo essencial de *Croton grewioides* Baill. sobre *Zabrotes subfasciatus* Boheman, uma importante praga de grãos armazenados, tendo a dose de 10 µL do óleo essencial de *C. grewioides*, dose relativamente baixa, resultado em 100% de mortalidade de insetos machos. Souza et al (2016) comprovaram

que o óleo essencial de *Croton pulegioidorus* Baill apresentou propriedades fumigantes para controlar *Rhyzopertha dominica* Fabricius (Coleoptera: Bostrycidae).

A espécie *Croton laceratoglandulosus* Caruzo & Cordeiro (Euphorbiaceae) não possui estudos relatados na literatura, logo este trabalho pretende contribuir para o conhecimento químico e de atividades biológicas desta espécie através da caracterização química do óleo das folhas e das atividades inseticida e repelente contra adultos de *S. zeamais* e de *T. castaneum*.

2. Material e Métodos

2.1. Área de estudo

A parte experimental foi desenvolvida no Núcleo de Ecologia de Artrópodes (NEA) e no Laboratório da Pós-Graduação em Produção Vegetal, da Unidade Acadêmica de Serra Talhada (UAST), da Universidade Federal Rural de Pernambuco (UFRPE) em Serra Talhada-PE.

2.2. Criações de *Sitophilus zeamais* e *Tribolium castaneum*

Foram mantidas criações contínuas de *S. zeamais* e *T. castaneum* em condições de laboratório. Os insetos foram mantidos em recipientes plásticos, fechados, com a tampa contendo furos e revestida internamente com tecido fino que permitisse as trocas gasosas. As criações permaneceram em câmara climática tipo B.O.D, a 28 ± 2 °C, $70 \pm 5\%$ de UR e 24h de fotofase, sendo utilizados grãos de milho e pó de milho triturado como substrato alimentar, com teor de umidade de 13% base úmida (b.u.). Em todos os bioensaios foram usados insetos não sexados e com idade de 0 a 15 dias.

2.3. Coleta do material vegetal para obtenção do óleo essencial

C. laceratoglandulosus foi coletado no Sítio Agreste, Município de São José do Belmonte-PE, Brasil, localizado nas coordenadas geográficas: latitude 7° 55' 20.334"S e longitude 38° 33' 2.056"W. Foi coletado em uma etapa, em 09 de junho de 2017, no horário das 08h00 e 10h00. O clima, segundo a classificação de Köppen, é do tipo BSwh (clima semi-

árido e quente). Os dados climatológicos no mês da realização do estudo foram fornecidos pela APAC - Agência Pernambucana de Águas e Clima. A temperatura manteve uma média de 25,5 °C com a temperatura máxima de 30,2 °C e mínima de 21,0°C, precipitação de 186mm, umidade relativa de 59%. A identificação da planta foi realizada por especialista do Herbário do Semiárido do Brasil (HESBRA) e exsicatas testemunhas foram mantidas, sob Voucher: HESBRA 2301 (A. Laurênio 3144).

2.4. Extração do óleo essencial

Para extração do óleo essencial, foram usadas folhas de *C. laceratoglandulosus*, que após serem coletas, foram acondicionadas em sacolas de papel do tipo kraft (2 kg) e levadas para estufa a 50 °C, por um período de 48 horas. Em seguida, as folhas passaram pelo processo de hidrodestilação com aparato de Clevenger, adotando a metodologia de Santos et al., (2007) com modificações, por um período de 2 horas. A cada extração do óleo foram usadas 200 g de folhas secas e 3 L de água destilada. Posteriormente, foram acrescentados 400 mL de emulsão e 100 mL do solvente diclorometano (CH₂Cl₂), e a reação resultou em duas fases: uma de óleo-solvente e outra de água. Após a remoção do funil, a mistura óleo- solvente passou por separação do óleo/solvente utilizando-se um rotaevaporador acoplado a uma bomba de vácuo. O óleo essencial extraído foi mantido em vidro do tipo âmbar, em temperatura de 6 e 10 °C.

2.5. Análise química por cromatografia gasosa acoplada a espectrômetro de massa

2 mg do óleo essencial de *C. laceratoglandulosus* foi dissolvido em 1 mL de hexano bidestilado. 1 µL dessa solução foi injetada e analisada em um cromatógrafo gasoso acoplado a um espectrômetro de massas com analisador do tipo quadrupolo Agilent 5975C Series (Agilent Technologies, Palo Alto, USA) equipado com coluna apolar HP-5 (Agilent J&W, 60 m × 0.25 mm diâmetro interno; espessura do filme 0.25 µm). As amostras foram avaliadas sob as seguintes condições: temperatura inicial de 40 °C (mantida por 2 min), rampa de aquecimento de 4 °C/min e temperatura final de 230 °C, que foi mantida por 5 minutos. O gás de arraste utilizado foi o hélio, a fluxo constante de 1 mL por minuto e a temperatura do injetor foi mantida a 250 °C. Os compostos eluídos da coluna cromatográfica foram ionizados por impacto de elétrons a 70 eV. A fonte de ionização foi mantida a 230 °C e o quadrupolo a

150 °C. Os espectros de massa foram obtidos no modo *scan* com velocidade de 0,5 scan por segundo, com faixa de varredura de m/z de 35 a 550.

Uma alíquota de 1 µL do óleo foi injetada em modo *split 1:50*. Os compostos foram identificados por meio da análise dos espectros de massa de cada pico cromatográfico, comparação com padrões autênticos e cálculo de índices de retenção. Foram calculados os índices de retenção linear dos componentes do óleo de *C. laceratoglandulosus* utilizando-se os tempos de retenção de cada composto e os tempos de retenção de n-alcanos (C₉ a C₂₅) analisados sob as mesmas condições. Os valores calculados foram comparados com os índices de retenção publicados na literatura (ADAMS, 2007; NIST WebBook, 2014).

A mesma solução foi quantificada através da injeção em triplicata de 1 µL em modo *splitless* dessa solução em um cromatógrafo gasoso equipado com coluna apolar VB-5 (thermo trace GC ultra, 60 m × 0.25 mm diâmetro interno; espessura do filme 0.25 µm). As amostras foram analisadas sob as seguintes condições: temperatura inicial de 40 °C (mantida por 2 min), rampa de aquecimento de 4 °C/min e temperatura final de 230 °C, que foi mantida por 5 minutos. O gás de arraste utilizado foi o nitrogênio, a fluxo constante de 1 mL por minuto e a temperatura do injetor foi mantida a 250 °C. Os compostos eluídos da coluna cromatográfica foram detectados através de queimadores em chama (FID) a 250 °C.

2.6. Potencial fumigante do óleo essencial de *Croton laceratoglandulosus* sobre *Sitophilus zeamais* e *Tribolium castaneum*

Os ensaios foram desenvolvidos em B.O.D a 28 ± 2 °C, $70 \pm 5\%$ UR e fotofase de 24 h. Foi verificado o efeito fumigante do óleo essencial de *C. laceratoglandulosus* sobre *S. zeamais* e *T. castaneum*, seguindo uma adaptação da metodologia de Aslan et al. (2004). Como câmaras de fumigação foram usados potes de vidro (tipo bomboniere) com 300 mL de capacidade, onde foram mantidos 10 adultos de *S. zeamais* ou *T. castaneum* não sexados e com zero a quinze dias de idade, em experimentos individuais para cada espécie. Foram usadas as seguintes concentrações do óleo essencial de *C. laceratoglandulosus*: 10, 20, 40, 60, 80 e 100 µL L⁻¹ de ar e controle (sem tratamento). O óleo foi pipetado em tiras de papel de filtro de 5 x 2 cm, pressas na parte inferior da tampa dos potes de vidro.

Foi usado um tecido tipo “voil” entre a tampa e o restante do pote para impedir o contato direto dos insetos com o óleo essencial. Os potes foram fechados com filme plástico (PVC) e fita adesiva, para evitar a saída dos vapores. 48 horas depois foi avaliada a quantidade de insetos mortos. Os dados foram submetidos à análise de Probit para a

estimativa das concentrações letais (CL_{50} e CL_{90}) para cada uma das espécies de inseto, e tais resultados foram reutilizados para confirmação das CL_{50} e CL_{90} . Os experimentos foram preparados de forma individual para cada espécie, em delineamento inteiramente casualizado, com sete concentrações e quatro repetições.

2.7. Avaliação da toxicidade na fisiologia de *Sitophilus zeamais* e *Tribolium castaneum* após ingestão de dieta alimentar contendo óleo essencial de *Croton laceratoglandulosus*

Os experimentos foram realizados utilizando-se uma adaptação da metodologia de Xie et al. (1996) descrita por Napoleão et al. (2013). Foram utilizadas placas de petri com dimensões de 90 x 15 mm com cinco discos da dieta artificial. Para o preparo da dieta artificial, concentrações crescentes de óleo em 1% de dimetilsulfóxido (DMSO) foram usadas para preparar soluções com farinha de trigo autoclavada com concentrações finais de 10, 30, 40 e 50 $\mu\text{L/g}$ (μL óleo puro/g de farinha de trigo) e no controle negativo foi utilizada farinha contendo água destilada e 1% dimetilsulfóxido. Homogeneizada por aproximadamente cinco min, em seguida foram preparados os discos, utilizando uma alíquota de 200 μL da mistura para cada disco. As placas de petri foram mantidas em estufa na temperatura de 56 °C por cerca 24 h, sendo os pesos dos discos anotados. 15 insetos (*S. zeamais* ou *T. castaneum*) com pesos identificados foram postos em cada uma das placas de petri. Os experimentos foram realizados em quintuplicata e levados à B.O.D sob temperatura de 28 ± 2 °C. Após 7 dias da montagem do experimento, o peso dos discos e dos insetos foram avaliados. E após 7 e 15 dias foram contabilizados os insetos mortos. Além disso, foram avaliados outros parâmetros nutricionais: Taxa de ganho relativo de biomassa (TGB): $(\text{biomassa ganha})/(\text{biomassa inicial dos insetos} \times \text{dias})$ e a eficiência de conversão do alimento ingerido (ECAI): $(\text{biomassa adquirida}/\text{biomassa ingerida}) \times 100$.

2.8. Efeito repelente do óleo essencial de *Croton laceratoglandulosus* e na emergência de *Sitophilus zeamais* e *Tribolium castaneum*

Os testes foram conduzidos em câmara climatizada com temperatura de 28 ± 2 °C, 70 $\pm$ 5% UR e fotofase de 24 h. Foi avaliado o efeito repelente do óleo essencial de *C.*

laceratoglandulosus sobre adultos de *S. zeamais* e *T. castaneum*. O óleo foi aplicado nas concentrações de 10, 20, 40, 60, 80 e 100 µL e controle: sem tratamento.

Foram utilizadas arenas compostas por dois potes plásticos, unidos por dois tubos plásticos a um pote central, em um dos potes foram adicionadas 20 g de grãos de milho para *S. zeamais* ou pó de milho triturado para *T. castaneum* tratados com o óleo essencial e no outro pote a mesma quantidade não tratada (controle). O óleo foi aplicado sobre os grãos de milho ou pó. No pote da região central foram liberados 10 adultos não sexados de *S. zeamais* ou *T. castaneum* com 0 a 15 dias de idade. Os experimentos foram individualizados para cada uma das espécies, em delineamento inteiramente casualizado, com 07 concentrações e 04 repetições.

Decorridos cinco dias da liberação dos insetos no pote central, foram contabilizados os insetos presente em cada pote e em seguida, descartados. Os grãos ou pó foram acondicionados em outros recipientes plásticos e levados à B.O.D a 28 ± 2 °C, $70 \pm 5\%$ UR e fotofase de 24 h e os adultos emergidos foram contabilizados após 34 dias (*S. zeamais*) e 28 dias (*T. castaneum*) da infestação.

Para calcular o índice de repelência (IR) utilizou-se a seguinte fórmula: $IR = 2G / (G + P)$, onde G = % de insetos atraídos no tratamento e P = % de insetos atraídos na testemunha. Os valores de IR variam entre zero e dois, sendo que IR = 1 indica repelência semelhante entre o tratamento e a testemunha (tratamento neutro), IR > 1 indica menor repelência do tratamento em relação à testemunha (tratamento atraente) e IR < 1 corresponde à maior repelência do tratamento em relação à testemunha (tratamento repelente). O intervalo de segurança (IS) é empregado para avaliar se o tratamento é ou não repelente, obtido através da média dos IR (índice de repelência) e o respectivo desvio padrão (DP), ou seja, se a média dos IR for menor que 1 - DP, o óleo é repelente; se for maior que 1 + DP o óleo é atraente e se estiver entre 1 - DP e 1 + DP o óleo é considerado neutro (FINNEY, 1971).

A porcentagem média da emergência de adultos foi calculada através da fórmula: $PR = [(NC - NT) / (NC + NT) \times 100]$, sendo PR= percentual médio de emergência, NC= média de insetos emergidos na testemunha e NT= média de insetos emergidos no tratamento (OBENG-OFORI, 1995).

2.9. Efeito do óleo essencial de *Croton laceratoglandulosus* sobre a r_1 de *Sitophilus zeamais* e *Tribolium castaneum*

Foram realizados experimentos individuais para cada espécie de inseto, em delineamento inteiramente casualizado, com as seguintes concentrações: 10, 20, 40, 60, 80 e 100 µL e controle (sem tratamento) em quatro repetições.

Foram utilizados potes plásticos como unidades experimentais, com a tampa plástica perfurada e revestida internamente com tecido fino que permitisse as trocas gasosas. Em cada pote foram colocadas 20 g de grãos de milho para os ensaios com *S. zeamais* ou pó de milho triturado para os ensaios com *T. castaneum*. O óleo foi aplicado sobre os grãos de milho ou pó de milho triturado com auxílio de pipetador automático. Em cada pote foram liberados 10 adultos não sexados de *S. zeamais* ou *T. castaneum* com 0 a 15 dias de idade, sendo estes armazenados por 60 dias em B.O.D ajustada a 28 ± 2 °C, $70 \pm 5\%$ UR e fotofase de 24 h.

Após 60 dias, foi verificada a quantidade de insetos emergidos e calculada a taxa instantânea de crescimento populacional. Empregando-se a equação: $r_i = [\ln(N_f/N_0)/\Delta T]$, onde N_f = Número final de insetos; N_0 = Número inicial de insetos e ΔT = Variação de tempo (número de dias em que o ensaio foi executado). Valor positivo de r_i indica crescimento populacional; $r_i = 0$ significa que a população encontra-se estável e valor negativo de r_i indica declínio da população até a extinção, quando $N_f = 0$ (WALTHALL; STARK, 1997).

2.10. Análise estatística

As diferenças significativas entre os tratamentos foram analisadas pelo teste de Tukey ($p < 0,05$) aplicando-se o programa computacional ASSISTAT versão 7.7 Beta.

Os dados referentes à mortalidade foram analisados pelo modelo Probit (FINNEY, 1971) para definir os valores da CL_{50} e CL_{90} , com intervalos de confiança de 95%, por meio do software *R versão 3.5.0* para Windows.

3. Resultados e discussão

Os resultados das análises cromatográficas do óleo essencial das folhas de *C. laceratoglandulosus* podem ser observados na tabela 1, onde um total de 18 componentes foram identificados. O óleo essencial obtido das folhas de *C. laceratoglandulosus* apresentou biciclogermacreno (28,08%) como composto majoritário, seguido de (E)-Cariofileno (24,95%) perfazendo 53,03% da composição total do óleo. De todos os compostos identificados 4 se tratavam de monoterpenos e 14 sesquiterpenos.

Tabela 1 – Identificação dos constituintes do óleo essencial obtido das folhas de *C. laceratoglandulosus*.

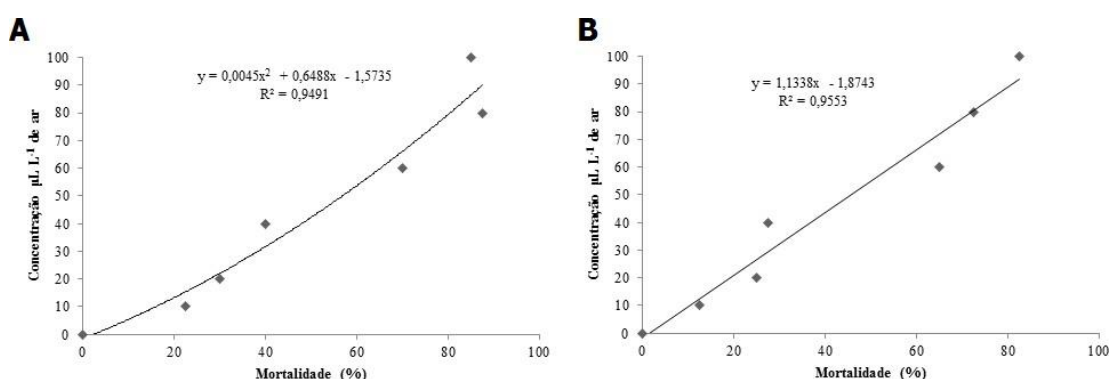
Composto	Índice de retenção		Área (%)	SD
	Calculado	Literatura		
1,8-Cineol	1031	1026	3,90	0,07
Linalol	1100	1095	0,27	0,01
Terpinen-4-ol	1178	1174	2,22	0,04
α -Terpineol	1191	1186	0,19	0,00
Ciclosativeno	1368	1369	1,50	0,01
α -Copaeno	1378	1374	1,49	0,01
β -Elemeno	1394	1389	1,24	0,07
(E)-Cariofileno	1422	1417	24,95	0,75
Aromadendreno	1442	1439	0,18	0,00
α -Humuleno	1456	1452	0,43	0,14
allo-Aromadendreno	1464	1458	1,19	0,42
Germacreno D	1484	1480	4,99	0,10
Biciclogermacreno	1499	1500	28,08	0,76
γ -Cadineno	1517	1513	2,43	0,03
δ -Cadineno	1527	1522	2,69	0,17
Germacreno B	1546	1559	1,56	0,17
epi- α -Cadinol	1645	1638	5,14	0,33
α -Muurolol	1650	1644	1,10	0,13
Identificados			83,55	
Não identificados			16,45	

A composição do óleo essencial das folhas de *C. laceratoglandulosus* relatado no presente artigo está de acordo com o estabelecido por Neves e Camara (2011), que verificaram que 64 espécies do gênero *Croton* foram investigadas quanto à sua composição química e/ou papel biológico do óleo essencial. Quanto à composição química dos óleos essenciais, 111 compostos diferentes foram encontrados, sendo os sesquiterpenos, a classe predominante, assim como em *C. laceratoglandulosus*. E nesta classe química, o cariofileno está presente em cerca de 23 espécies diferentes, seguido de biciclogermacreno presente em 15 espécies. A classe química dos monoterpenos é encontrada em menor proporção, tendo o α -pineno sido encontrado em 19 espécies e 1,8 cineol encontrado em 11 espécies do gênero.

Para o efeito fumigante do óleo essencial de *C. laceratoglandulosus* sobre *S. zeamais* (F= 46.13; p < 0.000; GL= 6) (Figura 1A) e para *T. castaneum* (F= 28.09; p < 0.000; GL= 6) (Figura 1B) foram observadas diferenças significativas. Foi verificado aumento da mortalidade das duas espécies de insetos (Figuras 1A e 1B) à medida que a concentração do

óleo essencial foi aumentada. A maior concentração, 100 µL/L de ar ocasionou 85% de mortalidade para *S. zeamais* e 82,5 % para *T. castaneum*.

Figura 1 – Efeito fumigante do óleo essencial de *C. laceratoglandulosus* sobre *S. zeamais* (A) e *T. castaneum* (B).



De acordo com a tabela 2 verifica-se que o óleo das folhas de *C. laceratoglandulosus* foi tóxico ao *S. zeamais* com uma CL₅₀ de 1,65 µL/g e CL₉₀ de 5,5 µL/g, como também ao *T. castaneum* com uma CL₅₀ de 2,2 µL/g e CL₉₀ de 6,1 µL/g, provocando 85% de mortalidade para *S. zeamais* e 82,5% para *T. castaneum* em 48h.

Tabela 2 – Toxicidade por fumigação do óleo essencial de *C. laceratoglandulosus* sobre *S. zeamais* e *T. castaneum* em laboratório (Temperatura: 28 ± 2 °C; Umidade Relativa: 70 ± 5%; escotofase: 24 horas).

Inseto	N	(CL ₅₀ µL/g de milho) (I.C. 95%)	(CL ₉₀ µL/g de milho) (I.C. 95%)	GL	X ²
<i>Sitophilus zeamais</i>	240	1,65	5,5	4	8,66
<i>Tribolium castaneum</i>	240	2,2	6,1	4	7,48

N= Número de indivíduos testados; CL= Concentração letal; I.C= Intervalo de confiança; GL: Graus de liberdade; χ^2 = Qui-quadrado.

O óleo das folhas de *C. laceratoglandulosus* pode ser considerado significativo, pois a eficiência aumentou diretamente com a concentração, caracterizando o efeito fumigante. Resultados semelhantes foram obtidos por Aslan et al. (2004) e Çalmaşur et al. (2006) com óleos essenciais extraídos de outras plantas aromáticas contra espécies do gênero *Hymenaea*.

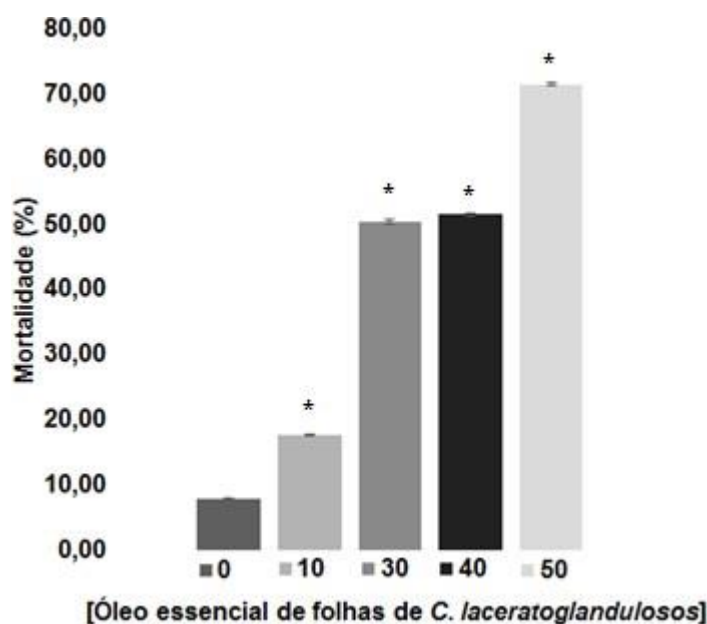
A fumigação comumente é o método mais eficaz de controle de insetos de produtos armazenados, o qual age diretamente sobre o sistema respiratório dos insetos promovendo a eliminação dos mesmos. É uma metodologia de fácil aplicação, geralmente mais barata, e com eficiência bastante comprovada (NENAAH, 2014; LORINI et al., 2015; ARENA et al., 2017).

Apesar do mecanismo de ação de como os monoterpenos e sesquiterpenos agem em insetos ainda não ser bem conhecido (SOUZA et al., 2016), estudos propõem que os óleos essenciais podem agir por meio da inalação via espiráculos dos insetos (YANG et al., 2005), inibição da atividade do citocromo P450 (JARAMILLO RAMIREZ et al., 2012), hormônios envolvidos na regulação do crescimento dos insetos e hormônio juvenil (LEE et al., 2018), ou através da inibição da enzima acetilcolinesterase (LEE et al., 2001). Siramon et al. (2009) sugerem que o composto 1,8-cineol como responsável por inibir a atividade da acetilcolinesterase (AChE) em bioensaios de fumigação realizado com *Coptotermes formosanus* Shiraki (espécie de cupim subterrâneo). Mesmo o composto 1,8-cineol não ter sido majoritário em *C. laceratoglandulosus* (3,90%, tabela 1), este pode ser um dos compostos responsáveis pela toxicidade ao *S. zeamais* e *T. castaneum*. Kostyukovsky et al. (2002) verificaram que a inibição da AChE não estava relacionada diretamente com as taxas de mortalidade de insetos. Os terpenóides podem agir sobre os receptores de GABA (Ácido Gama-Aminobutírico) (TONG; COATS, 2010) ou sobre os receptores de tiramina e octopamina (ENAN, 2001; PRICE; BERRY, 2006). Os monoterpenos e sesquiterpenos podem ser os responsáveis por causar efeitos tóxicos em insetos, como ocorrido nos testes de fumigação com o óleo essencial de *C. laceratoglandulosus* para *S. zeamais* e *T. castaneum*.

A ingestão da dieta artificial contendo óleo essencial de *C. laceratoglandulosus* provocou toxicidade sobre *S. zeamais*, com o aumento das concentrações, simultaneamente foi aumentada a mortalidade dos insetos (Figura 2). A concentração letal estimada para matar 50% dos insetos (CL₅₀) foi de 36,59 µL/g. Toxicidade por ingestão também foi observada utilizando-se os óleos essenciais de *Eucalyptus saligna*, *Cupressus sempervirens*, *Ocimum*

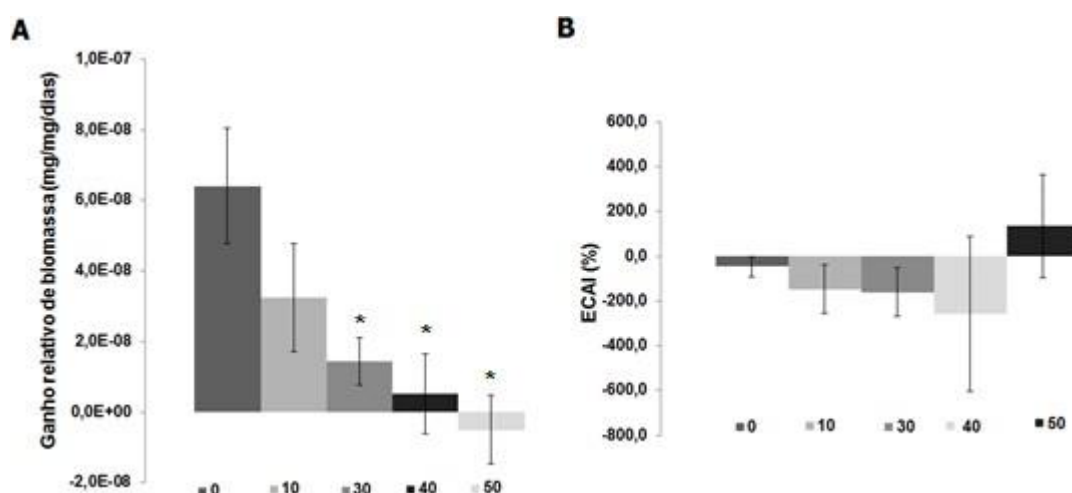
gratissimum e *Xylopia aethiopica* contra o *S. zeamais* (TAPONDJOU et al., 2005; NGAMO et al., 2007).

Figura 2 – Mortalidade de *S. zeamais* alimentados com dieta artificial incluída com óleo essencial de *C. laceratoglandulosus*.



Os valores de ganho relativo de biomassa foram a declínio com o aumento das concentrações e como se esperava, a concentração de 50 µL/g foi a que os insetos menos se alimentaram (Figura 3A), podendo inferir que os compostos presentes no óleo essencial de *C. laceratoglandulosus* provocaram algum tipo de repulsa, evitando que o inseto se alimentasse. Os valores da eficiência de conversão do alimento ingerido (ECAI), que indicam quanto da dieta alimentar foi consumida e transformada em biomassa do inseto, apresentaram valores negativos (Figura 3B) nos tratamentos em todas as concentrações, exceto a concentração de 50 µL/g.

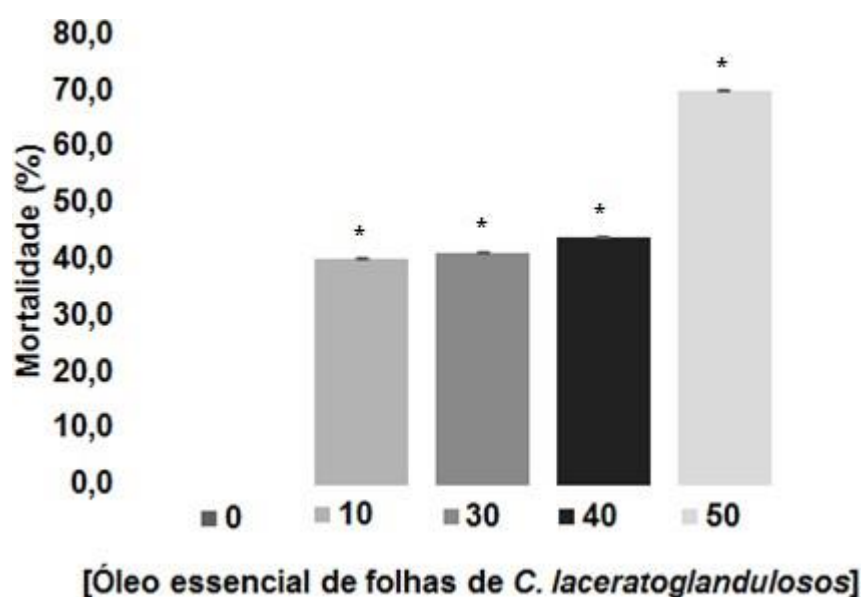
Figura 3 – Parâmetros nutricionais de *S. zeamais* alimentados com dieta artificial contendo óleo essencial de *C. laceratoglandulosus*. A. TGB: Taxa de ganho relativo de biomassa; B. ECAI: Eficiência de conversão do alimento ingerido.



Mesmo tendo um ganho relativo de biomassa menor na concentração de 50 µL/g, *S. zeamais* teve uma eficiência de conversão do alimento ingerido maior nessa concentração, esse resultado sugere interferência desses compostos no metabolismo do inseto podendo inferir que tais compostos provocaram alterações na digestibilidade.

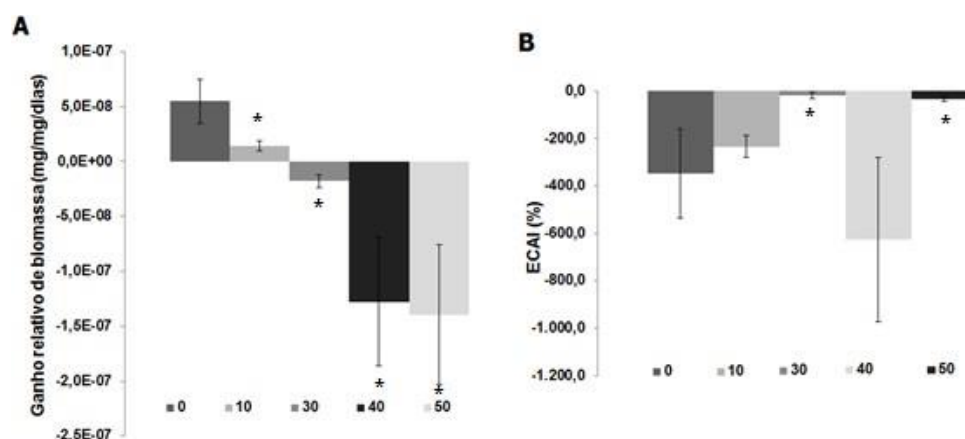
Para *T. castaneum*, a dieta alimentar acrescida do óleo essencial de *C. laceratoglandulosus* também resultou em alterações nos parâmetros nutricionais avaliados. Assim como em *S. zeamais*, a partir do aumento da concentração do óleo, aumentou-se a taxa de mortalidade (Figura 4). A CL₅₀ estimada foi de 35,51 µL/g.

Figura 4 – Mortalidade de *T. castaneum* alimentados com dieta artificial incluída com óleo essencial de *C. laceratoglandulosus*.



O óleo essencial de *C. laceratoglandulosus* promoveu alterações nutricionais e fisiológicas em *T. castaneum*, o que resultou em valores negativos para o ganho relativo de biomassa para as todas as concentrações, com exceção do controle, tendo a concentração de 50 $\mu\text{L/g}$ resultado em maior perda de biomassa pelo inseto (Figura 5A). Os valores da ECAI, também resultaram em valores negativos (Figura 5B), sendo a menor eficiência de conversão do alimento ingerido na concentração de 40 $\mu\text{L/g}$. A perda de peso observada em *T. castaneum* pode ser explicada devido à ingestão do alimento contendo o óleo, alterando tanto os processos de ingestão quanto de absorção, de modo que o inseto começa a metabolizar as próprias reservas corporais para sobreviver. Tais resultados indicam que os insetos não conseguiram incorporar a dieta de maneira satisfatória e que a quantidade de alimento ingerido não foi ideal para equilibrar os efeitos deletérios provocados pelo óleo essencial, resultando em perda de biomassa. Evidenciando que incorporação do óleo das folhas de *C. laceratoglandulosus* na dieta dos insetos, resultou em alterações no crescimento e na fisiologia do inseto (NAPOLEÃO et al., 2013).

Figura 5 – Aspectos nutricionais de *T. castaneum* alimentados com dieta artificial contendo óleo essencial de *C. laceratoglandulosus*. A. TGB: Taxa de ganho relativo de biomassa; B. ECAI: Eficiência de conversão do alimento ingerido.



Os valores observados para os aspectos nutricionais avaliados mostram que o óleo essencial de *C. laceratoglandulosus* incluído na dieta alimentar dos dois insetos-praga, provoca danos nutricionais, fisiológicos e comportamentais pela alteração do metabolismo. A atividade inseticida provocada por óleos essenciais pode ocorrer por mortalidade, malformações nas diferentes fases de desenvolvimento dos insetos, como também repelência e deterência de alimentação (ISMAN, 2006).

Os monoterpenos e sesquiterpenos podem causar interferência tóxica nas funções bioquímicas e fisiológicas de insetos (SIMÕES; SPTIZER, 2004). As espécies de *Croton* são excelentes fontes de monoterpenos, sesquiterpenos e fenilpropanoides (PALMEIRA et al., 2006; PESSOA, et al., 2012) e com excelente ação de deterência (PONTES et al., 2011). Pode-se inferir que o óleo essencial de *C. laceratoglandulosus* é fonte de compostos químicos com potencial deletério sobre a fisiologia nutricional de *S. zeamais* e *T. castaneum*, podendo resultar em interferência tóxica nas funções bioquímicas e fisiológicas de ambas as pragas.

Para os testes de repelência, foi possível verificar que com exceção da concentração de 10 μL para *S. zeamais*, houve diferença significativa entre as demais concentrações testadas do óleo essencial de *C. laceratoglandulosus* e suas testemunhas e estas foram classificadas como repelentes (Tabela 3). Nos testes com *T. castaneum*, todas as concentrações testadas diferiram significativamente de suas testemunhas pelo teste “t” ($P < 0,05$) e foram consideradas repelentes (Tabela 3). O índice de repelência (IR) foi de 0,21 a 1,0 para *S. zeamais* e 0,1 a 0,8 para *T. castaneum* (Tabela 3).

Tabela 3 – Potencial repelente de *C. laceratoglandulosus* sobre adultos de *S. zeamais* e *T. castaneum* em grãos e pó de milho tratados. Temp.: 28 ± 2 °C, UR: $70 \pm 5\%$ e fotofase: 24 horas.

Tratamento	Dose ($\mu\text{L}/20\text{g}$)	Média de Adultos Atraídos (%)		IR ¹ M $\pm$ DP	IS ²
		Óleo	Controle		
<i>Sitophilus zeamais</i>	10	5,0	5,0 ^{ns}	1,0 $\pm$ 0,16	N
	20	1,75	8,25 *	0,35 $\pm$ 0,34	R
	40	1,5	7,5 *	0,3 $\pm$ 0,38	R
	60	1,5	8,25 *	0,31 $\pm$ 0,26	R
	80	1,0	8,75 *	0,21 $\pm$ 0,24	R
	100	1,0	8 *	0,22 $\pm$ 0,29	R
<i>Tribolium castaneum</i>	10	4,0	6,0 *	0,8 $\pm$ 0,16	R
	20	3,5	6,5 *	0,7 $\pm$ 0,26	R
	40	3,5	6,5 *	0,7 $\pm$ 0,11	R
	60	2,75	7,25 *	0,55 $\pm$ 0,19	R
	80	1,75	8,25 *	0,35 $\pm$ 0,1	R
	100	0,5	9,5 *	0,1 $\pm$ 0,2	R

* Médias, nas linhas, diferem entre si pelo teste “t” (P < 0,05).

^{ns} Médias, nas linhas, não diferem entre si pelo teste “t” (P < 0,05).

¹ Índice de Repelência.

M = Média.

DP = Desvio Padrão.

² IS = Intervalo de Segurança, onde R= Repelente, N= Neutro e A= Atraente.

Nos ensaios de repelência, ao verificar a emergência dos insetos, observou-se redução na emergência em todas as concentrações tanto para *S. zeamais* como *T. castaneum*, porém para *S. zeamais*, somente a partir da concentração de 60 μL foi que houve uma boa redução na emergência de insetos. Ao contrário do observado em *T. castaneum*, que da menor concentração até a maior, houve altas reduções na emergência, tendo a concentração de 100 μL reduzido o número de adultos emergidos em 100% (Tabela 4).

Tabela 4 – Redução do número de *S. zeamais* e *T. castaneum* emergidos em grãos e pó de milho tratados com óleo essencial de *C. laceratoglandulosus*. Temp.: $28 \pm 2^\circ\text{C}$, UR: $70 \pm 5\%$ e fotofase: 24 horas.

Tratamento	Concentração ($\mu\text{L}/20\text{g}$)	Média de Adultos Emergidos		DP		Redução (%)
		Óleo	Controle	Óleo	Controle	
<i>Sitophilus zeamais</i>	10	22,5	57,0 ^{ns}	13	30,39	43,40
	20	22,5	59,25 ^{ns}	8,42	30,34	45,40
	40	11,75	35,75 ^{ns}	8,5	23,08	50,53
	60	7,25	25,75 [*]	6,89	10,44	56,06
	80	4,25	22,0 [*]	3,09	8,68	67,62
	100	2,5	35,75 ^{ns}	5	24,09	86,93
<i>Tribolium castaneum</i>	10	3,0	14,25 ^{ns}	1,41	7,76	65,22
	20	2,5	15,25 [*]	1,29	7,80	71,83
	40	1,0	21,5 [*]	0,82	3,70	91,11
	60	0,75	23,25 [*]	0,96	5,5	93,75
	80	0,75	23,25 [*]	0,96	8,5	93,75
	100	0,0	23,25 [*]	0	7,5	100

* Médias, nas linhas, diferem estatisticamente entre si pelo teste “t” ($P < 0,05$).

^{ns} Médias, nas linhas, não diferem entre si pelo teste “t” ($P < 0,05$).

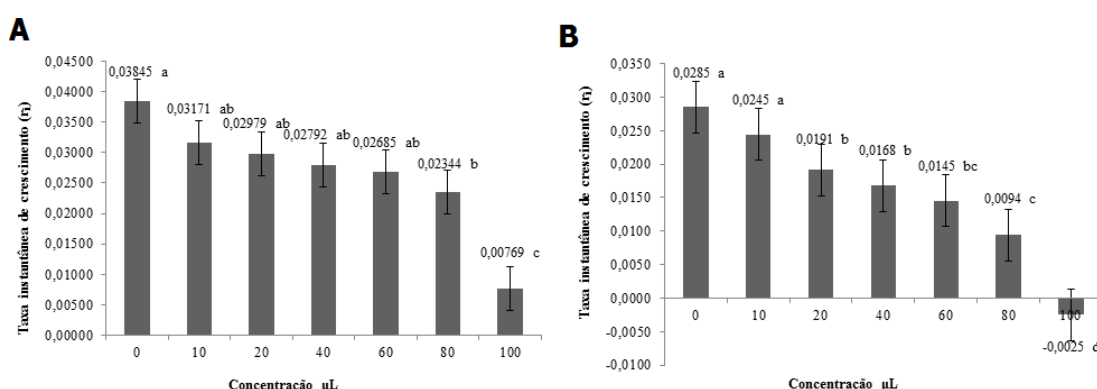
DP = Desvio Padrão.

O óleo essencial de *C. laceratoglandulosus* proporcionou elevada redução na emergência de *T. castaneum* na maior parte das concentrações utilizadas. Estes resultados corroboram com Coitinho (2009) que propõe que a ação repelente é uma propriedade importante no controle de pragas de grãos armazenados, evidenciando que quanto maior a repelência ocasionada por um óleo essencial menor será a infestação, e como resultado, a redução da postura e da quantidade de insetos emergidos. Alguns estudos evidenciaram que alguns óleos essenciais afetam diretamente o desenvolvimento embrionário dos ovos, reduzindo assim a emergência de novos adultos, causando efeitos ovicida e/ou larvicida (TAPONDJOU et al., 2005; KETOH et al., 2005), essa redução na emergência, ainda pode ser devido a repelência causada pelo óleo essencial de *C. laceratoglandulosus*.

A taxa instantânea de crescimento dos dois insetos sofreu alterações pelo uso do óleo essencial de *C. laceratoglandulosus* nos grãos de milho/pó de milho triturado, como observado nas figuras 6A e 6B. Houve diferenças significativas entre as concentrações do óleo essencial de *C. laceratoglandulosus* sobre *S. zeamais* ($F = 12.248$; $p < 0.0000$; $F = 6$) (Figura 6A) e para *T. castaneum* ($F = 79.531$; $p < 0.0000$; $F = 6$) (Figura 6B). De acordo com

os resultados obtidos, após 60 dias pode-se observar a redução populacional com o aumento gradativo das concentrações, apresentando baixas r_i (taxa instantânea de crescimento) podendo levar a uma iminente extinção populacional. Esses resultados corroboram com Correa (2011), que constatou redução na taxa de crescimento populacional em diferentes populações de *S. zeamais* quando tratada com óleo de cravo. Magalhães et al. (2015) verificaram o mesmo comportamento para *T. castaneum*, tendo os óleos essenciais de *C. pulegioides* e *Ocimum basilicum* Linnaeus reduzido consideravelmente a r_i .

Figura 6 – Efeito do óleo essencial de *C. laceratoglandulosus* sobre a taxa instantânea de crescimento (r_i) de *S. zeamais* (A) em milho armazenado e *T. castaneum* (B).



Assim, a taxa de crescimento instantânea (r_i) dos dois insetos pode ter sido afetada pelos compostos voláteis do óleo essencial extraído de *C. laceratoglandulosus* reduzindo assim a eclosão das larvas (SCHMIDT et al., 1991). Outro ponto que deve ser observado na redução da r_i é que, provavelmente, o período de sobrevivência dos insetos adultos nos grãos/pó tratados com as concentrações do óleo essencial foi suficiente para alterar a taxa de oviposição, impedindo a prole.

4. Conclusões

O óleo essencial extraído de folhas de *C. laceratoglandulosus*, apresentou em sua composição monoterpenos e sesquiterpenos, tendo como compostos majoritários o biciclogermacreno e (E)-Cariofileno.

O óleo essencial de *C. laceratoglandulosus* afetou a fisiologia nutricional dos insetos, uma vez que causou alteração nos parâmetros nutricionais. Ainda, o óleo essencial apresentou efeito fumigante, capacidade repelente, reduzindo significativamente a emergência e a taxa instantânea de crescimento de adultos de *S. zeamais* e *T. castaneum*.

Este é o primeiro registro da composição química do óleo essencial da espécie *C. laceratoglandulosus* e também o primeiro relato sobre a atividade inseticida. A múltipla toxicidade do óleo essencial de *C. laceratoglandulosus* revela um composto inseticida com efeito protetor contra os insetos praga *S. zeamais* e *T. castaneum*.

REFERÊNCIAS

- ADAMS, R. P. **Identification of Essential Oils Components by Gás Chromatography/Quadrupole Mass Spectroscopy**. Carol Stream: Allured Publishing Corporation, 804p, 2007.
- ARENA, J. S. et al. Fumigant and repellent activities of different essential oils alone and combined against the maize weevil (*Sitophilus zeamais* Motschulsky). **MOJ Bioorganic & Organic Chemistry**, v. 1, p. 1-6, 2017.
- ASLAN, I. et al. Toxicity of essential oil vapours to two greenhouse pests, *Tetranychus urticae* Koch and *Bemisia tabaci* Genn. **Industrial Crops and Products**, v. 19, p. 167-173, 2004.
- BUSTAMANTE, M. R. P. Plaguicidas botânicos, uma mentira o uma alternativa para el pequeno agricultor. In: Simpósio Nacional sobre substancias vegetales y minerales en el combate de plagas. **Aguascalientes**, p. 62-69, 1999.
- CASTRO, M. V. L. et al. Rendimento industrial e composição química de milho de alta qualidade proteica em relação a híbridos comerciais. **Pesquisa Agropecuária Tropical**, v. 39, n. 3, p. 233-242, 2009.
- COITINHO, R. L. B. C. **Atividade inseticida de óleos essenciais sobre *Sitophilus zeamais* Mots. (Coleoptera: Curculionidae)**. 62p. Tese (Doutorado em Entomologia Agrícola) - Universidade Federal Rural de Pernambuco, Recife, 2009.
- CORREA, Y. D. C. G. **Resposta de populações de *Sitophilus zeamais* à exposição dos óleos essenciais de cravo e de canela**. 49p. Dissertação (Mestrado em Entomologia), Universidade Federal de Viçosa, Minas Gerais, 2011.
- ÇALMAŞUR, O.; ASLAN, I.; ŞAHİN, F. Insecticidal and acaricidal effect of three Lamiaceae plant essential oils against *Tetranychus urticae* Koch and *Bemisia tabaci* Genn. **Industrial Crops and Products**, v. 23, n. 2, p. 140-146, 2006.
- ENAN, E. Insecticidal activity of essential oils: octopaminergic sites of action. **Comparative Biochemistry and Physiology, Toxicology & pharmacology**, New York, v. 130, n. 3, p. 325-337, 2001.
- FINNEY, D. J. **Probit analysis**. Cambridge, Cambridge University Press, 255p, 1971.
- GALLO, D. et al. **Entomologia agrícola**. Piracicaba: FEALQ, 920 p, 2002.
- ISMAN, M. B. Botanical insecticides, deterrents, and repellents in modern agriculture and an increasingly regulated world. **Annual Review of Entomology**, v. 51, p. 45-66, 2006.
- JARAMILLO-RAMIREZ, G. I. et al. Repellents Inhibit P₄₅₀ Enzymes in *Stegomyia* (Aedes) aegypti. **Plos One**, v. 7, p. 1–8, 2012.

- KETOH, K. G.; KOUMAGLO, H. K.; GLITHO, I. A. Inhibition of *Callosobruchus maculatus* F. (Coleoptera: Bruchidae) development by using essential oil extracted from *Cymbopogon schoenanthus* L. Spreng. (Poaceae) and the wasp *Dinarmus basalis* Rond. (Hymenoptera: Pteromalidae). **Journal of Stored Products Research**, v. 41, n. 4, p. 363-371, 2005.
- KOSTYUKOVSKY, M. et al. Activation of octopaminergic receptors by essential oil constituents isolated from aromatic plants: Possible mode of action against insect pests. **Pest Management Science**, v. 58, p. 1101–1106, 2002.
- LEE, S. E. et al. Fumigant toxicity of volatile natural products from Korean spices and medicinal plants towards the rice weevil, *Sitophilus oryzae* (L). **Pest Management Science**, v. 57, p. 548–553, 2001.
- LEE, S. H. et al. Plant-derived compounds regulate formation of the insect juvenile hormone receptor complex. **Pesticide Biochemistry and Physiology**, v. 150, p. 27-32. 2018.
- LIN, H.; KOGAN, M.; FISHER, D. Induced resistance in soybean to the Mexican bean beetle (Coleoptera: Coccinellidae): comparisons of inducing factors. **Environmental Entomology**, v. 19, p. 1852-1857, 1990.
- LORINI, I. et al. Manejo integrado de pragas de grãos e sementes armazenadas. Brasília: **Embrapa**, v. 86001, p. 970, 2015.
- LORINI, I. et al. **Expurgo da semente de soja com fosfina e seu efeito na qualidade fisiológica** – Série Sementes. Londrina: Embrapa Soja, 2013. 12 p. (Embrapa Soja. Circular técnica, 97).
- MAGALHÃES, C. et al. Potencial inseticida de óleos essenciais sobre *Tribolium castaneum* em milho armazenado. **Revista Brasileira de Plantas Medicinais**, v. 17, n. 4, p. 1150-1158, 2015.
- NAPOLEÃO, T. H. et al. Deleterious effects of *Myracrodruon urundeuva* leaf extract and lectin on the maize weevil, *Sitophilus zeamais* (Coleoptera, Curculionidae). **Journal of Stored Products Research**, v. 54, p. 26-33, 2013.
- NAVES, M. M. V. et al. Corn germ with pericarp in relation to whole corn: nutrient contents, food and protein efficiency, and protein digestibility-corrected amino acid score. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 31, n. 1, p. 264-269, 2011.
- NENAAH, G. E. Chemical composition, toxicity and growth inhibitory activities of essential oils of three *Achillea* species and their nano-emulsions against *Tribolium castaneum* (Herbst). **Industrial Crops and Products**, v. 53, p. 252-260, 2014.
- NEVES, I. A.; CAMARA, C. A. G. Acaricidal Activity against *Tetranychus urticae* and Essential Oil Composition of Four Croton Species from Caatinga Biome in Northeastern Brazil. **Natural Product Communications**, v. 6, p. 01-07, 2011.

NGAMO, T. S. L. et al. Persistence of insecticidal activities of crude essential oils of three aromatic plants towards four major stored product insect pests. **African Journal of Agricultural Research**, v. 2, p. 173–177, 2007.

NIST WebBookk (2014). National Institute of Standards and technology.
<http://www.nist.gov/>.

OBENG-OFORI, D. Plant oils as grain protectants against infestations of *Cryptolestes pusillus* and *Rhyzopertha dominica* in stored grain. **Entomologia Experimentalis et Applicata**, v. 77, p. 133-139, 1995.

PALMEIRA, J. R. S. F. et al. Constituintes químicos das folhas de *Croton sellowii* (Euphorbiaceae). **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 16, n. 3, p. 397-402, 2006.

PESSOA, O. D. L. et al. Flavonoides e sesquiterpenos de *Croton pedicellatus* Kunth.. **Química Nova**, v. 35, n. 11, p. 2169-2172, 2012.

PONTES, W. T. et al. Effects of the Ethanol Extracts of Leaves and Branches from Four Species of the Genus *Croton* on *Tetranychus urticae* Koch (Acari: Tetranychidae). **BioAssay**, vol. 6, n. 3, 2011.

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

SCHMIDT, G. H.; RISHA, E. M.; EL-NAHAL, A. K. Reduction of progeny of some stored-product Coleoptera by vapours of *Acoms calamus* oil. **Journal of Stored Products Research**, v. 27, n. 2, p. 121-127, 1991.

SILVA, C. G. V. et al. Atividade inseticida do óleo essencial de *Croton grewioides* Baill. sobre a praga de grãos armazenados *Zabrotes subfasciatus* Boheman. In: **Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Química**. Águas de Lindóia. v. 29, p. 3-4, 2006.

SILVA, J. S.; SALES, S. M. F.; CARNEIRO-TORRES, D. S. O gênero *Croton* na microregião do vale do Ipanema. **Rodriguésia**, v. 60, p. 879-901, 2010.

SIMÕES, C. M. O.; SPITZER, V. Óleos voláteis. In: SIMÕES, C. M. O.; SCHENKEL, E. P.; GOSMANN, G.; MELLO, J. C. P.; MENTZ, L. A.; PETROVICK, P. R. **Farmacognosia: da planta ao medicamento**. 5.ed. Porto Alegre: UFRGS, p. 467-95, 2004.

SIRAMON, P.; OHTANI, Y.; ICHIURA, H. Biological performance of *Eucalyptus camaldulensis* leaf oils from Thailand against the subterranean termite *Coptotermes formosanus* Shiraki. **Journal of Wood Science**, v. 55, p. 41–46, 2009.

SOUZA, V. N. D. et al. Fumigation toxicity of essential oils against *Rhyzopertha dominica* (F.) in stored maize grain. **Revista Caatinga**, v. 29, n. 2, p. 435-440, 2016.

SOUZA, L. P. et al. Composição química e toxicidade do óleo essencial de eucalipto sobre o ácaro-rajado/Chemical composition and toxicity of eucalyptus essential oil on spotted spider mite. **Comunicata Scientiae**, v. 7 (4), p. 486-493, 2016.

TAPONDJOU, A. et al. Bioactivities of cymol and essential oils of *Cupressus sempervirens* and *Eucalyptus saligna* against *Sitophilus zeamais* Motschulsky and *Tribolium confusum* du Val. **Journal of Stored Products Research**, Oxford, v. 41, n. 1, p. 91-102, 2005.

TONG, F.; COATS, J. R. Effects of monoterpenoid insecticides on [³H]-TBOB binding in house fly GABA receptor and ³⁶Cl - uptake in American cockroach ventral nerve cord. **Pesticide Biochemistry and Physiology**, v. 98, p. 317–324, 2010.

VASQUEZ-CASTRO, J. A. V. **Resíduos de fenitrothion e esfenvalerato em grãos de milho e trigo, em alguns de seus subprodutos processados e sua ação residual sobre *Sitophilus oryzae* (L.,1793) *Sitophilus zeamais* Motsch., 1855 (Coleoptera: Curculionidae) e *Rhyzopertha dominica* (Fabr., 1792) (Coleoptera: Bostrichidae).** 213p. Tese (Doutorado em Entomologia) - Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Piracicaba-SP, 2006.

WALTHALL, W. K.; STARK, J. D. A comparison of acute mortality and population growth rate as endpoints of toxicological effect. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 37, p. 45-52, 1997.

XIE, M. et al. Lectin modified trifunctional nanobiosensors for mapping cell surface glycoconjugates. **Biosensors and Bioelectronics**, v. 24, p. 1311-1317, 2009.

YANG, P.; MA, Y.; ZHENG, S. Adulticidal Activity of Five Essential Oils against *Culex pipiens quinquefasciatus*. **Journal of Pesticide Science**, v. 30, p. 84–89, 2005.

6 ARTIGO 3

Análise química e atividade inseticida do óleo essencial de folhas de *Croton urticifolius* sobre coleópteros-praga de milho armazenado

O artigo será submetido ao periódico *Journal of Stored Products Research*



Fator de impacto: 1.954

Análise química e atividade inseticida do óleo essencial de folhas de *Croton urticifolius* sobre coleópteros-praga de milho armazenado

Cilene Rejane Inácio de Magalhães Lira^a, Antonielson Bezerra da Silva^c, Patryck Érmerson Monteiro dos Santos^a, Thâmarah de Albuquerque Lima^a, Júlio César Ribeiro de Oliveira Farias de Aguiar^d, Daniela Maria do Amaral Ferraz Navarro^d, Carlos Romero Ferreira de Oliveira^b, Thiago Henrique Napoleão^a, Patrícia Maria Guedes Paiva^{a*}.

^aDepartamento de Bioquímica, Centro de Biociências, Universidade Federal de Pernambuco, Recife, Pernambuco, Brasil.

^bUniversidade Federal Rural de Pernambuco/Unidade Acadêmica de Serra Talhada, Serra Talhada, Pernambuco, Brasil.

^cDepartamento de Entomologia, Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia, Manaus, Amazonas, Brasil.

^dDepartamento de Química Fundamental, Centro de Ciências Exatas e Naturais, Universidade Federal de Pernambuco, Recife, Pernambuco, Brasil.

*Corresponding author. E-mail address: ppaivaufpe@yahoo.com.br

RESUMO

As plantas produzem vários metabólitos secundários que podem exibir atividade inseticida, podendo ser úteis como alternativa de controle para insetos de grãos armazenados. Os objetivos desse trabalho foram verificar a composição química e avaliar a atividade inseticida do óleo essencial obtido das folhas de *Croton urticifolius* sobre *Sitophilus zeamais* e *Tribolium castaneum*. O óleo essencial foi obtido por hidrodestilação, e caracterizado por cromatografia gasosa acoplada a espectrômetro de massas. Foram identificados 31 componentes, sendo majoritário o bicyclogermacrene (44,53%). Os bioensaios de toxicidade por fumigação e ingestão revelaram o potencial inseticida do óleo de *C. urticifolius* contra *S. zeamais*, com CL₅₀ de 2,6 µL/g e 27,74 µL/g, respectivamente. Também foi tóxico para *T. castaneum* com CL₅₀ de 2,371 e 48,4 µL/g, respectivamente. O método da fumigação pareceu ser mais eficaz contra as ambas espécies. O óleo essencial provocou efeito

repelente sobre *S. zeamais* e *T. castaneum*, além disso, resultou em alterações na taxa instantânea de crescimento e na emergência de adultos. Assim, o óleo essencial obtido das folhas de *C. urticifolius* mostra-se promissor para o controle de *S. zeamais* e *T. castaneum*.

Palavras-chave: Caatinga; Insetos de grãos armazenados; Plantas.

ABSTRACT

Plants produce several secondary metabolites that can exhibit insecticidal activity and can be useful as an alternative control for stored grain insects. The objectives of this work were to verify the chemical composition and to evaluate the insecticidal activity of the essential oil obtained from the leaves of *Croton urticifolius* on *Sitophilus zeamais* and *Tribolium castaneum*. The essential oil was obtained by hydrodistillation, and characterized by gas chromatography coupled with a mass spectrometer. Thirty-one components were identified, the majority being bicyclogermacrene (44.53%). Toxicity bioassays by fumigation and ingestion revealed the insecticidal potential of *C. urticifolius* oil against *S. zeamais*, with LC₅₀ of 2.6 µL/g and 27.74 µL/g, respectively. It was also toxic to *T. castaneum* with a LC₅₀ of 2.371 and 48.4 µL/g, respectively. The fumigation method seemed to be more effective against both species. The essential oil had a repellent effect on *S. zeamais* and *T. castaneum*, in addition, it resulted in changes in the instantaneous growth rate and in the emergence of adults. Thus, the essential oil obtained from the leaves of *C. urticifolius* shows promise for the control of *S. zeamais* and *T. castaneum*.

Keywords: Caatinga; Stored grain insects; Plants.

1. Introdução

O ataque por insetos-praga durante o período de armazenamento dos grãos é responsável por perdas consideráveis no setor de armazenamento de produtos agrícolas em todo o mundo. Dentre as espécies de insetos mais importantes, destacam-se o gorgulho *Tribolium castaneum* Herbst (Coleoptera: Tenebrionidae) responsável por infestar farinhas e grãos de cereais, além de ser uma das primeiras espécies de inseto a aparecer em produtos recentemente colhidos e armazenados (LOECK, 2002). Outra importante praga é o gorgulho do milho, *Sitophilus zeamais* (Coleoptera: Curculionidae), que é considerada uma das pragas de grãos armazenados com maior poder destrutivo e mundialmente distribuídas (LORINI, 1999; GUEDES, 2008).

A utilização de inseticidas na agricultura ao decorrer dos anos tem se demonstrado como um instrumento importante e indispensável para o aumento da produtividade, principalmente em grandes áreas de cultivo. Esta importância se deve ao aumento das perdas nas lavouras provocadas pelos insetos (SANTOS et al., 2007). A manutenção da alta produtividade agrícola atual não seria possível sem a utilização dos inseticidas, o que confirma que estes permanecerão a ter um importante papel em programas de manejo integrado de pragas no futuro (HASSAN; PRIJONO, 2011). Apesar da contribuição dos inseticidas sintéticos no aumento da produção agrícola, muitos são os problemas oriundos do uso intensivo, incorreto e indiscriminado. Nesse contexto, se faz necessário a busca por novos métodos de controle contra as pragas, uma alternativa é a utilização de plantas com propriedades inseticidas.

Os inseticidas a base de produtos vegetais, também chamados de inseticidas botânicos, consistem um método alternativo que pode substituir os produtos sintéticos e que minimizem efeitos causados por estes, já que as plantas contêm substâncias chamadas de princípios ativos que atuam como defesa contra insetos, patógenos e microorganismos. Além disso, a redução da variedade de moléculas sintéticas que têm propriedades inseticidas e o elevado custo para produzi-las têm incentivado as pesquisas com inseticidas de origem vegetal (POTENZA et al., 2004; PONTES, 2005; SOUZA, 2007).

Os inseticidas vegetais podem ser usados como pós, extratos aquosos ou orgânicos, óleos essenciais e emulsionáveis, apresentando toxicidade aos insetos por contato, ingestão e fumigação, devendo-se considerar qual parte da planta será utilizada, a forma de como preparar, concentração utilizada e época de aplicação (BUSTAMANTE, 1999; COITINHO, 2009).

Dentre as plantas aromáticas, as espécies de *Croton* possuem uma grande variedade química de compostos secundários, com óleos essenciais e constituintes ativos como terpenóides, flavonoides e alcaloides (COSTA et al., 2008). Algumas espécies de *Croton* produzem óleos essenciais com terpenóides e fenilpropanóides em sua composição, já outras produzem apenas terpenóides (SALATINO et al., 2007). Algumas espécies possuem propriedades inseticidas já comprovadas (VIEGAS JUNIOR, 2003; SILVA et al., 2010; LIMA et al., 2013; DIAS; MORAES, 2014; MAGALHÃES et al., 2015). Entretanto, o potencial inseticida de muitas espécies permanece completamente inexplorado.

Os óleos essenciais são substâncias vegetais voláteis e extremamente concentradas, que podem ser extraídos a partir de flores, frutos, sementes, folhas, raízes e outras partes das plantas por diferentes métodos de extração (ESCOBAR et al., 2010). Podem ser encontradas em diferentes partes das plantas e têm seu potencial inseticida confirmado em estudos científicos. Por serem de fácil extração e viáveis economicamente, os óleos essenciais têm ganhado cada vez mais destaque nos estudos com produtos naturais.

Porém, mesmo com toda importância do gênero *Croton* L., os estudos a cerca deste em áreas de Caatinga, requerem de mais atenção no que diz respeito às investigações quanto ao seu potencial inseticida.

Considerando a busca por métodos de controle de pragas de base ecológica que apresentem menores custos, facilidades de aplicação, redução dos riscos de contaminação ambiental e maior segurança para a saúde, este estudo tem por intuito identificar os compostos secundários e avaliar o potencial inseticida do óleo essencial das folhas de *C. urticifolius* para o uso no controle de *Sitophilus zeamais* e *Tribolium castaneum*.

2. Material e Métodos

2.1. Área de estudo

Os ensaios foram conduzidos no Núcleo de Ecologia de Artrópodes (NEA) e no Laboratório da Pós-Graduação em Produção Vegetal, da Unidade Acadêmica de Serra Talhada (UAST), da Universidade Federal Rural de Pernambuco (UFRPE), no município de Serra Talhada-PE.

2.2. Criações de insetos

Foram mantidas criações contínuas de *S. zeamais* e *T. castaneum* em câmara climática tipo B.O.D, nas seguintes condições: 28 ± 2 °C, $70 \pm 5\%$ de UR e 24h de fotofase. Os insetos foram mantidos em recipientes plásticos, fechados, com a tampa plástica contendo furos e revestida internamente com tecido que facilitasse as trocas gasosas. Como substratos alimentares foram utilizados grãos de milho e pó de milho triturado. Foram utilizados em todos os experimentos insetos não sexados e com idade conhecida (0 a 15 dias).

2.3. Obtenção do material vegetal

C. urticifolius foi coletado no Município de Santa Cruz da Baixa Verde–PE, Brasil, em 20 de Julho de 2017, entre às 07h00 e 09h00 da manhã, localizado nas seguintes coordenadas geográficas: latitude $7^{\circ} 54'' 32.206''\text{S}$ e longitude $38^{\circ} 18'' 1.177''\text{O}$. O material vegetal foi coletado apenas uma vez. O clima, de acordo com a classificação de Köppen, é do tipo BSwh. Os dados referentes ao clima no mês da coleta foram fornecidos pelo INMET - Instituto Nacional de Meteorologia. A temperatura média foi de 14,11 °C, temperatura máxima de 19,9 °C e precipitação de 168,2 mm. A identificação do *C. urticifolius* foi feita por especialista do Herbário do Semiárido do Brasil (HESBRA) onde exsicatas testemunhas foram depositadas, sob Voucher: HESBRA 1302 (S. S. Matos et al. 77).

2.4. Extração do óleo essencial

O óleo essencial de foi extraído de folhas de *C. urticifolius*. Após coletadas, as folhas foram acondicionadas em sacos de papel de 2 kg e levadas para secar em estufa a 50 °C, por 48 horas. Já secas, as folhas foram submetidas à hidrodestilação com auxílio de um Clevenger, adotando a metodologia de Santos et al., (2007) com modificações, por 2 horas. Foram utilizadas 200 g de folhas secas e 3 L de água destilada em cada extração. Posteriormente, com o auxílio de um funil de decantação foram acrescentados 400 mL de emulsão e 100 mL do solvente diclorometano (CH_2Cl_2), e a reação resultou em duas fases: uma de óleo-solvente e outra de água. A mistura óleo-solvente passou pelo processo de separação do óleo/solvente através de um rotaevaporador acoplado a uma bomba de vácuo. O óleo essencial extraído foi acondicionado em um vidro do tipo âmbar, sob temperatura de 6 a 10 °C.

2.5. Análise por cromatografia gasosa acoplada a espectro de massas

Para a análise do óleo essencial de *C. urticifolius*, 2 mg do óleo foi dissolvido em 1 mL de hexano bidestilado. 1 µL dessa solução foi injetada e analisada em um cromatógrafo gasoso acoplado a um espectrômetro de massas com analisador do tipo quadrupolo Agilent 5975C Series (Agilent Technologies, Palo Alto, USA) equipado com coluna apolar HP-5 (Agilent J&W, 60 m × 0.25 mm diâmetro interno; espessura do filme 0.25 µm). As amostras foram analisadas sob as seguintes condições: temperatura inicial de 40 °C (mantida por 2 min), rampa de aquecimento de 4 °C/min e temperatura final de 230 °C, que foi mantida por 5 minutos. O gás de arraste utilizado foi o hélio, a fluxo constante de 1 mL por minuto e a temperatura do injetor foi mantida a 250 °C. Os compostos eluídos da coluna cromatográfica foram ionizados por impacto de elétrons a 70 eV. A fonte de ionização foi mantida a 230 °C eo quadrupolo a 150 °C. Os espectros de massa foram obtidos no modo *scan* com velocidade de 0,5 scan por segundo, com faixa de varredura de *m/z* de 35 a 550.

1 µL do óleo essencial foi injetado em modo *split 1:50*. Os compostos foram identificados por meio da análise dos espectros de massa de cada pico cromatográfico, comparação com padrões autênticos e cálculo de índices de retenção. Foram calculados os índices de retenção linear dos componentes do óleo de *C. urticifolius* utilizando-se os tempos de retenção de cada composto e os tempos de retenção de n-alcanos (C₉ a C₂₅) analisados sob as mesmas condições. Os valores calculados foram comparados com os índices de retenção publicados na literatura (ADAMS, 2007; NIST WebBook, 2014).

A mesma solução foi quantificada por meio da injeção em triplicata de 1 µL em modo *splitless* dessa solução em cromatógrafo gasoso equipado com coluna apolar VB-5 (thermo trace GC ultra, 60 m × 0.25 mm diâmetro interno; espessura do filme 0.25 µm). As amostras foram analisadas sob as seguintes condições: temperatura inicial de 40 °C (mantida por 2 min), rampa de aquecimento de 4 °C/min e temperatura final de 230 °C, que foi mantida por 5 minutos. O gás de arraste utilizado foi o nitrogênio, a fluxo constante de 1 mL por minuto e a temperatura do injetor foi mantida a 250 °C. Os compostos eluídos da coluna cromatográfica foram detectados através de queimadores em chama (FID) a 250 °C.

2.6. Avaliação da toxicidade por fumigação do óleo essencial sobre *Sitophilus zeamais* e *Tribolium castaneum*

Os ensaios foram realizados em câmara climatizada à 28 ± 2 °C, $70 \pm 5\%$ UR e fotofase de 24 h. Foi verificada a toxicidade por fumigação do óleo essencial de *C. urticifolius* sobre *S. zeamais* e *T. castaneum*, de acordo com uma adaptação da metodologia descrita por Aslan et al. (2004). Como câmaras de fumigação, utilizaram-se potes de vidro (tipo bomboniere) com 300 mL de capacidade, onde foram liberados 10 adultos de *S. zeamais* ou *T. castaneum* (experimentos individuais para cada espécie) não sexados e com zero a quinze dias de idade. Foram usadas as seguintes concentrações do óleo: 10, 20, 40, 60, 80 e 100 $\mu\text{L L}^{-1}$ de ar e controle (sem tratamento), impregnadas em pedaços de papel filtro de 5 x 2 cm, presas na região inferior da tampa dos potes de vidro.

Utilizou-se o tecido poroso (tipo “voil”), entre a tampa e o pote para que fosse evitado o contato dos insetos com o óleo. As câmaras de fumigação foram vedadas com filme plástico (PVC) e fita adesiva, para impedir a saída do óleo. Decorridas 48 horas verificou-se a mortalidade dos insetos. Os resultados foram submetidos à análise de Probit para obtenção das CL_{50} e CL_{90} . Após a análise de Probit, os dados obtidos foram submetidos a novos testes para ratificação das CL_{50} e CL_{90} . Para cada uma das espécies de inseto foram realizados ensaios individuais, em delineamento inteiramente casualizado, com sete concentrações e quatro repetições.

2.7. Toxicidade por ingestão do óleo essencial na fisiologia nutricional de *Sitophilus zeamais* e *Tribolium castaneum*

Os experimentos foram montados com base em uma adaptação da metodologia de Xie et al. (1996) descrita por Napoleão et al. (2013). Foram utilizadas placas de petri de 90 x 15 mm com cinco discos de uma mistura contendo farinha de trigo e óleo essencial de *C. urticifolius*. Para o preparo da dieta artificial, concentrações crescentes do óleo em 1% de dimetilsulfóxido (DMSO) foram usadas para o preparo das soluções com farinha de trigo autoclavada com concentrações finais de 10, 30, 40 e 50 $\mu\text{L/g}$ (μL óleo puro/g de farinha de trigo) e no controle negativo foi utilizada farinha contendo água destilada e 1% dimetilsulfóxido. Misturada por cinco min, posteriormente foram montados os discos, usando uma alíquota de 200 μL da mistura. As placas de petri contendo os discos foram secas em estufa a 56 °C por 24 h, em seguida o peso dos discos foi anotado. 15 insetos (*S. zeamais* ou *T. castaneum*) com peso também anotado foram postos em cada uma das placas de petri. Os experimentos foram feitos em quintuplicata e levados à B.O.D com temperatura de 28 ± 2

°C. Após 7 dias da realização do experimento, foram verificados o peso dos discos e dos insetos. E em 7 e 15 dias foi verificada a taxa de mortalidade.

Ainda foram avaliados outros dados nutricionais: Taxa de ganho relativo de biomassa (TGB): (biomassa ganha)/(biomassa inicial dos insetos x dias) e a eficiência de conversão do alimento ingerido (ECAI): (biomassa adquirida/biomassa ingerida) x 100.

2.8. Potencial repelente do óleo essencial sobre *Sitophilus zeamais* e *Tribolium castaneum* e emergência de adultos

Os ensaios foram realizados em câmara climatizada a 28 ± 2 °C, $70 \pm 5\%$ UR e fotofase de 24 h. Verificou-se o efeito repelente do óleo essencial de *C. urticifolius* sobre *S. zeamais* e *T. castaneum*, sendo usadas as seguintes concentrações de 10, 20, 40, 60, 80 e 100 µL e controle: sem tratamento.

Utilizou-se arenas compostas por dois potes plásticos, em um contendo 20 g de grãos de milho para *S. zeamais* ou pó de milho triturado para *T. castaneum* tratados com o óleo essencial de *C. urticifolius* e no outro a mesma quantidade sem o óleo essencial (controle), estando esses potes conectados simetricamente a um pote central por dois tubos plásticos. As concentrações do óleo foram pipetadas sobre os grãos de milho ou pó. No pote situado na parte central foram postos 10 adultos não sexados de *S. zeamais* ou *T. castaneum* com 0 a 15 dias de idade. Os experimentos foram realizados de forma individual para cada um dos insetos, em delineamento inteiramente casualizado, com 07 concentrações e quatro repetições.

Decorridos cinco dias da colocação no pote central, os insetos presentes em cada um dos potes foram contabilizados e descartados. Os grãos ou pó foram colocados em outros recipientes plásticos e levados à B.O.D a 28 ± 2 °C, $70 \pm 5\%$ UR e fotofase de 24 h e os adultos emergidos após 34 dias (*S. zeamais*) e 28 dias (*T. castaneum*) foram contabilizados.

O índice de repelência (IR) foi obtido através da fórmula: $IR = 2G / (G + P)$, onde G = % de insetos atraídos no tratamento e P = % de insetos atraídos na testemunha. Os valores de IR podem variar entre zero e dois, sendo que IR = 1 indica repelência semelhante entre o tratamento e a testemunha (tratamento neutro), IR > 1 indica menor repelência do tratamento em relação à testemunha (tratamento atraente) e IR < 1 corresponde à maior repelência do tratamento em relação à testemunha (tratamento repelente). O intervalo de segurança (IS) é usado para considerar se o tratamento é ou não repelente, obtido utilizando-se a média dos IR (índice de repelência) e o respectivo desvio padrão (DP), ou seja, se a média dos IR for menor

que $1 - DP$, o óleo é repelente; se for maior que $1 + DP$ o óleo é atraente e se estiver entre $1 - DP$ e $1 + DP$ o óleo é considerado neutro (FINNEY, 1971).

A porcentagem média da emergência de adultos foi avaliada através da fórmula: $PR = [(NC - NT) / (NC + NT) \times 100]$, onde PR= percentual médio de emergência, NC= média de insetos emergidos na testemunha e NT= média de insetos emergidos no tratamento (OBENG-OFORI, 1995).

2.9. Efeito do óleo essencial na r_i de *Sitophilus zeamais* e *Tribolium castaneum*

Foram preparados experimentos individuais para cada espécie de inseto, em delineamento inteiramente casualizado, utilizando as concentrações de 10, 20, 40, 60, 80 e 100 μL e controle (sem tratamento) com quatro repetições.

As unidades experimentais constituíam-se de potes plásticos fechados com a tampa plástica perfurada e revestida internamente com um tecido que permitisse a respiração dos insetos. Em cada unidade experimental foram usadas 20 g de grãos de milho para *S. zeamais* ou 20 g de pó de milho triturado para *T. castaneum*. O óleo essencial foi aplicado sobre os grãos de milho ou pó de milho triturado usando um pipetador automático. Em cada um dos potes foram colocados 10 adultos não sexados de *S. zeamais* ou *T. castaneum* com 0 a 15 dias de idade. Posteriormente foram armazenados em câmara climatizada ajustada a $28 \pm 2^\circ\text{C}$, 70 $\pm$ 5% UR e fotofase de 24 h por um período de 60 dias.

Passado o período de armazenamento, foram contabilizados os insetos emergidos e calculada a taxa instantânea de crescimento populacional. Empregando-se a equação: $r_i = [\ln(N_f/N_0)/\Delta T]$, onde N_f = Número final de insetos; N_0 = Número inicial de insetos e ΔT = Variação de tempo (número de dias em que o ensaio foi executado). Valor positivo de r_i indica crescimento populacional; $r_i = 0$ significa que a população encontra-se estável e valor negativo de r_i indica declínio da população até a extinção, quando $N_f = 0$ (WALTHALL; STARK, 1997).

2.10. Análise estatística

Os dados com diferenças significativas entre os tratamentos foram estimados pelo teste de Tukey ($p < 0,05$) utilizando-se o programa computacional ASSISTAT versão 7.7 Beta.

Os resultados de mortalidade foram verificados pelo modelo Probit (FINNEY, 1971) para definir os valores da CL₅₀ e CL₉₀, com intervalos de confiança de 95%, por meio do software *R versão 3.5.0* para Windows.

3. Resultados e discussão

O perfil químico do óleo foi analisado em CG/EM e seus componentes foram identificados de forma quantitativa e qualitativa. Foram identificados 31 componentes em *C. urticifolius*. O que corrobora com o já descrito na literatura a respeito da grande diversidade química deste gênero. Sendo identificados como majoritários os sesquiterpenos Bicyclogermacreno (44,53%) e (E)-Cariofileno (21,20%) presentes na tabela 1.

Tabela 1 – Identificação dos constituintes do óleo essencial obtido das folhas de *C. urticifolius*.

Composto	Índice de retenção		Área (%)	SD
	Calculado	Literatura		
α -Pino	931	932	2,50	0,18
Benzaldeído	958	952	0,09	0,01
Sabineno	972	969	0,63	0,05
ρ -Cimeno	1024	1020	0,63	0,05
Limoneno	1027	1024	0,70	0,06
1,8-Cineol	1030	1026	0,14	0,04
γ -Terpineno	1058	1054	0,75	0,06
Terpinoleno	1088	1086	0,07	0,02
Terpinen-4-ol	1177	1174	0,66	0,03
Metil chavicol	1198	1195	0,11	0,00
Carvona	1245	1239	0,01	0,00
(Z)-Metil cinamato	1306	1299	0,01	0,00
α -Copaeno	1378	1374	0,95	0,03
β -Elemeno	1394	1389	0,23	0,39
Metil eugenol	1406	1403	0,28	0,32
α -Gurjuneno	1412	1409	1,07	0,06
(E)-Cariofileno	1422	1417	21,20	0,92
β -Copaeno	1431	1430	0,01	0,03
α -Humuleno	1456	1452	1,29	0,03
allo-Aromadendreno	1463	1458	1,60	0,03
Germacreno D	1484	1480	1,75	0,05
Bicyclogermacreno	1499	1500	44,53	0,08
β -Bisabolen	1511	1505	2,52	0,08

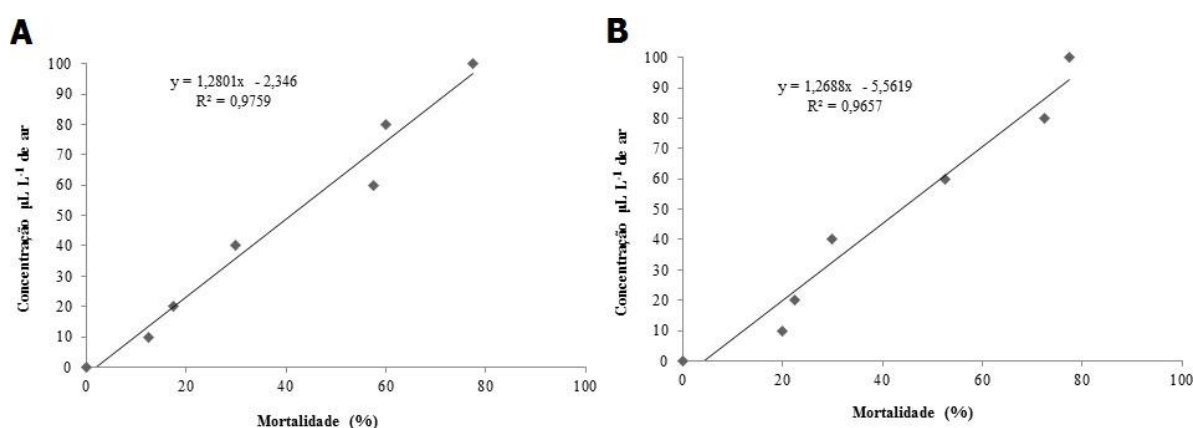
δ -Cadineno	1526	1522	2,96	0,52
Germacreno B	1560	1559	3,39	0,41
(E)-Nerolidol	1566	1561	0,01	0,00
Espatulenol	1581	1577	6,37	0,21
Viridiflorol	1595	1592	0,26	0,02
Guaiol	1601	1600	1,19	0,07
α -Cadinol	1658	1652	0,17	0,01
Bulnesol	1671	1670	0,30	0,03
Identificados			96,37	
Não identificados			3,63	

A composição química do óleo essencial de *C. urticifolius* equivale a dados da literatura para outras espécies de *Croton*. Analisando óleo essencial de *Croton argyrophyllus* Kunth, Ramos et al. (2013) identificaram 86,02% dos constituintes totais do óleo, dos quais biciclogermacreno (14.60%), espatulenol (8.27%) e (E)-cariofileno (6.79%) estando em maior quantidade. Os resultados do presente estudo também corroboram com o obtido por Lima et al. (2013), onde o perfil químico de *Croton sonderianus* Muell. Arg. foi analisado e identificados 26 compostos (97.39%), dos quais biciclogermacreno (16.36%) apresentou-se como componente majoritário.

Foram observadas diferenças significativas em todas as concentrações na taxa de mortalidade para o efeito fumigante do óleo essencial de *C. urticifolius* para *S. zeamais* ($F=13.170$; $p < 0.0000$; $GL=6$) (Figura 1A) e para *T. castaneum* ($F=22.677$; $p < 0.0000$; $GL=6$) (Figura 1B).

Nos ensaios de fumigação observou-se que ao aumentar a concentração do óleo aumentou-se diretamente a taxa de mortalidade para as duas espécies de insetos (Figuras 1A e 1B). O óleo de *C. urticifolius* provocou 87,5% de mortalidade na concentração de 80 $\mu\text{L/L}$ de ar em *S. zeamais* e 87,5% na concentração de 100 $\mu\text{L/L}$ de ar em *T. castaneum*.

Figura 1 – Toxicidade por fumigação do óleo essencial de *C. urticifolius* sobre *S. zeamais* (A) e *T. castaneum* (B).



De acordo com a Tabela 2 verifica-se que o óleo de *C. urticifolius* foi tóxico ao *S. zeamais* com uma CL_{50} de 2,6 e CL_{90} de 4,8 $\mu\text{L/g}$

e para *T. castaneum* com CL_{50} de 2,371 e CL_{90} de 5,4 $\mu\text{L/g}$, provocando 87,5% e 82,5% de mortalidades, respectivamente. O óleo das folhas do *C. urticifolius* pode ser considerado tóxico, pois sua ação foi aumentada diretamente com o aumento das concentrações testadas (Figuras 1A e 1B).

Tabela 2 – Toxicidade por fumigação do óleo essencial de *C. urticifolius* sobre *S. zeamais* e *T. castaneum* em laboratório (Temperatura: 28 ± 2 °C; Umidade Relativa: $70 \pm 5\%$; escotofase: 24 horas).

Inseto	N	(CL_{50} $\mu\text{L/g}$ de milho) (I.C. 95%)	(CL_{90} $\mu\text{L/g}$ de milho) (I.C. 95%)	GL	X^2
<i>Sitophilus zeamais</i>	240	2,6	4,8	4	4,59
<i>Tribolium castaneum</i>	240	2,371	5,4	4	8,11

N= Número de indivíduos testados; CL= Concentração letal; I.C= Intervalo de confiança; GL: Graus de liberdade; X^2 = Qui-quadrado; ND= Não definida.

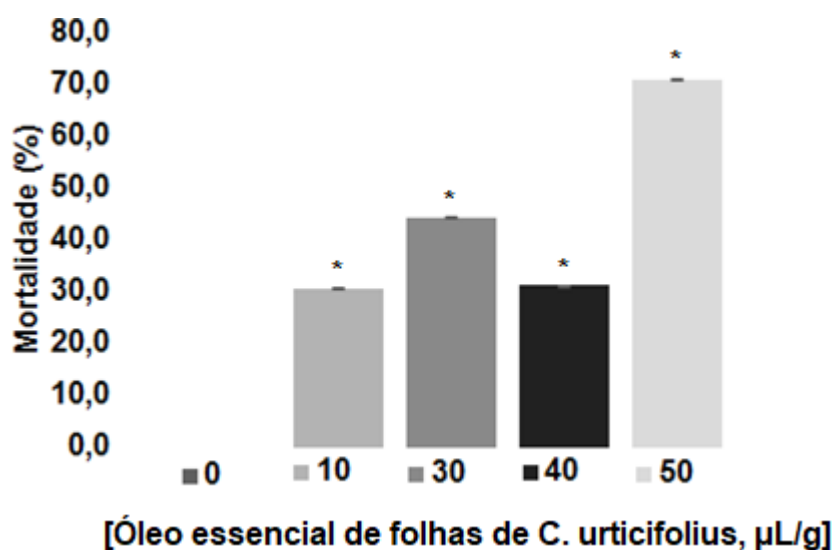
Quanto aos testes de fumigação, o óleo essencial obtido das folhas de *C. urticifolius*, mostrou-se eficaz contra *S. zeamais* e *T. castaneum*. A alta eficácia do óleo pode ser explicada em função de sua composição química, visto que possui principalmente sesquiterpenos em sua composição e estes podem ser os responsáveis pela toxicidade e consequente morte dos insetos, conforme ressaltado por Dias; Moraes (2014).

Os óleos voláteis de *Croton* possuem composição química bastante variada. Salatino et al. (2007) subdividiram *Croton* em dois grupos, um que apresenta terpenoides (monoterpenos e sesquiterpenos) e fenilpropanoides, e o outro que apresenta somente terpenoides. Fenilpropanoides como anetol e eugenol, e terpenoides como ascaridole, linalol, cânfora, biciclogermacreno, 1,8 cineol, limoneno, α e β -felandreno, copaeno, p-cimeno, α -pineno, são alguns dos principais compostos majoritários encontrados em óleos essenciais de *Croton* (BRASIL et al., 2009; DE LIMA et al., 2013; SANTOS et al., 2014).

O gênero *Croton* é detentor de ação inseticida. Silva et al. (2010) demonstraram a atividade inseticida do extrato etanólico do caule de *Croton linearifolius* sobre indivíduos adultos de *Cochliomyia macellaria*. Lima et al. (2013) relataram a atividade do óleo essencial de *Croton sordertran* no controle de *Nasutitermes corniger*. O óleo essencial extraído de *Croton heliotropiifolius* teve sua toxicidade comprovada, mostrando atividade frente à *Tribolium castaneum* e *Sitophilus zeamais* (MAGALHÃES et al., 2015). Estudos com extratos etanólicos de *Croton jacobinensis* demonstraram sua atividade inseticida (PONTES et al., 2011). Outro estudo com componentes voláteis de óleos essenciais de caules e folhas dessa espécie evidenciaram atividade acaricida relevante contra *Tetranychus urticae* (NEVES; CAMARA, 2011).

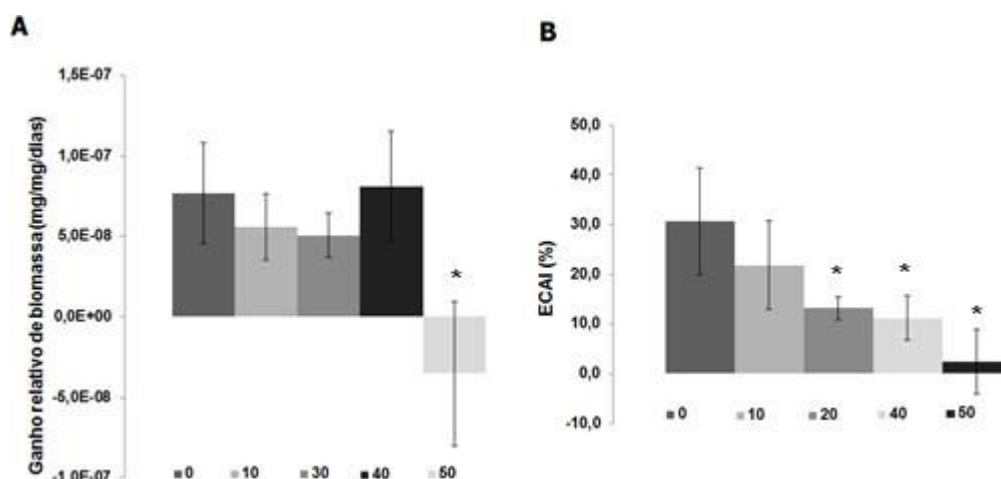
A ingestão da dieta artificial contendo óleo essencial de *C. urticifolius* foi tóxica ao *S. zeamais*, causando respostas fisiológicas e comportamentais, pois à medida que as concentrações foram aumentadas houve aumento da mortalidade, ultrapassando 70% (Figura 2). A curva de concentração-mortalidade de *S. zeamais* exposta ao óleo essencial *C. urticifolius*, foi usada para determinar a CL₅₀ no valor de 27,74 μ L/g.

Figura 2 – Mortalidade de adultos de *S. zeamais* alimentados com dieta artificial contendo óleo essencial de *C. urticifolius*.



A ingestão dos discos contendo o óleo essencial induziu distúrbios nutricionais nas concentrações testadas. Os valores do ganho relativo de biomassa foram negativos na maior concentração, mostrando que a dieta artificial contendo uma maior concentração de óleo e por consequência de compostos, impediu que o inseto se alimentasse (Figura 3A), resultando em perda de peso pelos insetos. A ECAI variou de 30,74% a 2,40%, e foi sendo reduzida com o aumento das concentrações (Figura 3B), indicando que o alimento ingerido foi insuficiente para contrabalancear os danos causados. O desbalanço nutricional causado pode estar relacionado à presença dos sesquiterpenos

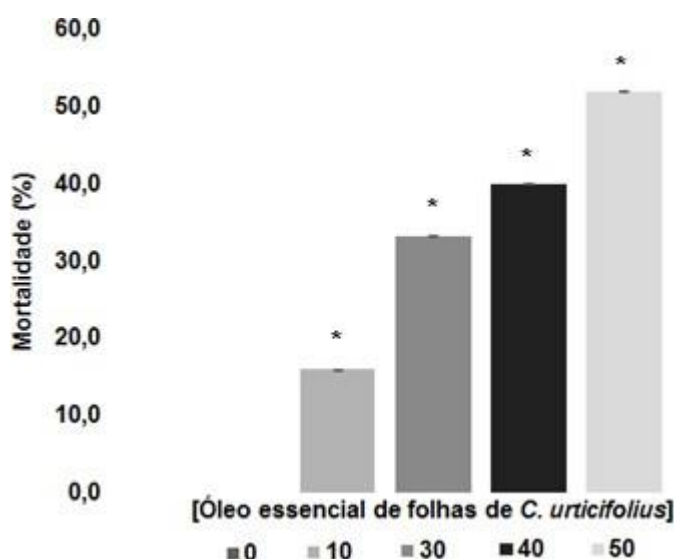
Figura 3 – Parâmetros nutricionais de adultos de *S. zeamais* alimentados com dieta artificial contendo óleo essencial de *C. urticifolius*. A) Ganho relativo de biomassa; B) ECAI: Eficiência de conversão do alimento ingerido.



Os resultados do ganho relativo de biomassa e da ECAI mostram o reflexo da redução da alimentação ou menor eficiência na conversão dos alimentos ingeridos e digeridos em biomassa (NATHAN et al., 2006) como observado para *Spodoptera littoralis* alimentadas com dieta tratada com azadiractina (MARTINEZ; VAN EMDEN, 2001). A menor eficiência em converter alimento em biomassa para o crescimento pode ser devido aos insetos desviarem energia da biomassa para a desintoxicação (KUMAR et al., 2008). A redução alimentar pode provocar a morte, resultar em danos no desenvolvimento dos insetos e acarretar infertilidade (PACKIAM et al., 2014). Extratos de sementes de *Peganum harmala* L. e *Catharanthus roseus* L. diminuíram o peso de pupas de *Plutella xylostella* (Linnaeus, 1758) (Lepidoptera: Plutellidae) e *Helicoverpa armigera* (SATYAN et al., 2009; ABBASIPOUR et al., 2010).

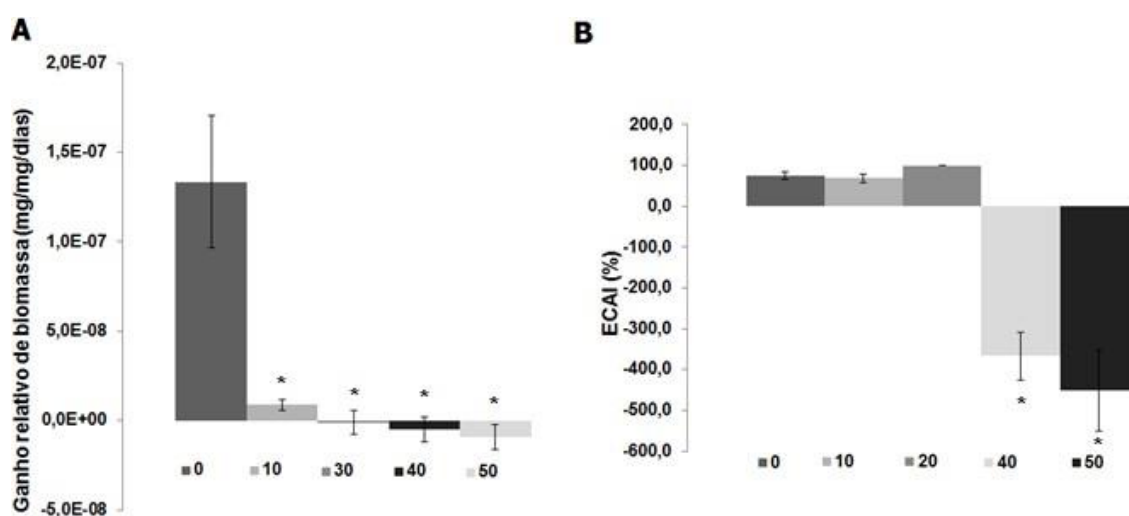
Assim como em *S. zeamais*, a ingestão da dieta artificial contendo óleo essencial de *C. urticifolius* resultou em mortalidade de adultos de *T. castaneum* após 7 e 15 dias (Figura 4), assim como relatado por Napoleão et al. (2013), em que o extrato de folhas de *Myracrodruon urundeuva* incorporado a dieta artificial na concentração de 10 mg/g causou a morte de *S. zeamais*. A curva de concentração-mortalidade de *T. castaneum* exposta ao óleo essencial *C. urticifolius*, foi usada para determinar a CL_{50} no valor de 48,4 μ L/g.

Figura 4 – Mortalidade de adultos de *T. castaneum* alimentados com dieta artificial contendo óleo essencial de *C. urticifolius*.



A ingestão da dieta artificial também promoveu alterações nos parâmetros nutricionais de adultos de *T. castaneum*. As taxas de ganho relativo de biomassa foram muito inferiores em todos os tratamentos com o óleo (Figura 5A). A eficiência de conversão do alimento ingerido (Figura 5B) foi negativa nas concentrações de 40 e 50 $\mu\text{L/g}$. Os resultados obtidos para *C. urticifolius* mostram que o óleo essencial das folhas funciona como uma alternativa para uso no controle de *T. castaneum* devido à sua capacidade de reduzir a atividade alimentar de adultos de *T. castaneum* e provocar sua mortalidade, provavelmente por indução de fome e pela ação de componentes tóxicos presentes (NAPOLEÃO et al., 2013).

Figura 5 – Parâmetros nutricionais de adultos de *T. castaneum* submetidos à alimentação artificial acrescida de óleo essencial de *C. urticifolius*. A) Ganho relativo de biomassa; B) ECAI: Eficiência de conversão do alimento ingerido.



Com relação aos bioensaios de repelência utilizando as concentrações anteriormente mencionadas do óleo essencial de *C. urticifolius* em ensaios de preferência alimentar com chance de escolha, não verificado efeito repelente apenas na concentração de 40 µL em *S. zeamais*, já em *T. castaneum* todas as concentrações utilizadas foram consideradas repelentes, resultando em índices de repelência (IR) de 0,32 a 0,77 para *S. zeamais* e 0,22 a 1,00 para *T. castaneum*. Considerando o intervalo de segurança, os índices de repelência encontrados demonstraram atividade neutra na concentração de 40 µL para *S. zeamais*, indicando de um modo geral, preferência de *S. zeamais* e *T. castaneum* para a região onde havia o milho ou pó de milho não tratado com o óleo essencial de *C. urticifolius* (Tabela 3).

Tabela 3 – Efeito repelente de *C. urticifolius* sobre adultos de *S. zeamais* e *T. castaneum* estimado a partir da porcentagem de insetos que se deslocaram para a área contendo o milho ou pó de milho não tratado (controle) ou com o milho ou pó de milho tratado (tratamento) com óleo essencial. Temp.: 28 ± 2 °C, UR: $70 \pm 5\%$ e fotofase: 24 horas.

Tratamento	Dose (µL/20g)	Média de Adultos Atraídos (%)		IR ¹ M± DP	IS ²
		Óleo	Controle		
<i>Sitophilus zeamais</i>	10	2,25	6,75 *	0,52 ± 0,39	R
	20	2,25	5,5 ^{ns}	0,59 ± 0,10	R
	40	2,5	4,75 ^{ns}	0,77 ± 0,33	N

	60	2,5	7,0 *	0,54 ± 0,30	R
	80	1,0	6,5 *	0,32 ± 0,34	R
	100	1,75	8,5*	0,34 ± 0,95	R
<i>Tribolium castaneum</i>	10	5,0	5,0 ^{ns}	1,0 ± 0,56	R
	20	4,0	5,5 ^{ns}	0,82 ± 0,29	R
	40	3,75	6,25 *	0,75 ± 0,19	R
	60	3,25	6,75 *	0,65 ± 0,3	R
	80	1,25	8,75 *	0,25 ± 0,19	R
	100	1,0	8,25 *	0,22 ± 0,16	R

* Médias, nas linhas, diferem entre si pelo teste “t” (P < 0,05).

^{ns} Médias, nas linhas, não diferem entre si pelo teste “t” (P < 0,05).

¹ Índice de Repelência.

M = Média.

DP = Desvio Padrão.

² Intervalo de Segurança, onde R= Repelente, N= Neutro e A= Atraente.

Os resultados observados nos testes de repelência mostraram que o óleo essencial de *C. urticifolius* apresentou efeito repelente sobre as duas pragas. Porém o efeito da repelência sobre a emergência de novos insetos foi mais discreto para *S. zeamais*, que mostrou redução na emergência de insetos apenas na concentração de 100 µL. Ao contrário do observado em *T. castaneum*, que houve uma diminuição no percentual de emergência de insetos após 28 dias no pó de milho tratado para o pó de milho não tratado a partir da concentração de 40 µL (Tabela 4).

Tabela 4 – Porcentagem de redução do número de adultos de *S. zeamais* e *T. castaneum* emergidos em grãos e pó de milho tratados com de *C. urticifolius*. Temp.: 28 ± 2°C, UR: 70 ± 5% e fotofase: 24 horas.

Tratamento	Concentração (µL/20g)	Média de Adultos Emergidos		DP		Redução (%)
		Óleo	Controle	Óleo	Controle	
<i>Sitophilus</i>	10	29,75	30,75 ^{ns}	2,5	7,72	1,65

<i>zeamais</i>	20	27,25	58,25 *	4,86	17,5	36,25
	40	18,0	40,5 *	4,08	7,77	38,46
	60	15,5	44,25 *	4,20	17,88	48,12
	80	7,5	27,75 *	6,45	11,73	57,45
	100	3,25	19,75 *	2,87	4,79	71,74
<i>Tribolium castaneum</i>	10	28,75	44,0 ^{ns}	18,77	19,03	20,96
	20	11,5	28,0 *	1,73	10,42	41,77
	40	5,0	19,75 ^{ns}	5,83	12,39	59,59
	60	0,0	6,25 ^{ns}	0	4,03	100
	80	0,0	5,5 *	0	1,91	100
	100	0,0	1,5 *	0	0,58	100

* Médias, nas linhas, diferem estatisticamente entre si pelo teste “t” ($P < 0,05$).

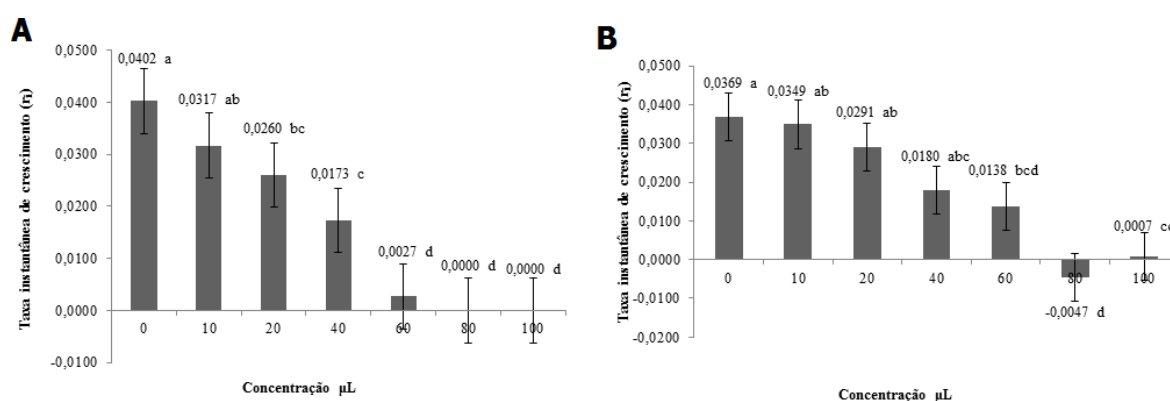
^{ns} Médias, nas linhas, não diferem entre si pelo teste “t” ($P < 0,05$).

DP = Desvio Padrão.

Segundo Almeida et al. (2013), a composição do óleo essencial extraído das folhas de uma espécie pertencente ao gênero *Croton* é dada por sesquiterpenos (67,8%) e monoterpenos (28,1%), em sua grande maioria. Assim, tendo majoritariamente em sua composição esses compostos, pode-se associar a repelência acarretada pelo óleo essencial de *C. urticifolius* ao fato de que compostos como sesquiterpenos causam uma inibição no apetite, associado ao retardo no desenvolvimento dos insetos e a redução na capacidade reprodutiva do inseto (PAVELA et al., 2016), como pode ser observado na tabela 4, em que houve boa redução na emergência de novos insetos na concentração de 100 μL (71,74%) para *S. zeamais* e redução de 100% nas concentrações de 60, 80 e 100 μL para *T. castaneum*.

Quanto à taxa instantânea de crescimento, as duas espécies apresentaram baixos crescimentos populacionais. As taxas instantâneas de crescimento populacional (r_i) de *S. zeamais* foram todas positivas e diferiram ($F = 32.449$; $p < 0.0000$; $GL = 6$) (Figura 6A) e para *T. castaneum*, a exceção foi a concentração de 80 μL que apresentou valores negativos, também foram observadas diferenças significativas entre as concentrações do óleo essencial de *C. urticifolius* para *T. castaneum* ($F = 12.727$; $p < 0.0000$; $GL = 6$) (Figura 6B).

Figura 6 – Efeito do óleo essencial de *C. argenteus* sobre a taxa instantânea de crescimento (r_i) de *S. zeamais* (A) e *T. castaneum* (B).



Neste estudo, a r_i de *S. zeamais* e *T. castaneum* decresceu à medida que se aumentou a concentração aplicada do óleo essencial de *C. urticifolius*, após 60 dias, sugerindo que a população destes insetos foi reduzida até a extinção.

A taxa instantânea de crescimento populacional (r_i) tem sido muito utilizada por apresentar resultados consistentes. Essa taxa avalia a capacidade de uma população aumentar exponencialmente em um ambiente; pode ser utilizado como um modelo prático, do ponto de vista experimental, pois oferece resultados rápidos, utilizando populações de insetos conhecidas, em um determinado período de exposição (WALTHALL; STARK, 1997).

4. Conclusões

O óleo essencial de *C. urticifolius* tem efeito inseticida via fumigação e ingestão em adultos de *S. zeamais* e *T. castaneum*. O efeito repelente sobre as duas espécies de insetos-praga causou redução na taxa de crescimento populacional e perda de biomassa corporal destes insetos. Os resultados obtidos reforçam os estudos sobre as potencialidades das plantas encontradas na Caatinga e oferecem subsídios para futuras pesquisas que visem a identificação e isolamento dos princípios ativos de produtos naturais, sobretudo da espécie estudada, que possam ser empregados no controle de *S. zeamais* e *T. castaneum*.

REFERÊNCIAS

- ABBASIPOUR, H. et al. Insecticidal activity of *Peganum harmala* seed extract against the diamondback moth, *Plutella xylostella*. **Bulletin of Insectology**, v. 63, p. 259-263, 2010.
- ADAMS, R. P. **Identification of Essential Oils Components by Gás Chromatography/Quadrupole Mass Spectroscopy**. Carol Stream: Allured Publishing Corporation, 804p, 2007.
- ALMEIDA, T. S. et al. Chemical composition, antibacterial and antibiotic modulatory effect of *Croton campestris* essential oils. **Industrial Crops and Products**, v. 44, p. 630–633, 2013.
- ASLAN, I. et al. Toxicity of essential oil vapours to two greenhouse pests, *Tetranychus urticae* Koch and *Bemisia tabaci* Genn. **Industrial Crops and Products**, v. 19, p. 167-173, 2004.
- BRASIL, D. S. et al. Essential Oil Composition of *Croton palanostigma* Klotzsch from North Brazil. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, v. 20, n. 6, p. 1188-1192, 2009.
- BUSTAMANTE, M. R. P. Plaguicidas botanicos, una mentira o una alternativa para el pequeno agricultor. In: SIMPOSIO NACIONAL SOBRE SUBSTANCIAS VEGETALES Y MINERALES EM EL COMBATE DE PLAGAS, 5., **Memorias**. Aguascalientes: SME, p. 62-69, 1999.
- COITINHO, R. L. B. C. **Atividade Inseticida de Óleos Essenciais sobre *Sitophilus zeamais* mots. (Coleoptera: Curculionidae)**. 62p. Tese (Doutorado em Entomologia Agrícola). Universidade Federal Rural de Pernambuco, Recife, PE, 2009.
- COSTA, J. G. M. et al. Composição química e avaliação da atividade antibacteriana e toxicidade do óleo essencial de *Croton zehntneri* (variedade estragol). **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 18, p. 583-586, 2008.
- DE LIMA, G. P. G. et al. Further insecticidal activities of essential oils from *Lippia sidoides* and *Croton* species against *Aedes aegypti* L. **Parasitology Research**, v. 112, p. 1953–1958, 2013.
- DIAS, C. N.; MORAES, D. F. C. Essential oils and their compounds as *Aedes aegypti* L. (Diptera: Culicidae) larvicides: review. **Parasitology Research**, v. 113, p. 565–592, 2014.
- ESCOBAR, P. et al. Chemical composition and antiprotozoal activities of Colombian *Lippia* spp essential oils and their major components. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 105, n. 6, p. 184-190, 2010.
- FINNEY, D. J. **Probit analysis**. Cambridge, Cambridge University Press, 255p, 1971.

GUEDES, N. M. P. **Comportamento em populações de *Sitophilus zeamais* resistentes a inseticidas**. 80p. Tese (Doutorado em Entomologia). Universidade Federal de Viçosa, Minas Gerais, 2008.

GUO, S. S. et al. Chemical composition and bioactivities of the essential oil from *Etlingera yunnanensis* against two stored product insects. **Molecules**, v. 20, p. 15735-15747, 2015.

HASSAN, E.; PRIJONO, D. Plants as a source of biopesticides for pest control: a new perspective. In: GÖKCEKUS, H.; TÜRKER, U.; LaMOREAUX, J. W. (Ed.). **Survival and sustainability: environmental concerns in the 21st century**. Dordrecht: Springer, p. 1491-1508, 2011.

KUMAR, N. S.; MURUGAN, K.; ZHANG, W. Additive interaction of *Helicoverpa armigera* nucleopolyhedrovirus and azadirachtin. **BioControl**, v. 53, p. 869-880, 2008.

LIMA, J. K. A.; ALBUQUERQUE, E. L. D.; SANTOS, A. C. C. Biototoxicity of some plant essential oils against the termite *Nasutitermes corniger* (Isoptera: Termitidae). **Industrial Crops and products**, v. 46, p. 246-241, 2013.

LOECK, A. E. Principais pragas que atacam produtos armazenados. In: LOECK, A. E. **Pragas de produtos armazenados**. Pelotas: EGUFPEL, cap. 7, p. 35-59, 2002.

LORINI, I. **Pragas de Grãos de Cereais Armazenados**. Passo Fundo: Embrapa Trigo, Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. 1999. 60p.

MAGALHÃES, C. R. I. et al. Potencial inseticida de óleos essenciais sobre *Tribolium castaneum* em milho armazenado. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v. 17, n. 4, p. 1150-1158, 2015.

MARTINEZ, S. S.; VAN, E. H. F. Growth disruption, abnormalities and mortality of *Spodoptera littoralis* (Boisduval) (Lepidoptera: Noctuidae) caused by Azadirachtin. **Neotropical Entomology**, v. 30, p. 113-125, 2001.

NATHAN, S. S.; SEHOON, K. Effects of *Melia azedarach* L. extracts on the teak defoliator *Hyblea punea* Cramer (Lepidoptera: Hyblaeidae). **Crop Protection**, v. 25, p. 287-291, 2006.

NAPOLÊÃO, T. H. et al. Deleterious effects of *Myracrodruon urundeuva* leaf extract and lectin on the maize weevil, *Sitophilus zeamais* (Coleoptera, Curculionidae). **Journal of Stored Products Research**, v. 54, p. 26-33, 2013.

NEVES, I. A.; CAMARA, C. A. Acaricidal activity against *Tetranychus urticae* and essential oil composition of four *Croton* species from Caatinga biome in northeastern Brazil. **Natural Products Community**, v. 6, n. 6, p. 893-899, 2011.

NIST WebBookk (2014). National Institute of Standards and technology.
<http://www.nist.gov>.

OBENG-OFORI, D. Plant oils as grain protectants against infestations of *Cryptolestes pusillus* and *Rhyzopertha dominica* in stored grain. **Entomologia Experimentalis et Applicata**, v. 77, p. 133-139, 1995.

- PACKIAM, S. M.; BASKAR, K.; IGNACIMUTHU, S. Feeding deterrent and growth inhibitory activities of PONNEEM, a newly developed phytopesticidal formulation against *Helicoverpa armigera* (Hubner). **Asian Pacific Journal of Tropical Medicine**, v. 4, p. S323-S328, 2014.
- PAVELA, R. et al. Essential oils as prospective fumigants against *Tetranychus urticae* Koch. **Industrial Crops and Products**, v. 94, n. 1, p. 755-761, 2016.
- PIETRO, J. A. et al. Chemical composition, insecticidal, and antifungal Activities of fruit essential oils of three Colombian *Zanthoxylum* species. **Chilean Journal of Agricultural Research**, v. 71, p. 73-82, 2011.
- PONTES, W. J. T. et al. Effects of the Ethanol Extracts of Leaves and Branches from Four Species of the Genus *Croton* on *Tetranychus urticae* Koch (Acari: Tetranychidae). **BioAssay**, v. 6, n. 3, 2011.
- RAMOS, J. M. O. et al. Chemical constituents and potential anti-inflammatory activity of the essential oil from the leaves of *Croton argyrophyllus*. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 23, n. 4, p. 644-650, 2013.
- SANTOS, G. K. N. et al. Effects of *Croton rhamnifolioides* essential oil on *Aedes aegypti* oviposition, larval toxicity and trypsin Activity. **Molecules**, v. 19, p. 16573-16587, 2014.
- SANTOS, L. G. M. et al. Avaliação do potencial fungitóxico do óleo essencial de *Syzygium aromaticum* (L.) Merr & Perry (cravo-da-índia). **Tecno-lógica**. Santa Cruz do Sul, v. 11, n. 1, p. 11-14, 2007.
- SANTOS, M. A. T.; AREAS, M. A.; REYES, F. G. R. Piretróides: uma visão geral. **Alimentos e Nutrição**, Araraquara, v. 18, n. 3, p. 339-349, 2007.
- SATYAN, R. S. et al. Growth inhibitory activity of fatty acid methyl esters in the whole seed oil of madagascar Periwinkle (Apocyanaceae) against *Helicoverpa armigera* (Lepidoptera: Noctuidae). **Journal of Economic Entomology**, v. 102, p. 1197-1202, 2009.
- SILVA, S. L. C. E. et al. Bioatividade do extrato etanólico do caule de *Croton linearifolius* Mull. Arg. (Euphorbiaceae) sobre *Cochliomyia macellaria* (Diptera: Calliphoridae). **Acta Veterinaria Brasilica**, Mossoró, v. 4, n. 4, p. 252-258, 2010.
- VIEGAS JUNIOR, C. Terpenos com atividade inseticida: uma alternativa para o controle químico de insetos. **Química Nova**, v. 26, n. 3, p. 390-400, 2003.
- WALTHALL, W. K.; STARK, J. D. A comparison of acute mortality and population growth rate as endpoints of toxicological effect. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 37, p. 45-52, 1997.

7 CONCLUSÃO

- ✓ Um total de 15 compostos foi identificado do óleo essencial de *C. argenteus*, onde o composto majoritário foi (E)-Cariofileno. Em *C. laceratoglandulosus* foi identificado um total de 18 componentes, sendo o biciclogermacreno o composto majoritário. E em *C. urticifolius* foram identificados 31 compostos, sendo majoritário o biciclogermacreno.
- ✓ Os óleos de *C. argenteus*, *C. laceratoglandulosus* e *C. urticifolius* foram caracterizados pela predominância de constituintes químicos da classe dos sesquiterpenos como principais componentes. A análise dos constituintes dos óleos revelou a presença de componentes reconhecidamente inseticidas.
- ✓ Os óleos essenciais de *C. argenteus*, *C. laceratoglandulosus* e *C. urticifolius* apresentaram atividade inseticida contra adultos de *S. zeamais* e *T. castaneum* por fumigação e ingestão. Além disso, o óleo exerceu efeitos nos parâmetros nutricionais dos insetos, promoveu redução na taxa de crescimento populacional.

REFERÊNCIAS

- ALKOFAHI, A. et al. Search for new pesticides from higher plants. **Insecticides of Plant Origin**, ACS Symposium Series 387, Washington, v.3, p.24-25, 1987.
- ALMEIDA, F. A. C et al. **Emprego do óleo de *Copaifera langsdorffii* no controle de *Tribolium castaneum* (Coleoptera: Tenebrionidae)**. In: Anais XLIII Congresso Brasileiro de Engenharia Agrícola - CONBEA, Campo Grande- MS, Brasil, 2014.
- ALVES, I. A. B. S. et al. Chemical composition, antioxidant and topical antiinflammatory activities of *Croton cordiifolius* Baill. (Euphorbiaceae). **Journal of Medicinal Plant Research**, v. 11, p. 22-33, 2017.
- AMORATI, R.; FOTI, M. C.; VALGIMIGLI, L. Antioxidant Activity of Essential Oils. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 61, n. 46, p. 10835-10847, 2013.
- ANTUNES, L. E. G. et al. Características físico-químicas de grãos de milho atacados por *Sitophilus zeamais* durante o armazenamento. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola Ambiental**, v. 15, n. 6, p. 615-620, 2011.
- ANTUNES, L. E. G.; DIONELLO, R. G. **Bioecologia de *Sitophilus zeamais* Motschulsky 1885 (Coleoptera: Curculionidae)**. 2010. Artigo em hipertexto. Disponível em: <http://www.infobibos.com/Artigos/2010_2/Sitophilus/index.htm>. Acesso em: 30/08/2018.
- ARAÚJO, F. M. et al. Antibacterial activity and chemical composition of the essential oil of *Croton heliotropiifolius* Kunth from Amargosa, Bahia, Brazil. **Industrial Crops and Products**, v. 105, p. 203-206, 2017.
- ASBAHANI, A. et al. Essential oils: From extraction to encapsulation. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 483, n. 1-2, p. 220-243, 2015.
- ATHIÉ, I. **Insetos de grãos armazenados: aspectos biológicos e identificação**. 2ª ed. São Paulo: Livraria Varela, 2002.
- AYALA, R. S.; CASTRO, M. D. L. Continuous subcritical water extraction as a useful tool for isolation of edible essential oils. **Food Chemistry**, v. 75, n. 1, p. 109-113, 2001.
- BAKKALI, F. et al. Biological effects of essential oils - A review. **Food and Chemical Toxicology**, v. 46, n. 2, p. 446-475, 2008.
- BARBOSA, J. D.; SILVA, V. B.; ALVES, P. B. Structure-activity relationships of eugenol derivatives against, *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae) larvae. **Pest Management Science**, v. 68, n. 6, p. 1478-1483, 2012.
- BARRETO, M. B. et al. Flavonoids and terpenoids from *Croton muscicarpa* (Euphorbiaceae). **Química Nova**, v. 36, n. 5, p. 675-679, 2013.
- BASSOLÉ, I. H. N; JULIANI, H. R. Essential oils in combination and their antimicrobial properties. **Molecules**, v. 17, n. 4, p. 3989-4006, 2012.

BELCHOL, F. S.; TEIXEIRA, I. R. V. **Preferência alimentar, performance e aceitabilidade de *Tribolium castaneum* (Coleoptera: Tenebrionidae) na farinha de soja integral**. 2007. Disponível

em: http://www.revistaanalytica.com.br/analytica/ed_anteriores/28/art01.pdf. Acesso em: 30/08/2018.

BENDICHO, C. et al. Ultrasound-assisted pretreatment of solid samples in the context of green analytical chemistry. **TrAC Trends in Analytical Chemistry**, v. 31, p. 50-60, 2012.

BENELLI, G. et al. Toxicity of some essential oil formulations against the Mediterranean fruit fly, *Ceratitis capitata* (Wiedemann) (Diptera Tephritidae). **Crop Protection**, v. 42, n. 1, p. 223- 229, 2012.

BENHALIMA, H. et al. Phosphine resistance in stored-product insects collected from various grain storage facilities in Morocco. **Journal of Stored Products Research**, v. 40, n. 3, p. 241-249, 2004.

BERRY, P. E. et al. Molecular phylogenetics of the giant genus *Croton* and tribe Crotonaeae (Euphorbiaceae sensu stricto) using ITS and trnL-trnF sequence data. **American Journal of Botany**, v. 92, p. 1520-1534, 2005.

BIASI, L. A.; DESCHAMPS, C. **Plantas aromáticas: do cultivo à produção de óleo essencial**. Curitiba: Layer Studio Gráfico e Editora Ltda, 2009.

BRAVO, A. et al. *Bacillus thuringiensis*: A story of a successful bioinsecticide. **Insect Biochemistry and Molecular Biology**, v. 41, n. 7, p. 423-431, 2011.

BRIDI, J.; LORINI, I.; SALVADORI, J. R. Efeito da fosfina em três concentrações na qualidade fisiológica da semente de trigo armazenada. In: CONFERÊNCIA BRASILEIRA DE PÓS-COLHEITA, 5, **Anais...**, Foz do Iguaçu, p. 281-286, 2010.

BRITO, S. S. S. et al. Bioatividade de óleos essenciais sobre *Zabrotes subfasciatus* Boh. (Coleoptera: Chrysomelidae) em feijão-comum armazenado. **Revista Brasileira de Ciências Agrárias**, v. 10, p. 243-248, 2015.

BRUNNER, G. Gas extraction: an introduction to fundamentals of supercritical fluids and the application to separation processes. 1st. Ed. Darmstadt: Steinkopff, New York: **Springer**, 387 p, 1994.

BRUNNER, G. Supercritical fluids: technology and application for food processing. **Journal of Food Engineering**, v. 67, p. 21-33, 2005.

BUENO, V. S.; ANDRADE, C. F. S. Avaliação preliminar de óleos essenciais de plantas como repelentes para *Aedes albopictus* (Skuse, 1894) (Diptera: Culicidae). **Revista Brasileira de Plantas Medicinais**, Botucatu, v. 12, n. 2, p. 215-219, 2010.

BUENTELLO-WONG, S. et al. Toxicity of some essential oil formulations against the Mexican fruit fly *Anastrepha ludens* (Loew) (Diptera: Tephritidae). **Industrial Crops and Products**, EUA, v. 85, n. 1, p. 58-62, 2016.

CALO, J. R. et al. Essential oils as antimicrobials in food systems - A review. **Food Control**, v. 54, p. 111-119, 2015.

CARDOSO, W. A. et al. Comparação entre métodos de extração de óleo de microalgas. **Revista Iniciação Científica**, Criciúma, v. 12, n. 1, p. 1-12, 2014.

CARNEIRO-TORRES, D. S. **Diversidade de Croton L. (Euphorbiaceae) no bioma Caatinga**. 295p. Tese de Doutorado (Doutorado em Programa de Pós-graduação em Botânica) - Universidade Estadual de Feira de Santana, Feira de Santana, Bahia, 2009.

CARROLL, M. J. et al. Attraction of *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae) larvae to volatiles from herbivore-damaged maize seedlings. **Journal of Chemical Ecology**, New York, v. 32, n. 9, p. 1911-1924, 2006.

CARSON, C. F.; HAMMER, K. A. Chemistry and bioactivity of essential oils. In: THORMAR, H. **Lipids and essential oils as antimicrobial agents**. West Sussex: John Wiley & Sons, cap. 9, p. 203-238, 2011.

CHAUDHRY, M. Q. et al. Effect of low temperatures on the rate of respiration and uptake of phosphine in different life stages of the cigarette beetle *Lasioderma serricorne* (F.). **Journal of Stored Products Research**, v. 40, p. 125-134, 2004.

CHU, S. S.; LIU, Q.R.; LIU, Z. L. Insecticidal activity and chemical composition of the essential oil of *Artemisia vestita* from China against *Sitophilus zeamais*. **Biochemical Systematics and Ecology**. v. 38, p. 489-492, 2010.

COITINHO, R. L. B. C. et al. Atividade inseticida de óleos vegetais sobre *Sitophilus zeamais* Mots. (Coleoptera: Curculionidae) em milho armazenado. **Revista Caatinga**, v. 19, n. 2, p. 176-182, 2006.

COLE, E. R. **Estudo fitoquímico do óleo essencial dos frutos da aroeira (*Schinus terebinthifolius* Raddi) e sua eficácia no combate ao dengue**. 82p. Dissertação (Mestrado em Química) – Universidade Federal do Espírito Santo, Vitória, 2008.

CORDEIRO, I. et al. *Croton laceratoglandulosus* Euphorbiaceae s.s., a new glandular-stipulate species from Brazil and Bolivia, and its systematic position based on molecular analysis. **Botanical Journal of the Linnean Society**, v. 158, p. 493-498, 2008.

CORDEIRO, I. et al. **Lista de Espécies da Flora do Brasil**. Rio de Janeiro: Jardim Botânico do Rio de Janeiro, 2015.

CORDEIRO, I.; CARNEIRO-TORRES, D. S. **Euphorbiaceae**. In: GIULIETTI, A. M.; CONCEIÇÃO, A. A.; QUEIROZ, L. P. Diversidade e caracterização das fanerógamas do semi-árido Brasileiro, v. 1, p. 106-116, 2006.

CORREIA, G. M. **Tecnigran: controle integrado de pragas**. Material didático. Maringá: Tecnigran, 2008.

CORREIA, J. C. R.; SALGADO, H. R. N. Atividade inseticida das plantas e aplicações: revisão. **Revista Brasileira de Plantas Medicinais**, v. 13, n. 4, p. 500-506, 2011.

COSTA FILHO, L. O. et al. Foliar cuticular n-alkane of some *Croton* species from Brazilian semiarid vegetation. **Biochemical Systematics and Ecology**, v. 41, p. 13–15, 2012.

COX, P. D. Potential for using semiochemicals to protect stored products from insect infestation. **Journal of Stored Products Research**, Amsterdam, v. 40, n. 1, p. 1-25, 2004.

CRAVEIRO, A. A. **Óleos essenciais de plantas do Nordeste**. Fortaleza. UFC, 1981.

DA SILVA BRITO, S. S. et al. *Croton argyrophyllus* Kunth and *Croton heliotropiifolius* Kunth: Phytochemical characterization and bioactive properties. **Industrial Crops and Products**, v. 113, p. 308-315, 2018.

DE LIMA, G. P. G. et al. Further insecticidal activities of essential oils from *Lippia sidoides* and *Croton* species against *Aedes aegypti* L. **Parasitology Research**, v. 112, p. 1953- 1958, 2013.

DE MARTINO, L. et al. In: PREEDY, V. R.; WATSON, R. R.. (ed). 1º Ed. Essential oils from Mediterranean Aromatic Plants. The Mediterranean Diet: An Evidence-Based Approach. Londres: **Elsevier**, Chap. 58, p. 649-661, 2014.

DETHIER, V. G. Chemical factors determining the choice of food plants by *Papilio* larvae. **American Naturalist**, Salem, v. 75, n. 756, p. 61-73, 1941.

DIAS, C. N; MORAES, D. F. C. Essential oils and their compounds as *Aedes aegypti* L. (Diptera: Culicidae) larvicides: review. **Parasitology Research**, v. 113, p. 565-592, 2014.

DÓRIA, G. A. et al. A study of the larvicidal activity of two *Croton* species from northeastern Brazil against *Aedes aegypti*. **Pharmaceutical Biology**, v. 48, n. 6, p. 615-620, 2010.

EL- SAKHAWY, F.S. et al. Composition and antimicrobial activity of the essential oil of *Murraya exotica* L. **Flavour and Fragrance Journal**. v. 13, p. 59-62, 1998.

ENAN, E. E. Molecular and pharmacological analysis of an octopamine receptor from American cockroach and fruit fly in response to plant essential oils. **Archives of Insect Biochemistry and Physiology**, v. 59, p. 161-171, 2005.

ENAN, E. E. Insecticidal activity of essential oils: octopaminergics sites of action. **Comparative Biochemistry and Physiology**. Part C, London, v. 130, n. 3, p. 325-337, 2001.

ESCOBAR, P. et al. Chemical composition and antiprotozoal activities of Colombian *Lippia* spp. essential oils and their major components. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, p. 184-190, 2010.

FARONI, L. R. D'A.; SILVA, J. S. Manejo de pragas no ecossistema de grãos armazenados. In: SILVA, J. S. (Ed.). **Secagem e armazenagem de produtos agrícolas**. Viçosa: Aprenda Fácil, p.371-406, 2008.

FAZOLIN, M. et al. Fumigação de milho para o controle do gorgulho utilizando caule de *Tanaecium nocturnum* (Bignoniaceae). **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 45, p. 1-6, 2010.

FERNANDES, J. R. C. *Sitophilus zeamais* e *Sitotriga cerealella*: pragas do milho. **Revista Técnico-Científica Agrícola**. Portugal. n. 2 , p. 72-76, 2012.

FIGUEIREDO, W. R. S. et al. Bioactivity of Oil from *Croton grewoides* on the Control of Mediterranean Fruit Fly. **Engenharia Ambiental**, v. 7, n. 4, p. 113-118, 2010.

FILIPPIS, F. M. **Extração com CO₂ supercrítico de óleos essencial de Hon-sho e Ho-sho-experimentos e modelagem**. 114f. Dissertação (Mestrado em Engenharia Química) – Departamento de Engenharia Química, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, 2001.

FINKLER, C. L. L. Controle de insetos: uma breve revisão. **Anais da Academia Pernambucana de Ciência Agrônômica**, Recife, v. 8 e 9, p.169-189, 2011/2012.

Flora do Brasil 2020 em construção. Jardim Botânico do Rio de Janeiro. **Croton**. Disponível em: <<http://floradobrasil.jbrj.gov.br/reflora/floradobrasil/FB17497>>. Acesso em: 09 Set. 2019.

FONTENELLE, R. O. S. et al. Antifungal activity of essential oils of *Croton* species from the Brazilian Caatinga biome. **Journal of Applied Microbiology**, v. 104, n. 5, p. 1383-1390, 2008.

FORNARI, T.; VICENTE, G.; VÁZQUEZ, E.; GARCÍA-RISCO, M. R.; REGLERO, G. Isolation of essential oil from different plants and herbs by supercritical fluid extraction. **Journal of Chromatography A**, v. 1250, p. 34-48, 2012.

FÜLLER, T. N. **Caracterização fenotípica, fitoquímica e molecular de populações de *Elionurus* SP. Humb. & Bompl ex Willd (capim-limão)**. 75p. Dissertação (Mestrado em Fitotecnia). Faculdade de Agronomia - Universidade Federal do Rio Grande do Sul. Porto Alegre, 2008.

GALLO, D. et al. **Entomologia agrícola**. Piracicaba: FEALQ, 2002.

GEROMINI, K.V.N. et al. Atividade antimicrobiana de óleos essenciais de plantas medicinais. **Arquivos de Ciências Veterinárias e Zoologia da UNIPAR**, p. 127-131, 2012.

GILLIJ, Y. G.; GLEISER, R. M.; ZYGADLO, J. A. Mosquito repellent activity of essential oils of aromatic plants growing in Argentina. **Bioresource Technology**, v. 99, n. 7, p. 2507-2515, 2008.

GOULA, A. M. Ultrasound-assisted extraction of pomegranate seed oil – Kinetic modeling. **Journal of Food Engineering**, v. 117, p. 492-498, 2013.

GUEDES, A. G. L. Timbó (*Derris urucu*): defensivo alternativo para uso em agricultura. **Agroecologia Hoje**, v.1, n.6, p. 18-19, 2001.

HAMEED, A. et al. Toxicological effects of neem (*Azadirachta indica*), Kanair (*Nerium oleander*) and spinosad (Tracer 240 SC) on the red flour beetle (*Tribolium castaneum*) (Herbst.). **African Journal of Agricultural Research**, v. 7, p. 555-560, 2012.

HAMID, A.; AIYELAAGBE, O.; USMAN, L., Essential oils: its medicinal and pharmacological uses. **International Journal of current research**, v. 33 (2), p. 86–98, 2011.

HASSAN, E.; PRIJONO, D. Plants as a source of biopesticides for pest control: a new perspective. In: GÖKCEKUS, H.; TÜRKER, U.; LaMOREAUX, J. W. (Ed.). *Survival and sustainability: environmental concerns in the 21st century*. Dordrecht: **Springer**, p. 1491-1508, 2011.

HOLETZ, F. B. et al. Screening of some plants used in the Brazilian folk medicine for the treatment of infectious diseases. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, Rio de Janeiro, v. 97, n. 7, p. 1027-1031, 2002.

ILBOUDO, Z. et al. Biological activity and persistence of four essential oil towards the main pest of stored cowpeas, *Callosobruchus maculatus* (F.) (Coleoptera: Bruchidae). **Journal of Stored Products Research**, Amsterdam, v. 46, n. 2, p. 124-128, 2010.

ISMAN, M. B.; MIRESMAILLI, S.; MACHIAL, C. Commercial opportunities for pesticides based on plant essential oils in agriculture, industry and consumer products. **Phytochemistry Reviews**, v. 10, p. 197-204, 2011.

JAKIEMIU, E. A. R. **Uma contribuição ao estudo do óleo essencial e do extrato de tomilho (*Thymus vulgaris* L.)**. 90 p. Dissertação de Mestrado (Mestrado em Tecnologia de Alimentos) - Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2008.

JARAMILLO-COLORADO. et al. Volatile secondary metabolites from Colombian *Croton malambo* (Karst) by different extraction methods and repellent activity of its essential oil. **Journal of Essential Oil Bearing Plants**, London, v. 17, n. 5, p. 992-1001, 2014.

JEMÂA, J. M. B. et al. Insecticidal activities of essential oil from leaves of *Laurus nobilis* L. from Tunisia, Algeria and Morocco, and comparative chemical composition. **Journal of Stored Products Research**, Amsterdam, v. 48, p. 97-104, 2012.

JURADO, F. R. et al. Essential oils: antimicrobial activities, extraction methods, and their modeling. **Food Engineering Reviews**, v. 7 (3), p. 275-297, 2015.

KABERA, J. et al. Insecticidal effects of essential oil of *Pelargonium graveolens* and *Cymbopogon citratus* on *Sitophilus zeamais* (Motsch.). **African Journal of Food Science**, v. 5, n. 6, p. 366-375, 2011.

KARABÖRKLÜ, S.; AYVAZ, A.; YILMAZ, S. Bioactivities of different essential oils against the adults of two stored product insects. **Pakistan Journal of Zoology**, v. 42, p. 679-686, 2010.

KIM, S. I. et al. Contact and fumigant activities of aromatic plant extracts and essential oils against *Lasioderma serricorne* (Coleoptera: Anobiidae). **Journal of Stored Products Research**, Amsterdam, v. 39, n. 1, p. 11-19, 2003b.

KIM, S. I. et al. Insecticidal activities of aromatic plant extracts and essential oils against *Sitophilus oryzae* and *Callosobruchus chinensis*. **Journal of Stored Products Research**, v. 39, p. 293–303, 2003a.

KIM, S. I. et al. Toxicity and repellency of *origanum* essential oil and its components against *Tribolium castaneum* (Coleoptera: Tenebrionidae) adults. **Journal of Asia-Pacific Entomology**, Amsterdam, v. 13, n. 4, p. 369-373, 2010.

KONSTANTOPOULOU, M. A.; KROKOS, F. D.; MAZOMENOS, B. E. Chemical composition of corn leaf essential oils and their role in the oviposition behavior of *Sesamia nonagrioides* females. **Journal of Chemical Ecology**, v. 30, n. 1, p. 2243-2256, 2002.

KWEKA, E. J. et al. Insecticidal activity of the essential oil from fruits and seeds of *Schinus terebinthifolia* Raddi against African malaria vectors. **Parasites & vectors**, v. 4, n. 1, p. 129, 2011.

LAZZARI, S. M. N; KARKLE, A. F; LAZZARI, F. A. Resfriamento artificial para o controle de Coleoptera em arroz armazenado em silo metálico. **Revista Brasileira de entomologia**. v. 50, n. 2, p. 293-296, 2006.

LIMA, J. K. A. et al. Biototoxicity of some plant essential oils against the termite *Nasutitermes corniger* (Isoptera: Termitidae). **Industrial Crops and Products**, v. 47, p. 246-251, 2013.

LIMA, M. G. A. et al. Effect of stalk and leaf extracts from Euphorbiaceae species on *Aedes aegypti* (Diptera, Culicidae) larvae. **Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo**, v. 48, n. 4, p. 211-214, 2006.

LIMA, R. K. Insecticidal activity of long-pepper essential oil (*Piper hispidinervum* C. DC.) on fall armyworm *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith, 1797) (Lepidoptera: Noctuidae). **Acta Amazonica**, v. 39, n. 2, p. 377-382, 2009.

LIU, Z. L.; CHU, S. S.; LIU, Q. R. Chemical Composition and Insecticidal Activity against *Sitophilus zeamais* of the Essential Oils of *Artemisia capillaris* and *Artemisia mongolica*. **Molecules**, v. 15, n. 4, p. 2600-2608, 2010.

LOBO, A.M.; LOURENÇO, A.M. **Biossíntese de produtos naturais**. Lisboa: IST Press, Instituto Superior Técnico, 2007.

LOECK, A. E. **Praga de Produtos Armazenados**. Pelotas, RS, EGUFPPEL, 113p, 2002.

LÓPEZ, S. B. et al. Composition and Anti-insect Activity of Essential Oils from *Tagetes* L. Species (Asteraceae, Helenieae) on *Ceratitis capitata* Wiedemann and *Triatoma infestans* Klug. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 59, p. 5286-5292, 2011.

LORENZO, D.; GONZALEZ, G.; ROSSINI, C. **Farmacognosia y Productos Naturales**. Contenido del curso teórico, Apostila 04: Aceites Esenciales. Universidad de la Republica do Uruguay, Montevideo, p. 14-18, 2002.

LORINI, I. et al. **Manejo integrado de pragas de grãos e sementes armazenadas**, Brasília: Embrapa, v. 86001, p. 970, 2015.

LORINI, I. et al. **Principais pragas e métodos de controle em sementes durante o armazenamento** – Série Sementes. Londrina: Embrapa Soja, (Embrapa Soja. Circular Técnica, 73), 12 p, 2010.

LORINI, I. **Manejo Integrado de Pragas de Grãos de Cereais Armazenados**. Passo Fundo: Embrapa Trigo, 72p, 2008.

LORINI, I.; SCHNEIDER, S. **Pragas de Grãos Armazenados: resultados de pesquisa**. Passo Fundo: EMBRAPA-CNPT, 47p, 1994.

LUPE, F. A. **Estudo da composição química de óleos essenciais de plantas aromáticas da amazônia**. 120 p. Dissertação (Mestrado) – Instituto de Química – Universidade Estadual de Campinas, São Paulo, Campinas, 2007.

MACHADO, B. F. M. T.; FERNANDES Jr., A. Óleos essenciais: aspectos gerais e usos em terapias naturais. **Cadernos Acadêmicos**, v. 3, n. 2, p. 105-127, 2011.

MACIEL, M.A.M. et al. Medicinal plants: the need for multidisciplinary scientific studies. **Química Nova**, v.25, n.3, p.429-438, 2002.

MAGALHAES, C. R. I. et al. Óleos essenciais na emergência de grãos de milho (*Zea mays* L.). **Enciclopédia Biosfera**, v. 10, p. 338-349, 2014.

MAGALHÃES, C.R.I. et al. Potencial inseticida de óleos essenciais sobre *Tribolium castaneum* em milho armazenado. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v. 17, p. 1150-1158, 2015.

MAIA, M. F.; MOORE, S. J. Plant-based insect repellents: a review of their efficacy, development and testing. **Malaria Journal**, London, v. 10, (suppl. 1), 2011.

MALVEIRA CAVALCANTI, J. et al. The essential oil of *Croton zehntneri* and trans-anethole improves cutaneous wound healing. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 144, p. 240-247, 2012.

MANDAL, V.; MOHAN, Y.; HEMALATHA, S. Microwave assisted extraction – an innovative and promising extraction tool for medicinal plant research. **Pharmacognosy Reviews**, v. 1, p. 7-18, 2007.

MARIANO, F. D.; SANTOS, S.; SANTOS, F. F. Utilização de terra de diatomácea como alternativa no controle de insetos em grãos de trigo armazenado. **Revista Analytica**, v. 3, n. 24, p. 60-64, 2006.

MELO B. A. et al. Repellency and bioactivity of Caatinga biome plant powders against *Callosobruchus maculatus* (Coleoptera: Chrysomelidae: Bruchinae). **Florida Entomologist**, Lutz, v. 98, n. 2, p. 417–423, 2015.

MELO, G. F. A. E. et al. The sensitivity of bacterial foodborne pathogens to *Croton blanchetianus* Baill essential oil. **Brazilian Journal of Microbiology**, v. 4, p.1189-119, 2013.

MENEZES, E. L. A. **Inseticidas botânicos: seus princípios ativos, modo de ação e uso agrícola**. Seropédica, Rio de Janeiro: Embrapa Agrobiologia, 58p, 2005.

MONTEIRO-SANTOS, P. É. et al. Contact toxicity of essential oil of *Croton pulegioidorus*

Baill on *Sitophilus zeamais* Motschulsky. **Revista Caatinga**, Mossoró, v. 32, n. 2, p. 329 – 335, 2019.

MORAIS, S. M. et al. Larvicidal activity of essential oils from Brazilian *Croton* species against *Aedes aegypti* L. **J Am Mosq Control Assoc.**, v. 22, n. 1, p. 161-164, 2006.

MORITA, M. et al. Molecular cloning and functional expression of triterpene synthases from pea (*Pisum sativum*): new α -amyrin-producing enzyme is a multifunctional triterpene synthase. **European Journal of Biochemistry**, v. 267, n. 12, p. 3453–3460, 2000.

MORÓN RODRIGUEZ, F. et al. Validación preclínica de extractos fluidos de *Croton argenteus* L.. **Revista Cubana Plant Med**, v. 11, n. 2, p. 0-0, 2006.

NERIO, L. S.; OLIVERO-VERBEL J, STASHENKO E. Repellent activity of essential oils: a review. **Bioresour Technol**, v. 101, p. 372–378, 2010.

NOGUEIRA, L. M. et al. Antinociceptive effect of the essential oil obtained from the leaves of *Croton cordiifolius* Baill. (Euphorbiaceae) in mice. **Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine**, v. 2015, p. 1-7, 2015.

OLIVEIRA, J.; VENDRAMIM, J.; HADDAD, M. Bioatividade de pós vegetais sobre o caruncho do feijão armazenado. **Revista de Agricultura**, v. 4, p. 44-48, 1999.

OLMEDO, R. et al. Essential oil of *Tagetes filifolia* against the flour beetle *Tribolium castaneum* and its relation to acetylcholinesterase activity and lipid peroxidation. **Agriscientia**, v. 32, n. 2, p. 113-121, 2015.

PAPACHRISTOS, D. P. et al. The relationship between the chemical composition of 40 three essential oils and their insecticidal activity against *Acanthoscelides obtectus* (Say). **Pest Management Science**, v. 60, p. 514-520, 2004.

PAVELA, R. et al. Essential oils as prospective fumigants against *Tetranychus urticae* Koch. **Industrial Crops and Products**, v. 94, n. 1, p. 755-761, 2016.

PERES, L. E. P. **Metabolismo Secundário**. Piracicaba – São Paulo: Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz. ESALQ/USP, p. 1-10, 2004.

PERRUT, M. Supercritical fluid applications: industrial developments and economic issues. **Industrial and Engineering Chemistry Research**, v. 39 (12), p. 4531-4535, 2000.

PHILLIPS, A. K.; APPEL, A. G. Fumigant Toxicity of Essential Oils to the *German Cockroach* (Dictyoptera: Blattellidae). **Journal of Economic Entomology**, v. 103, n. 3, p. 781-790, 2010.

PRADO, D. E.; GIBBS, P. E. Patterns of species distributions in the dry seasonal forest South America. **Annals of the Missouri Botanical Garden**, Missouri, v. 80, p. 902-927, 1993.

PRATT, S. J. **Insect toxicology of phosphine**. 293p. Acton: Ed. Australian National University, (PhD. Thesis), 2005.

PROCÓPIO, T. F. et al. Interferência do extrato aquoso de folhas de *Tradescantia spathacea* na fisiologia nutricional do gorgulho do milho, *Sitophilus zeamais*. **Arrudea**, v.1, n. 1, p. 24 – 27, 2015.

PUZZI, D. **Manual de Armazenamento de Grãos**. São Paulo: Agronômica Ceres, 1977.

RATTAN, R. S. Mechanism of action of insecticidal secondary metabolites of plant origin. **Crop Protection**, v. 29, n. 1, p. 913-920, 2010.

RAUT, J. S.; KARUPPAYIL, S. M. A status review on the medicinal properties of essential oils. **Industrial Crops and Products**, v. 62. p. 250-264, 2014.

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

SAITO, M. L.; LUCCHINI, F. **Substâncias obtidas de plantas e a procura por praguicidas eficientes e seguros ao meio ambiente**. Jaguariúna, Embrapa – CNPMA, 46p. (Embrapa CNPMA. Série Documentos, 12), 1998.

SALOMÉ-ABARCA, L. F. et al. Chemical composition of scented extracts obtained from *Calendula officinalis* by three extraction methods. **Botanical Sciences**, v. 93 (3), p. 633–638, 2015.

SANGWAN, N. S. et al. Regulation of essential oil production in plants. **Plant Growth Regulation**, v. 34, p. 3-21, 2001.

SANTOS, G. K. N. et al. Effects of *Croton rhamnifolioides* Essential Oil on *Aedes aegypti* Oviposition, Larval Toxicity and Trypsin Activity. **Molecules**, v.19, n.10, p.16573-16587, 2014.

SAVARIS, M. et al. Evaluation of extracts and essential oils from *Cunila angustifolia* (Lamiales: Lamiaceae) leaves to control adults of maize weevil, *Sitophilus zeamais* (Coleoptera: Curculionidae). **International Journal of Entomological Research**, v. 2, n. 1, p. 23-28, 2014.

SERAFINI, L. A. et al. **Extrações e aplicações de óleos essenciais de plantas aromáticas e medicinais**. Caxias do Sul: EDUCS, 2002.

SHALMASHI, A. Ultrasound-assisted extraction of oil from tea seeds. **Journal of Food Lipids**, v. 16 (4), p. 465-474, 2009.

SILVA, C. V. et al. Composition and Insecticidal Activity of the Essential Oil of *Croton grewoides* Baill. Against Mexican Bean Weevil (*Zabrotes subfasciatus* Boheman). **Journal of Essential Oil Research**, v. 20, p. 179-182, 2008.

SILVA, J. S. et al. Sinopse das espécies de *Croton* L. (Euphorbiaceae) no estado de Pernambuco, Brasil. **Acta Bot. Bras**, v. 24, n. 2, p. 441-453, 2010.

SILVA, J. S.; SALES, F.; CARNEIRO-TORRES, D. S. O gênero *Croton* (Euphorbiaceae) na Microrregião do Vale do Ipanema, Pernambuco, Brasil. **Rodriguésia**, v. 4, p. 879-901, 2009.

SILVA, M. G. F. **Atividade antioxidante e antimicrobiana in vitro de óleos essenciais e extratos hidroalcóolicos de manjerona (*Origanum majorana* L.) e manjeriço (*Ocimum basilicum* L.)**. 70 f. Trabalho de Conclusão de Curso (Bacharelado em Química Industrial/Licenciatura em Química), Universidade Tecnológica Federal do Paraná. Pato Branco, 2011.

SILVA, S. L. C. E. et al. Avaliação da atividade larvicida de extratos obtidos do caule de *Croton linearifolius* Mull. Arg. (Euphorbiaceae) sobre larvas de *Aedes aegypti* (Linnaeus, 1762) (Diptera: Culicidae). **Revista Biotemas**, Florianópolis, v. 27, n. 2, p. 79-85, 2014.

SILVEIRA, R. D. et al. Influência da temperatura do grão de milho, no momento da pulverização e do período de armazenamento, na mortalidade de *Sitophilus zeamais* e *Tribolium castaneum*, pela mistura bifenthrin e pirimifós-metil. **Revista Brasileira de Armazenamento**, v. 31, n. 2, p. 120-124, 2006.

SIMÕES, C. M. O. et al. **Farmacognosia: da planta ao medicamento**. Porto Alegre: UFRGS, 821p, 2007.

SIMÕES, C. M. O. et al. **Farmacognosia: da planta ao medicamento**. 5ª edição. Porto Alegre/Florianópolis: Editora UFRGS/Editora UFSC, 2003. p. 43-74.

SIMÕES, C. M. O. et al. **Farmacognosia: da planta ao medicamento**. 6. ed. Porto Alegre: Universidade Federal do Rio Grande do Sul, 2010. 1104 p.

SMANIOTTO, L. et al. Bioatividade da *Cabralea canjerana* (Vell.) Mart. (Meliaceae) no controle de adultos de *Acanthoscelides obtectus* (Coleoptera: Bruchidae) em laboratório. **Biotemas**, v. 23, n. 2, p. 31-35, 2010.

SOARES, C. S. A. et al. Ação inseticida de óleos essenciais sobre a lagarta desfolhadora *Thyrintina arnobia* (Stoll) (Lepidoptera: Geometridae). **Revista Verde** (Mossoró-RN), v. 6, n. 2, p. 154-157, 2011.

SOUZA, V. N. D. et al. Fumigation Toxicity Of Essential Oils Against *Rhyzopertha dominica* (F.) In Stored Maize Grain. **Revista Caatinga**, Mossoró, v. 29, n. 2, p. 435-440, 2016.

STEFFANI, E. **Modelagem matemática do processo de extração supercrítica de óleo essencial de Ho-Sho (*Cinnamomum camphora* Nees & Eberm var. *linaloolífera* Fujita) Utilizando CO₂**. 106 p. Tese (Doutorado em Engenharia Química) – Universidade Federal de Santa Catarina, 2003.

TANDON, S.; MITTAL, A. K.; PANT, A. K. Insect growth regulatory activity of *Vitex trifolia* and *Vitex agnus-castus* essential oils against *Spilosoma obliqua*. **Fitoterapia**, Amsterdam, v. 79, n. 4, p. 283-286, 2008.

TEIXEIRA, B. et al. Chemical composition and antibacterial and antioxidant properties of commercial essential oils. **Industrial Crops and Products**, v. 43. pp. 587-595, 2013.

TORRES, C. et al. Insecticidal activity of *Laurelia sempervirens* (Ruiz & Pav.) Tul. Essential oil against *Sitophilus zeamais* Motschulsky. **Chilean Journal of Agricultural Research**, v. 74, n. 4, p. 421-426, 2014.

TUREK, C.; STINTZING, F. C. Stability of Essential Oils: A Review. **Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety**, v. 12, n. 1, p. 40-53, 2013.

VALGIMIGLI, L. Essential oils as natural food additives: composition, applications, antioxidant and antimicrobial properties 1. ed. New York: **Nova Science Publishers**, 2012, 466 p.

VENDRAMIM, J. D.; THOMAZINI, A. P. B W. Traça *Tuta absoluta* (Meyrick) em cultivares de tomateiro tratadas com extratos aquosos de *Trichilia pallida* Swartz. **Scientia Agrícola**, v. 58, n. 3, p. 607-611, 2001.

VINHA, M. B. et al. Impactos do uso indiscriminado de agrotóxicos em frutas e hortaliças. **Revista Brasileira de Agropecuária Sustentável**, v. 3, n. 1, p. 1-5, 2011.

VOLPATO, A. et al. Avaliação in vitro dos efeitos inseticida e larvicida de oito óleos essenciais sobre o cascudinho aviário (*Alphitobius diaperinus*), **Archives of Veterinary Science**, v. 23, n. 2, p. 84-90, 2018.

WENQIANG, G. et al. Comparison of essential oils of clove buds extracted with supercritical carbon dioxide and other three traditional extraction methods. **Food Chemistry**, v. 101, p. 1558–1564, 2007.

XAVIER, M. V. A. et al. Toxicidade e repelência de extratos de plantas da caatinga sobre *Tetranychus bastosi* Tutler, Baker & Sales (Acari: Tetranychidae) em pinhão-mansão. **Revista Brasileira de Plantas Medicinais**, v. 18, p. 14-063, 2015.

XIMENES, R. M. et al. Antinociceptive and wound healing activities of *Croton adamantinus* Müll. Arg. essential oil. **Journal of Natural Medicines**, v. 67, n. 4, p. 758-764, 2013.

YORK, T.; VANVUUREN, S. F.; DEWET, H. An antimicrobial evaluation of plants used for the treatment of respiratory infections in rural Maputaland, KwaZulu-Natal, South Africa. **Journal of Ethnopharmacol**, [S.l.], v. 144, p. 118–127, 2012.

ZOUBIRI, S.; BAALIOUAMER, A. Chemical composition and insecticidal properties of some aromatic herbs essential oils from Algeria. **Food Chemistry**, Amsterdam, v. 129, n. 1, p. 179-182, 2011.