



UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO
CENTRO DE BIOCÊNCIAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS BIOLÓGICAS



PATRYCK ÉRMERSON MONTEIRO DOS SANTOS

**CARACTERIZAÇÃO QUÍMICA, AVALIAÇÃO DA TOXICIDADE *in vivo* E
DESENVOLVIMENTO DE FORMULAÇÃO INSETICIDA DO ÓLEO ESSENCIAL DE
Croton pulegioidorus BAILL.**

Recife-PE
2025

PATRYCK ÉRMERSON MONTEIRO DOS SANTOS

**CARACTERIZAÇÃO QUÍMICA, AVALIAÇÃO DA TOXICIDADE *in vivo* E
DESENVOLVIMENTO DE FORMULAÇÃO INSETICIDA DO ÓLEO ESSENCIAL DE
Croton pulegioidorus BAILL.**

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Biológicas da Universidade Federal de Pernambuco, como requisito parcial para obtenção do título de doutor em Ciências Biológicas

Área de concentração: Meio Ambiente

Orientador (a): Patrícia Maria Guedes Paiva

Coorientador (a): Ana Patrícia da Silva Oliveira

Recife - PE

2025

.Catalogação de Publicação na Fonte. UFPE - Biblioteca Central

Santos, Patryck Ermerson Monteiro Dos.

CaracterizaçãO química, avaliaçãO da toxicidade in vivo e desenvolvimento de formulaçãO inseticida do óleo essencial de Croton pulegioidorus Baill / Patryck Ermerson Monteiro Dos Santos. - Recife, 2025.

91f.: il.

Tese (Doutorado)- Universidade Federal de Pernambuco, Centro de BiociênciAs, Programa de Pós-GraduaçãO em CiênciAs BiológiAs, 2025.

OrientaçãO: Patricia Maria Guedes Paiva.

CoorientaçãO: Ana Patrícia da Silva Oliveira.

PATRYCK ÉRMERSON MONTEIRO DOS SANTOS

**CARACTERIZAÇÃO QUÍMICA, AVALIAÇÃO DA TOXICIDADE *in vivo* E
DESENVOLVIMENTO DE FORMULAÇÃO INSETICIDA DO ÓLEO ESSENCIAL DE
Croton pulegioidorus BAILL.**

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Biológicas da Universidade Federal de Pernambuco, como requisito parcial para obtenção do título de doutor em Ciências Biológicas.

Aprovada em: 13/02/2025

BANCA EXAMINADORA

Prof^a. Dr^a. Patrícia Maria Guedes Paiva (Orientador)
Universidade Federal de Pernambuco

Prof^o. Dr. Thiago Henrique Napoleão (Examinador Interno)
Universidade Federal de Pernambuco

Prof. Dr. Emmanuel Viana Pontual (Examinadora Interna)
Universidade Federal de Pernambuco

Prof^a. Dr^a. Leydianne Leite de Siqueira Patriota (Examinador Externo)
Universidade Federal de Pernambuco

Prof^o. Dr. Robson Raion de Vasconcelos Alves (Examinador Externo)
Universidade Federal de Pernambuco

A Deus, por me guiar em cada passo dessa longa caminhada. Aos meus queridos pais, Gilcélia Monteiro da Silva Santos e Edvaldo José dos Santos, pela base sólida de amor e valores que me ofereceram. À minha companheira, Amanda Vieira de Barros, pelo apoio constante e inspiração diária. À minha irmã, Patrícia Evelyn Monteiro dos Santos, e à minha sobrinha, Lysa Caroline dos Santos Souza, por compartilharem comigo momentos de alegria e aprendizado. E a toda minha família, pela contribuição inestimável à minha formação pessoal e acadêmica.

Dedico!

AGRADECIMENTOS

A Deus, por guiar cada uma de minhas escolhas, me dado força e coragem para seguir em frente, superando os obstáculos ao longo dessa caminhada.

Aos meus pais, Gilcélia Monteiro da Silva Santos e Edvaldo José dos Santos, por todo amor, carinho, dedicação, pelos conselhos, incentivos e ajuda que sempre me sustentaram durante toda a minha caminhada. Amo Vocês!

À minha companheira e melhor amiga Amanda Vieira de Barros, por estar sempre ao meu lado com todo amor, carinho, conselhos e apoio inabalável. Obrigado por tudo! Te amo!

À minha irmã, Patrícia Évelyn Monteiro dos Santos, e à minha sobrinha Lysa Caroline dos Santos Souza, pelo amor e carinho incondicional. Ao meu cunhado Marcos Souza pela amizade e ajuda constantes.

Aos meus sogros, Liduina Vieira e Fábio Barros, e à minha cunhada, Aline Vieira, pelo carinho, atenção e suporte.

À professora Patrícia Paiva, minha orientadora, por toda amizade, confiança e apoio, pelos ensinamentos e orientações, por todo o profissionalismo e competência, pelos conselhos e por toda atenção e ajuda, que foram fundamentais para meu crescimento profissional e pessoal. A Ana Patrícia Oliveira, minha coorientadora, por toda amizade, ensinamentos, conselhos e orientações. Meu profundo agradecimento a ambas!

Aos professores e amigos Thiago Napoleão, Leydianne Patriota, Thâmarah Lima e Emmanuel Pontual por compartilharem seus ensinamentos, colaborações e amizade.

Ao professor Carlos Romero de Oliveira (UFRPE/UAST), pela colaboração desde a graduação. À professora Renata Mendonça (UFRN) e à professora Betânia Melo (UFPE), por suas importantes contribuições.

Aos colegas e amigos do doutorado e companheiros de laboratório, especialmente Luis Afonso, Amanda Marinho, Claudia Lira, Thiago Lira, Jefferson Silva, Nataly Santos, Matheus Cavalcanti, Juliane Nancy, Emanoelli Vitória, Alicia Natalie, Samariana Fernandes, Mirella Ribeiro, Luis Romário, Barbara Ferreira, Gabriel Fontes, Ângela Bezerra e Quéren Vilarim, pela amizade, apoio e companheirismo ao longo de nossas pesquisas.

Ao Laboratório de Bioquímica de Proteínas (BIOPROT) e ao Laboratório de Investigação Estrutural e Farmacológica de Biomoléculas (LIEF) pelo espaço físico e infraestrutura necessários para o desenvolvimento de projetos e pesquisas, contribuindo para o desenvolvimento da ciência.

A todos os funcionários da UFPE, por toda a contribuição direta ou indireta para o desenvolvimento dos projetos e pesquisas.

A Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), pelo suporte financeiro com a concessão da bolsa.

Obrigado a todas e todos!!!

"Minhas irmãs, meus irmãos, oxe! se assumam como realmente são Não deixem que suas matrizes, que suas raízes morram por falta de irrigação Ser nortista e nordestino meus conterrâneos num é ser seco nem litorâneo É ter em nossas mãos um destino nunca clandestino para os desfechos metropolitanos". (Nordeste me Veste, O Rappa & Rapadura, 2016)

RESUMO

Devido ao aumento na resistência de insetos-praga aos inseticidas sintéticos, os óleos essenciais vêm sendo estudados para o desenvolvimento de alternativas eficientes e menos prejudiciais ao meio ambiente. O óleo essencial obtido das folhas de *Croton pulegiodorus* (OEFCP) apresenta diversas atividades biológicas entre elas atividade inseticida; contudo, dados sobre a sua toxicidade *in vivo* são limitados. Desse modo, o presente estudo teve como objetivo, investigar o OEFCP quanto a composição química, atividade inseticida contra *Sitophilus zeamais* e *Nasutitermes corniger*, a atividade hemolítica e a toxicidade *in vivo* e desenvolver formulação inseticida para o controle de insetos-praga. A análise química revelou que os principais compostos presentes no OEFCP são ascaridol, cânfora, eucaliptol e α -terpineol. No ensaio de toxicidade após ingestão em *S. zeamais*, observou-se uma CL_{50} e CL_{90} de 24,24 e 46,76 $\mu\text{L/g}$ por 15 dias, respectivamente. Além disso, o OEFCP apresentou efeito dissuasor de moderado (10,0 e 12,5 $\mu\text{L/g}$) a forte (15 $\mu\text{L/g}$), causando redução na taxa de consumo relativo, taxa de ganho relativo de biomassa e eficiência na conversão do alimento ingerido. O OEFCP estimulou *in vitro* as atividades de β -D-xilanase (+33,39%), endoglucanase (+8,28%), exoglucanase (+84,77%) e α -amilase (+359,18%) e reduziu a atividade da tripsina (79,67%). Contra os cupins *N. corniger*, o OEFCP demonstrou forte efeito fumigante, com CL_{50} de 0,57 $\mu\text{L/mL}$ para operários e 1,63 $\mu\text{L/mL}$ para soldados, em 24 horas. O óleo puro causou mortalidade de 100% por contato, após 0,49 min enquanto que o tempo na concentração a 0,4 $\mu\text{L}/\mu\text{L}$ foi 2,08 min. O ensaio *in vivo* mostrou que mudanças comportamentais, como aumento da autolimpeza e quedas, foram observadas. A atividade hemolítica sobre eritrócitos de camundongos só foi detectada nas concentrações de 187,5 a 1000 mg/mL. O ensaio de toxicidade oral aguda mostrou que OEFCP reduziu o ganho de peso e o consumo de água e alimentos, alterou os parâmetros hematológicos e bioquímicos em concentrações que variaram de 50 a 250 mg/kg e promoveu alterações histológicas no fígado e nos rins sem alterar os níveis de transaminases, ureia e creatinina. A DL_{50} determinada foi de 460,42 mg/kg e nos testes cometa e micronúcleo, não foram observados efeitos genotóxicos. Uma formulação à base do óleo essencial de *C. pulegiodorus* para o controle dos insetos-praga: *Aedes aegypti* (L., 1762), *Nasutitermes corniger* (Mots., 1855) e *Sitophilus zeamais* (Mots., 1855) foi desenvolvida, e o processo está registrado sob o número BR1020240168704. O estudo demonstrou o potencial do OEFCP como um método alternativo no manejo do *S. zeamais* e *N. corniger*, já que o mesmo apresenta rápida ação inseticida em concentrações não tóxicas.

Palavras-chave: Insetos-praga. Metabólitos secundários. Cupim. Gorgulho-do-milho. planta.

ABSTRACT

Due to the increasing resistance of insect pests to synthetic insecticides, essential oils have been explored as efficient and environmentally friendly alternatives. The essential oil extracted from the leaves of *Croton pulegioidorus* (OEFCP) exhibits several biological activities, including insecticidal properties; however, data on its in vivo toxicity remain limited. This study aimed to investigate the chemical composition of OEFCP, its insecticidal activity against *Sitophilus zeamais* and *Nasutitermes corniger*, hemolytic activity, in vivo toxicity, and to develop an insecticidal formulation for pest control. Chemical analysis identified ascaridol, camphor, eucalyptol, and α -terpineol as the major compounds in OEFCP. Toxicity tests after ingestion by *S. zeamais* revealed LC₅₀ and LC₉₀ values of 24.24 and 46.76 $\mu\text{L/g}$ over 15 days, respectively. Additionally, OEFCP exhibited a moderate (10.0 and 12.5 $\mu\text{L/g}$) to strong (15 $\mu\text{L/g}$) deterrent effect, reducing the relative consumption rate, relative biomass gain rate, and conversion efficiency of ingested food. In vitro, OEFCP stimulated the activity of β -D-xylanase (+33.39%), endoglucanase (+8.28%), exoglucanase (+84.77%), and α -amylase (+359.18%), while reducing trypsin activity by 79.67%. Against *N. corniger* termites, OEFCP demonstrated a strong fumigant effect, with LC₅₀ values of 0.57 $\mu\text{L/mL}$ for workers and 1.63 $\mu\text{L/mL}$ for soldiers within 24 hours. The pure oil caused 100% mortality upon contact after just 0.49 minutes, while a concentration of 0.4 $\mu\text{L}/\mu\text{L}$ required 2.08 minutes. Behavioral changes, including increased self-cleaning and falls, were observed during in vivo assays. Hemolytic activity in mouse erythrocytes was detected only at concentrations between 187.5 and 1000 mg/mL. Acute oral toxicity tests showed that OEFCP reduced weight gain and food and water consumption, altered hematological and biochemical parameters at doses between 50 and 250 mg/kg, and induced histological changes in the liver and kidneys without affecting transaminase, urea, or creatinine levels. The LD₅₀ was determined to be 460.42 mg/kg, and no genotoxic effects were observed in comet and micronucleus tests. A formulation based on the essential oil of *C. pulegioidorus* for the control of insect pests, including *Aedes aegypti* (L., 1762), *N. corniger* (Mots., 1855), and *S. zeamais* (Mots., 1855), was developed and registered under process number BR1020240168704. This study highlights the potential of OEFCP as a rapid and effective insecticidal agent at non-toxic concentrations for managing *S. zeamais* and *N. corniger*.

Keywords: Insect pests. Secondary metabolites. Termite. Corn weevil. plant.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Fundamentação Teórica

Figura 1 - <i>Nasutitermes corniger</i> . Cupinzeiro (A); operários e soldados (B). Operários (O); soldados(S)	24
Figura 2 - <i>Sitophilus zeamais</i> . Larva (A); adulto vista lateral (B) e adulto vista dorsal (C)	25
Figura 3 - <i>Aedes (Stegomyia) aegypti</i> . Ovos (A); Larvas (B); Pupa (C) e Adultos (D)	27
Figura 4 - Vias de ação dos inseticidas.....	29
Figura 5 - Esquema ilustrativo da biossíntese dos metabólitos secundários	34
Figura 6 - <i>Croton pulegiodorus</i> Baill (A); óleo essencial de <i>C. pulegiodorus</i> (B)	38
Figura 7 - Distribuição Geográfica do <i>Croton pulegiodorus</i> no Brasil	38

Artigo I

Figura 1. Specimens of <i>C. pulegiodorus</i> collected for extraction of the essential oil evaluated in the present work	43
Figura 2. Nutritional parameters of <i>S. zeamais</i> adults reared on artificial diet containing <i>C. pulegiodorus</i> essential oil (5.0, 10.0, 12.5 and 15.0 $\mu\text{L/g}$) for 7 days. (A) Relative consumption rate (RCR) indicates the amount of food consumed in mg per mg of insect body weight per day. (B) Relative biomass gain rate (RBG) indicates the amount of biomass in mg gained every day per (mg of initial body weight. (C) Efficiency of conversion of ingested food (ECI) indicates the proportion of ingested food incorporated by insects as biomass. (D) Feeding deterrence index (FDI). Each bar corresponds to the average \pm standard error of mean (SEM) of two independent experiments performed with five replicates. Different letters indicate significant differences ($p < 0.05$) among treatments	45
Figura 3. Fumigant effect of <i>C. pulegiodorus</i> essential oil (0.2, 1.0, 2.0, 3.0, 4.0, and 5.0 $\mu\text{L/mL}$ air) on the survival of <i>N. corniger</i> workers (a) and soldiers (b) when exposed for a time interval from 1 h to 24 h. Different letters indicate significant differences ($p < 0.05$) between treatments regarding the survival rate at 24th day	46

Artigo II

Figura 1 - Photomicrographs of histological sections of the liver, kidneys, spleen, lungs, and brain of female mice in the negative control (NC) group and groups treated	
--	--

with the essential oil from *C. pulegioidorus* leaves at doses of 50, 100 and 250 mg/kg. Ballooned hepatocytes (BH) and subcapsular space (SS). Magnification: 200x54

Figura 2 - Number of micronucleated polychromatic erythrocytes in mice treated orally with the essential oil of *C. pulegioidorus* leaves (250, 100 and 50 mg/kg). NC: Negative control. PC: Positive control. Results represented by mean \pm SEM. (*) $p < 0.05$ in relation to the negative control.....55

LISTA DE TABELAS

Artigo I

Tabela 1 - Chemical composition of the essential oil from <i>Croton pulegioidorus</i> leaves	44
---	----

Tabela 2 - <i>In vitro</i> effect of <i>C. pulegioidorus</i> essential oil on the activity of some digestive enzymes of <i>S. zeamais</i>	45
--	----

Artigo II

Tabela 1 - Composição química do óleo essencial de <i>Croton pulegioidorus</i> Baill	52
---	----

Tabela 2. Hemolytic activity of the essential oil from <i>C. pulegioidorus</i> leaves on mice erythrocytes.....	52
--	----

Tabela 3 - Body weight (g) and consumption of water (mL/animal/day) and food (g/animal/day) of mice treated orally with a single dose (250, 100 or 50 mg/kg) of the essential oil from <i>C. pulegioidorus</i> Baill leaves	53
--	----

Tabela 4 - Evaluation of the relative weight (mg/g animal body weight) of organs from mice treated orally with a single dose (250, 100 or 50 mg/kg) of the essential oil from <i>C. pulegioidorus</i> Baill leaves	53
---	----

Tabela 5 - Biochemical parameters of the serum from mice treated orally with a single dose (250, 100 or 50 mg/kg) of the essential oil from <i>C. pulegioidorus</i> Baill leaves	53
---	----

Tabela 6 - Hematological parameters of mice treated orally with a single dose (250, 100 or 50 mg/kg) of the essential oil from <i>C. pulegioidorus</i> leaves	54
--	----

Tabela 7 - Index of damage to each class and damage frequency in the comet assay of animals in the control groups or treated with the essential oil of <i>C. pulegioidorus</i> leaves (250, 100 and 50 mg/kg) administered orally to mice	55
--	----

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

AChE - Acetilcolinesterase
AL - Autolimpeza
ALT - Alanina aminotransferase
AST - Aspartato aminotransferase
ATP - Trifosfato de adenosina
Avicel - Celulose microcristalina
BapNA - N-benzoil-DL-arginil-p-nitroanilida
BOD - Biochemical oxygen demand
CHCM - Concentração de hemoglobina corpuscular média.
CHIKV - Febre chikungunya
CL - Concentração letal
CL₅₀ - Concentração letal necessária para matar 50% dos insetos
CL₉₀ - Concentração letal necessária para matar 90% dos insetos
CMC - Carboximetilcelulose
CT- Colesterol total
DIC - Delineamento inteiramente casualizado
DNS - Ácido 3,5-dinitrosalicílico
DEN - Dengue
DL₅₀ - Dose Letal necessária para matar 50% dos insetos
eV - Elétron-volt
ECAI - Eficiência de conversão do alimento ingerido
g - Grama
g/L – Grama por Litro
GC-MS - Cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massas
GGT - Gama-glutamil transferase
HCM - hemoglobina corpuscular média
HC₅₀ - concentração necessária para provocar 50% de hemólise
h - Hora
ICMBio - Instituto Chico Mendes de Conservação da Biodiversidade
IDA - índice de deterrência alimentar
IK-L - índice de Kovats da literatura
IK-S - índice de Kovats calculado
L - Litros

Kg - Quilograma

M - Molar

mM - Milimolar

m/z - massa e a carga

NADH - nicotinamida adenina dinucleotídeo

n - Número

NC - Controle Negativo

nm - Nanômetro

m - Metros

min - Minutos

mm - Milímetro

OE - Óleos essenciais

CPLEO - Óleo essencial de folhas de *Croton pulegioidorus*

p/v - Peso por volume

ppm - Partes por Milhão

rpm - Rotações por minuto

RT - Tempo de retenção

T - Tombamentos

TC - Total colesterol

TCR - Taxa de consumo relativo

TGB - Taxa de ganho relativo de biomassa

UR - Umidade Relativa

v/v - volume por volume

VCM - Volume corpuscular médio

YFV – “*Yellow fever vírus*”

ZIKV – Zika vírus

μL - Microlitro

μmol – Micromol

LISTA DE SÍMBOLOS

°C - Graus celsius

° - Graus

% - Porcentagem

μ - Micro

± - Mais ou menos

' - Minutos

" - Segundos

α - alfa

β - beta

γ - Gama

SUMÁRIO

1	Introdução	18
2	Objetivos	21
2.1	Geral	21
2.2	Específicos	21
3	Fundamentação Teórica	22
3.1	Insetos-Praga	22
3.1.1	<i>Nasutitermes corniger</i> Motschulsky, 1855	22
3.1.2	<i>Sitophilus zeamais</i> Motschulsky, 1855	24
3.1.3	<i>Aedes (Stegomyia) aegypti</i> Linnaeus, 1762	26
3.2	Inseticidas	29
3.2.1	Modo de ação dos inseticidas	30
3.2.2	Inseticidas Sintéticos	31
3.2.3	Inseticidas Naturais	32
3.2.3.1	Óleos essenciais	33
3.3	Euphorbiaceae	36
3.3.1	<i>Croton</i>	37
3.3.2	<i>Croton pulegioidorus</i>	37
3.4	Formulação	39
3.5	Ensaio de Toxicidade	39
4	Resultados e Discussão	41
4.1	Artigo I	41
4.2	Artigo II	50
4.3	Patente	58
5	Conclusão	63
6	Súmula Curricular	65
7	Referência Bibliográfica	74

1 INTRODUÇÃO

Os insetos, pertencentes ao filo Arthropoda, subfilo Hexapoda e classe Insecta, é o grupo mais abundante e diverso de todos organismos vivos, correspondendo a cerca de 70% das espécies existentes no planeta (Lima; Cajaiba; Sousa, 2020; Graffunder et al., 2021). Devido ao sucesso adaptativo dos representantes desse grupo, podem ser encontrados em praticamente todos os ecossistemas, sejam terrestres ou aquáticos, habitando ambientes naturais ou modificados (Ruppert; Fox; Barnes, 2005; Gullan; Cranston, 2017; Koop; Volpi, 2021).

Os insetos estão envolvidos na polinização das plantas, dispersão de sementes e decomposição de matéria orgânica. Além disso, algumas espécies se destacam por serem excelentes predadores e/ou parasitoides, sendo utilizadas no controle biológicos de pragas. Do ponto de vista socioeconômico, os insetos também têm grande importância, pois produzem mel, ceras, seda, corantes e podem ser utilizados para a alimentação humana e animal (Leite, 2011; Sousa, 2019; Sverdrup-Thygeson, 2019; Santos, 2021).

No entanto, um pequeno número de representantes é classificado como pragas urbanas, agrícolas e/ou vetores de doenças para humanos e animais, como por exemplo, o *Sitophilus zeamais* Motschulsky 1855 (Coleoptera: Dryophthoridae), *Nasutitermes corniger* Motschulsky 1855 (Blattodea: Termitidae) e o *Aedes aegypti* Linnaeus, 1762 (Diptera: Culicidae) (Rafael; Melo; Carvalho, 2012; Gullan; Cranston, 2017). *S. zeamais*, conhecido popularmente como gorgulho-do-milho ou caruncho-do-milho (Gallo et al., 2002; Lorini et al., 2015), é uma praga agrícola primária que ataca e infesta diversos grãos, apresenta infestação cruzada, causando grande impacto econômico em regiões tropicais e subtropicais do planeta (Suleiman; Rosentrater; Bern, 2015; Yang; Isman; Tak, 2020; Patinõ-Bayona et al., 2021). O cupim arborícola *N. corniger*, que ataca e infesta áreas urbanas e agrícolas, causa prejuízos na produção de madeira e danos irreparáveis em objetos e construções (Boulegne et al., 2017; Soares et al., 2017; Lima et al., 2021). O *Ae. aegypti*, popularmente conhecido como mosquito da dengue, é vetor de diversos vírus, como os causadores da febre amarela, zika, febre chikungunya e dengue, doenças que apresentam um elevado

índice de morbidade e mortalidade (Piovezan et al., 2022; Zulfa et al., 2022; Machado et al., 2023).

O controle desses insetos-praga ocorre tradicionalmente através da aplicação de inseticidas químicos sintéticos. No entanto, o seu uso pode causar a eliminação de inimigos naturais das pragas e animais não-alvos, além de favorecer o surgimento de populações resistentes e causar danos ao meio ambiente e à saúde humana (Miller; Tindall; Leonard, 2010; Pauliquevis; Conte; Favero, 2013; Dias et al., 2018). Com o objetivo de desenvolver métodos de controle alternativos para esses insetos, pesquisas com compostos vegetais têm ganhado destaque. Em geral, os compostos naturais são biodegradáveis e apresentam baixa ou nenhuma toxicidade para o meio ambiente (Campos et al., 2014; Lozowicka et al., 2016; Sousa et al., 2022).

Os óleos essenciais destacam-se entre os bioinseticidas por serem compostos complexos, líquidos e que se degradam com facilidade no meio ambiente (Estrela et al., 2006; Paumgartten; Delgado, 2016; Rai et al., 2017). Podem ser extraídos de diversas partes das plantas, como flores, folhas, frutos, sementes, raízes e cascas (Trancoso, 2013; Silva et al., 2019; Santos; Nogueira; Chapla, 2022). Entre os seus principais componentes com atividade inseticida, destacam-se os terpenos (mono e sesquiterpenos), fenilpropanoides e alcalóides (Ribeiro; Bonilla; Lucena, 2018).

Croton pulegioidorus Baill., popularmente conhecido como velaminho, é um arbusto que pode atingir até 1 metro de comprimento e apresenta odor característico (Silva, 2006; Flora do Brasil, 2020). No Brasil, a espécie pode ser encontrada nos estados da Bahia, Ceará, Goiás, Minas Gerais, Paraíba, Pernambuco e Piauí. A espécie possui diversos compostos ativos, em especial monoterpenos e sesquiterpenos, com diferentes atividades biológicas (Silva, 2006; Rocha, et al., 2021). A ação inseticida (efeito fumigante, contato e repelência) do óleo essencial de *C. pulegioidorus* já foi avaliada em alguns estudos contra *S. zeamais*, *Tribolium castaneum* e *Rhyzopertha dominica* (Magalhães et al., 2015; Souza et al., 2016; Silva et al., 2019; Santos et al., 2019).

Considerando a crescente demanda por alternativas sustentáveis ao uso de inseticidas sintéticos no manejo de pragas agrícolas e urbanas, o presente estudo

teve como objetivo investigar o potencial inseticida e a composição química do óleo essencial extraído das folhas de *C. pulegioidorus*, sua toxicidade *in vivo*, bem como desenvolver formulação inseticida eficiente para o controle do *S. zeamais* e *N. corniger*.

2 OBJETIVOS

2.1 GERAL

- Determinar a composição química e a atividade inseticida do óleo essencial de folhas de *Croton pulegiodorus* contra *Sitophilus zeamais* e *Nasutitermes corniger*, além de avaliar atividade hemolítica, toxicidade oral aguda, genotoxicidade e desenvolver formulação inseticida para o controle de insetos-praga.

2.2 ESPECÍFICOS

- Analisar a composição química e calcular o rendimento do óleo essencial obtido de folhas de *C. pulegiodorus*;
- Investigar a toxicidade por ingestão e analisar o efeito do óleo essencial de *C. pulegiodorus* sobre as enzimas digestivas (exoglucanase, endoglucanase, α -amilase, β -D-xilanase e tripsina) de *S. zeamais*;
- Avaliar a toxicidade por fumigação do óleo essencial de *C. pulegiodorus* sobre soldados e operários de *N. corniger*;
- Analisar a toxicidade por contato e o efeito do óleo essencial de *C. pulegiodorus* no comportamento de operários de *N. corniger*;
- Avaliar o efeito hemolítico, toxicidade aguda e a genotoxicidade do óleo essencial de folhas de *C. pulegiodorus* em camundongos.
- Desenvolver formulação inseticida contendo óleo essencial de folhas de *C. pulegiodorus*.

3 FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

3.1 Insetos-Praga

Os insetos pertencem ao filo Arthropoda (do grego *arthro* = articulado + *podos* = pés), subfilo Hexapoda (*hexa* = seis + *poda* = pé) e classe Insecta (Santos; Silva; Antunes, 2018). Os representantes da classe possuem uma divisão do corpo, conhecida como tagmose, que se organiza em cabeça, tórax e abdômen. Embora essas estruturas sejam amplamente padronizadas, há uma enorme diversidade em morfologia, fisiologia, ecologia e comportamento (Rafael et al., 2024).

Os insetos são muito importantes do ponto de vista ecológico e socioeconômico e ocorrem com sua alta diversidade e abundância em ambientes naturais e antrópicos (Rafael; Melo; Carvalho, 2012). Dentro dessa grande abundância de espécies, uma pequena fração, inferior a 1%, é classificada como praga (Berti-Filho, 2010). Geralmente os insetos-praga, exibem uma elevada capacidade reprodutiva e podem transmitir doenças ou causar prejuízos econômicos (Medeiros et al., 2011).

A definição de inseto-praga não tem relação com a importância ecológica da espécie, mas pelos prejuízos que a espécie pode causar para os seres humanos, ou seja, recebem essa designação quando conflitam com o bem-estar, estética ou lucros dos seres humanos. Esses prejuízos podem ser diretos, como a transmissão de doenças, ou indiretos, transmitindo doenças para animais domésticos, de corte ou afetando a agricultura (Gullan; Cranston, 2017).

3.1.1 *Nasutitermes corniger* Motschulsky, 1855

Os cupins são insetos eusociais que estão agrupados na ordem Blattodea/Blattaria, subordem Isoptera e encontram-se divididos em nove famílias: Archotermopsidae, Hodotermitidae, Kalotermitidae, Mastotermitidae, Rhinotermitidae, Serritermitidae, Stolotermitidae, Styloptermitidae e Termitidae (Krishna et al., 2013a; Krishna et al., 2013b; Gullan; Cranston, 2017; Gazal et al., 2023).

Os cupins são pequenos, podendo variar entre 3 a 25 mm de comprimento (Rafael; Melo; Carvalho, 2012). São importantes para os ecossistemas, desempenhando um papel essencial na decomposição de matéria vegetal (Viana-Junior et al., 2021; Carambula et al., 2021). No entanto, quando presentes em áreas urbanas e agrícolas, podem ser considerados pragas e os seus danos geralmente são muito elevados, excedendo muitas vezes o valor para o seu controle (Santos; Godoy; Costa, 2022; Gazal et al., 2023).

O gênero *Nasutitermes* pertence à família Termitidae e possui aproximadamente 257 espécies descritas, sendo nove dessas espécies fossilizadas (Krishna et al., 2013b; Boulogne et al., 2017). Esse gênero recebeu esse nome devido aos seus soldados, que apresentam uma estrutura em formato de cone na região frontal da cabeça, conhecidos como ductos frontais ou nasais. Essa estrutura possui glândulas que secretam substâncias químicas utilizadas para a proteção dos cupinzeiros (Santos, 2016).

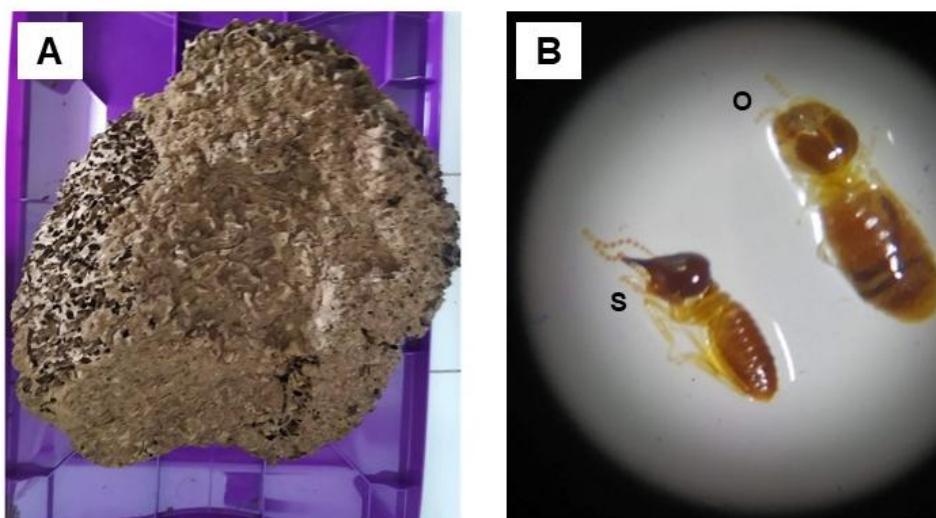
As espécies geralmente constroem os seus ninhos em árvores de parques, florestas, terras agrícolas e savanas (Santos, 2015). Alguns representantes do gênero *Nasutitermes* são classificados como pragas agrícolas relevantes, pois são responsáveis por causar danos a diversas culturas, como eucalipto, café, cana-de-açúcar e frutíferas. Em algumas cidades brasileiras, na qual sua expansão atingiu áreas silvestres, também são tidos como pragas urbanas, sendo responsáveis por danos a estruturas de madeira de edificações e às mobílias (Soares et al., 2017; Gazal et al., 2023).

A espécie *Nasutitermes corninger* Motschulsky, 1855 (Figura 3) é nativa da região neotropical e foi introduzida no sul da Flórida (Estados Unidos) (Constantino, 2018; Diniz et al., 2022). O inseto-praga é mais abundante em áreas florestais que apresentam certo grau de perturbação (Gazal et al., 2023). O *N. corninger* possui flexibilidade alimentar, podendo comer madeira dura ou macia, úmida ou seca de diversas espécies. Desse modo, a espécie é considerada uma praga importante de áreas urbanas e agrícolas (Boulegne et al., 2017; Lopes et al., 2017; Pozo-Santiago et al., 2020).

Os cupinzeiros do *N. corninger* podem possuir 90 mil indivíduos, sendo

constituídos por reprodutores (rei e rainha), soldados/nasutos (que garantem a proteção da colônia mediante métodos químicos e físicos, podendo representar até 20% de todos os indivíduos) e pelos operários (grandes e pequenos, são responsáveis por construção, alimentação e forrageamento) (Figura 1). Nos cupinzeiros, também podem ser encontrados ovos, ninfas, reprodutores de substituição e indivíduos imaturos, que não sofreram diferenciação (Rafael; Melo; Carvalho, 2012; Santos, 2015; Gullan; Cranston, 2017).

Figura 1 - *Nasutitermes corniger*. Cupinzeiro (A); operários e soldados (B). Operários (O); soldados (S)



Fonte: Autor (2023).

3.1.2 *Sitophilus zeamais* Motschulsky, 1855

Os besouros estão inseridos na ordem Coleoptera (do grego koleos = bainha/estojo e pteron = asa) e representam o grupo mais diverso do planeta com cerca de 350 mil espécies descritas (Rafael; Melo; Carvalho, 2012). Os representantes desse grupo possuem um papel essencial em interações ecológicas como a herbivoria e a predação e na reciclagem de nutrientes. Entretanto, algumas espécies são consideradas pragas, pois consomem ou danificam produtos alimentícios armazenados (Gullan; Cranston, 2017; Ghannem; Touaylia; Boumaiza, 2018; Lima, 2021).

O *Sitophilus zeamais* Motschulsky 1855 (Coleoptera: Dryophthoridae) (Figura 2),

é uma espécie cosmopolita, popularmente conhecida como gorgulho-do-milho (Athié, 2002; Lima et al., 2021; Altunç et al., 2023). É considerada a praga de grãos armazenados mais importante do mundo, pois apresenta infestação cruzada, podendo causar perdas econômicas aos produtores de grãos e sementes, no campo e no armazenamento (Lorini et al., 2015; Fouad & Camara, 2017; Araújo et al., 2019; Barros et al., 2022). Apesar do milho ser a principal fonte de alimento, a espécie também pode se alimentar e causar danos em uma grande variedade de grãos como arroz, trigo, cevada e aveia, além de produtos processados como macarrão e farinhas (Goñi et al., 2017; Devi et al., 2017; Lopes, 2020).

Figura 2 - *Sitophilus zeamais*. Larva (A); adulto vista lateral (B) e adulto vista dorsal (C).



Fonte: Autor (2023).

As fêmeas perfuram os grãos/sementes com a mandíbula, geralmente depositando apenas um ovo por grão/semente. Em seguida, elas secretam uma substância mucilaginosa para fechar o orifício. A substância mucilaginosa rapidamente endurece, deixando uma área elevada na superfície, indicando que os grãos estão possivelmente infestados (Devi et al., 2017; Hong et al., 2018).

Os ovos do *S. zeamais* medem aproximadamente 0,8 mm e inicialmente são translúcidos, tornando-se amarelos. Já as larvas possuem quatro instares de desenvolvimento, têm cerca de 3 mm de comprimento, corpo amarelo e a cabeça marrom (Lorini et al., 2015; Santos, 2021). A fase larval ocorre no interior do grão e durante seu desenvolvimento alimentam-se do endosperma do grão e geralmente os deixam ocos (Hong et al., 2018; Oliveira et al., 2018; Pangnakorn; Chuenchooklin, 2018).

A pupa inicialmente possui cor branca e ganha coloração castanho-escuro com o passar dos dias (Devi et al., 2017). Após a fase de pupa, os adultos emergidos perfuram o grão para a sua saída (Lorini et al., 2015; Santos, 2021). Os adultos da espécie, apresentam entre 2 e 3,5 mm de comprimento, possuem coloração castanho-escuro com manchas vermelhas nos élitros. A cabeça é projetada para frente, formando um rostro curvado. Nas fêmeas, esse é mais longo e afilado, já nos machos é mais curto e grosso (Fernandes, 2015; Hong et al., 2018; Negrão, 2019).

Em condições ideais de temperatura (28 ± 2 °C) e umidade ($60\% \pm 10$) o *S. zeamais* pode apresentar uma longevidade média de 140 dias para as fêmeas e 142 dias para os machos. As fêmeas da espécie apresentam um período médio de 6 dias de pré-oviposição e 104 dias de oviposição. Durante esse período, podem ovipositar até 250 ovos e o tempo médio de desenvolvimento do ovo para o adulto é de aproximadamente 34 dias (Lorini et al., 2015; Hernández-Cruz et al., 2019; Kumari et al., 2022).

Os danos causados pelas larvas e adultos do *S. zeamais* podem ser categorizados como danos qualitativos e quantitativos (Martins et al., 2022). Os danos qualitativos ocorrem devido à redução do valor nutricional de grãos e da taxa germinativa das sementes. Já os danos quantitativos ocorrem devido à redução da massa dos grãos e semente. Esses danos podem causar redução do valor de mercado dos grãos/sementes ou podem chegar a condenar lotes inteiros de grãos (Carneiro, 2017; Goñi et al., 2017; Silva; Vieira; Leonel, 2017).

O aumento da umidade dos grãos, ocasionado pelo ataque do *S. zeamais*, também favorece o crescimento e reprodução de fungos oportunistas (Liu et al., 2016; Santana et al., 2022). Como por exemplo, *Aspergillus flavus*, espécie que pode produzir centenas de micotoxinas que são altamente tóxicas para os seres humanos e animais (Hernández-Cruz et al., 2019; Yang; Isman; Tak, 2020).

3.1.3 *Aedes (Stegomyia) aegypti* Linnaeus, 1762

Os mosquitos são insetos pertencentes à ordem Diptera e estão inseridos na família Culicidae (Cosme et al., 2020; Mendes et al., 2023). Esses artrópodes

apresentam ampla distribuição, ocorrendo principalmente em regiões tropicais e subtropicais (Silvério et al., 2020; Zara et al., 2016). Nestas regiões, possuem grande importância epidemiológica, pois são vetores de muitas doenças que acometem os seres humanos (Subkrasae et al., 2022), principalmente as doenças infecciosas causadas por arbovírus (do inglês *arthropod borne virus*) (VORIS et al., 2017).

As principais arboviroses transmitidas pelo *Ae. aegypti* são a febre amarela (YFV), zika (ZIKV), febre chikungunya (CHIKV) e dengue (DEN-1, DEN-2, DEN-3 e DEN-4) (Machado et al., 2023; Barbosa et al., 2019). Essas doenças causam alta morbidade e mortalidade todos os anos (Garbui et al., 2022).

O *Aedes* (*Stegomyia*) *aegypti* Linnaeus, 1762 (Diptera: Culicidae) é uma espécie originária do Egito, no continente africano (Silva, 2022), e se disseminou pelo mundo em meados do século XVII (Garcez et al., 2013; Zara et al., 2016). Atualmente é a espécie de mosquito que apresenta maior dispersão em áreas urbanas, possuindo maior incidência nas regiões tropicais (loc/Fiocruz 2023). A espécie possui o desenvolvimento holometábolo, apresentando metamorfose completa, com quatro estágios de desenvolvimento diferentes, sendo esses: ovo, larva, pupa e adultos (Ruppert; Fox: Barnes, 2005; Santos & Rocha, 2018) (Figura 3).

Figura 3 - *Aedes* (*Stegomyia*) *aegypti*. Ovos (A); Larvas (B); Pupa (C) e Adultos (D).



Fonte: Autor (2023).

Os ovos inicialmente são brancos e adquirem uma coloração negra brilhante, medindo aproximadamente 0,4 mm (Machado-Filho et al., 2020) Podem resistir até 450 dias à dessecação, e em condições ótimas de temperatura e umidade, a eclosão dos ovos ocorre em até 48 horas (Bassani et al., 2019; Carvalho et al., 2019).

As larvas são aquáticas e passam por quatro instares de desenvolvimento (L1, L2, L3 e L4), que duram aproximadamente cinco dias em condições de temperatura e umidade ótimas. Durante esse período, alimentam-se por filtração de partículas orgânicas (Consoli; Oliveira, 1994; MACHADO-FILHO et al., 2020; Oliveira, 2018). As pupas, por sua vez, não se alimentam, sendo esse estágio de desenvolvimento corresponde à transição do indivíduo do ambiente aquático para o ambiente terrestre (Silva, 2012; Miranda, 2019).

Os adultos apresentam dimorfismo sexual, sendo a antena a principal características de diferenciação morfológica entre o macho e a fêmea. Os machos possuem antenas plumosas, já as fêmeas possuem antenas pilosas (Almeida et al., 2018). O corpo dos adultos apresenta coloração escura, com faixas brancas no corpo e nas pernas. Possuem aparelho bucal é do tipo picador sugador e podem medir até 6 mm de comprimento (Lima-Filho et al., 2022).

O macho e a fêmea alimentam-se de néctar e fluídos açucarados, no entanto, apenas as fêmeas realizam a hematofagia, hábito essencial para a maturação dos ovos. Após a emergência, ocorre o acasalam, sendo necessária apenas uma cópula para fecundar todos os ovos produzidos pela fêmea (Santos; Rocha, 2018; Peach; Gries, 2020; Ayub et al., 2023).

As fêmeas normalmente realizam mais de um repasto sanguíneo a cada duas sucessivas posturas, principalmente se forem perturbadas antes de estarem ingurgitadas. Esse hábito permite que os vírus sejam disseminados em vários hospedeiros diferentes (IOC, 2023). Em condições favoráveis, o intervalo entre o repasto e a postura é de aproximadamente três dias, sendo os ovos depositados em pequenos lotes distribuídos em diferentes recipientes, estratégia que favorece o sucesso reprodutivo (Santos; Rocha, 2018). Cada fêmea pode produzir entre 150 a 200 ovos (Takagi et al., 2020).

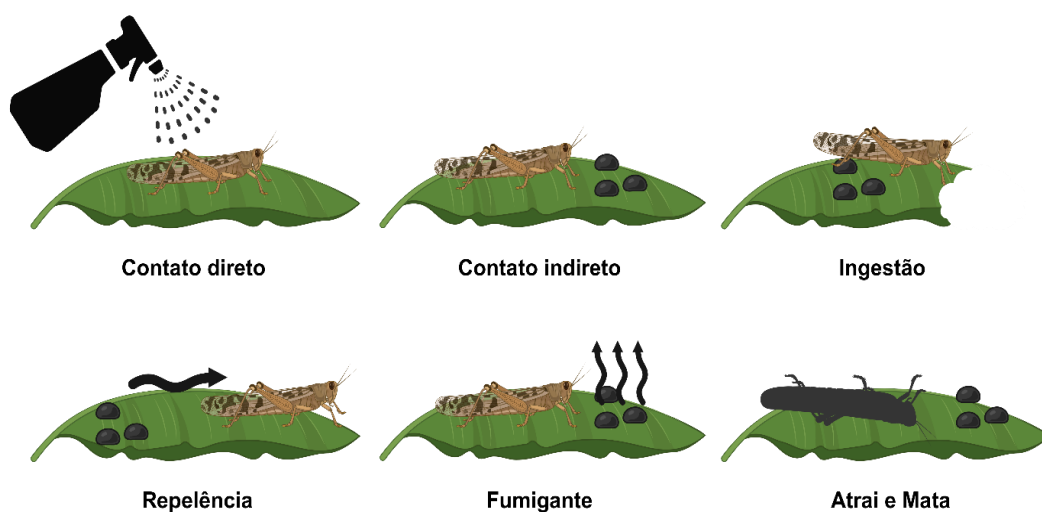
O *Ae. aegypti* prefere criadouros artificiais, como latas, embalagens plásticas, pratos de vasos de planta, caixa d'água, pneus, oco de árvores, bromélias e garrafas de vidro (Rosa et al., 2016; Ferreira; Matos-Rocha; Calheiros, 2022). Nestes recipientes, as fêmeas colocam os seus ovos, próximo à lâmina de água (Gehrke et al., 2020).

3.2 Inseticidas

Os inseticidas são compostos químicos sintéticos ou de origem natural que atuam sobre os insetos, causando a sua morte ou inibindo comportamentos destrutivos (Morais; Marinho-Prado, 2016; Medes et al., 2019). Sua aplicação pode ser realizada na agricultura, durante o plantio e também na pós-colheita, na pecuária ou em residências (Medes et al., 2019).

Podem agir pelas vias de contato direto, contato secundário/residual, ingestão, fumigação, atraindo e matando ou causando a repelência dos insetos (Cruz, 2020) (Figura 4). Esses compostos, podem ser divididos em cinco grupos, de acordo com o seu modo de ação: (1) sistema nervoso e/ou musculatura, (2) crescimento/desenvolvimento, (3) intestino médio, (4) metabolismo respiratório e (5) modo de ação desconhecido ou inespecífico (Corteva, 2020; Boschiero, 2022).

Figura 4 - Vias de ação dos inseticidas



Fonte: Adaptado de Henrique (2019) feito no Biorender

3.2.1 Modo de ação dos inseticidas

A grande maioria dos inseticidas atuam sobre o sistema nervoso e/ou muscular dos insetos. Com relação a esse tipo de mecanismo de ação, os inseticidas podem atuar como inibidores de acetilcolinesterase, causando o acúmulo da acetilcolina podendo ocasionar paralisação dos músculos e morte (Mattar et al., 2022; Souza et al., 2022; Remesh; Prabhakar; Babu, 2023). Atuam ainda como agonista da acetilcolina, causando hiperexcitabilidade do sistema nervoso, e como consequência tremores, convulsões e morte. Também podem atuar como antagonistas da acetilcolina causando paralisia e morte (Boschiero, 2022).

Outro modo de ação no sistema nervoso dos inseticidas pode ser através do efeito antagonista de canais de cloro mediados pelo ácido gama amino butírico (GABA). Esse modo de ação não permite que o sistema nervoso volte ao estado de repouso, causando tremores, convulsões e morte. Também podem agir como agonistas do GABA, resultando na paralisia dos insetos (Matias, 2021; Souza et al., 2022). Por fim, os inseticidas que atuam no sistema nervoso podem ter efeito sobre os canais de sódio, desregulando ou bloqueando esses canais, causando exaustão e morte ou paralisia e morte dos insetos, respectivamente (Matias, 2021; Boschiero, 2022).

Outro modo de ação dos inseticidas ocorre através de distúrbios no crescimento e desenvolvimento dos insetos, inibindo a síntese de quitina ou apresentando efeitos agonistas do hormônio juvenil. Isso impede o processo de metamorfose/muda dos insetos, ou pode atuar como agonistas de receptores de ecdisteroides, causando metamorfose/muda prematura e consequentemente a morte dos insetos (Matias, 2021).

Os inseticidas que atuam sobre o intestino médio dos insetos podem atuar causando distúrbios como deterrência, inibindo enzimas digestivas, destruindo as células do epitélio intestinal ou a matriz peritrófica (Lima et al., 2017). Além disso, alguns compostos interferem no transporte de elétrons mitocondriais, inibindo a enzima nicotinamida adenina dinucleotídeo (NADH) oxidoredutase da cadeia

respiratória, o que resulta em paralisia rápida e morte do inseto. Outro mecanismo envolve a interrupção da síntese de trifosfato de adenosina (ATP) nas mitocôndrias, levando à morte celular (Boschiero, 2022).

3.2.2 Inseticidas Sintéticos

Os inseticidas químicos sintéticos ganharam destaque após a Segunda Guerra Mundial. A utilização desses compostos foi motivada pela necessidade de controlar infestações de insetos transmissores de doenças e suprir a demanda mundial por alimento. Consequentemente, causou a ampliação dos sistemas de monocultura, resultando na modificação da base produtiva agrícola no mundo, permitindo assim o aumento da produção de alimentos (Moreira; Mansur; Figueira-Mansur, 2012; Santos-Junior; Santos; Soares, 2020).

Os primeiros inseticidas, conhecidos como os inseticidas de primeira geração, foram a piretrina, rotenona e a veratrina. Em seguida, foram desenvolvidos os inseticidas de segunda geração, sendo esses os piretróides, organofosforados, organoclorados e os carbamatos. Como inseticidas de terceira geração, pode-se destacar os juvenóides e atualmente já foram desenvolvidos os de quarta geração, os neônicos (Castro-Faria, 2009; Santos-Junior; Santos; Soares, 2020).

O Brasil é atualmente um dos países que mais utiliza inseticidas sintéticos em todo o mundo. De acordo com Costa-Santos & Santos (2023), em 2019-2020 o país registrou 967 novos agrotóxicos, somando 2.327 registros desde o ano de 2016, sendo que dos 50 sintéticos mais utilizados, 22 são proibidos pela União Europeia. Esses compostos geralmente possuem efeito sistêmico e são empregados para o controle de insetos-praga agrícolas e urbanas (Merson, 2022). Dentre os inseticidas mais utilizados atualmente, destacam-se os piretróides, organofosforados, organoclorados e carbamatos (Santos, 2021).

Os piretróides, oriundos das piretrinas, possuem efeito tóxico para organismos não-alvo, podem causar também alergias e agravamento de asma e bronquite. Os organofosforados são ésteres, derivados do ácido fosfórico e do tiofosfórico e quando expostos a altas temperaturas podem formar compostos tóxicos perigosos,

apresentando toxicidade para espécies não-alvo. Os organoclorados são hidrocarbonetos constituídos por cloro e geralmente possuem alta persistência no meio ambiente, pois são lipofílicos e são bioacumulados por organismos. Já os carbamatos, oriundos do ácido carbônico, podem ser tóxicos para organismos não-alvo (Moreira; Mansur; Figueira-Mansur, 2012; Medes et al., 2019; Silva; Garrido, 2021; Costa-Santos; Santos, 2023).

Os inseticidas sintéticos geralmente não são seletivos para a espécie praga, causando toxicidade em organismos não-alvo, e o seu uso indiscriminado pode causar contaminação do meio ambiente, resistência e ressurgência do inseto-praga e também o surgimento de espécies de praga secundárias. Desse modo, a busca por métodos de controle alternativo ou que sejam complementares a esses inseticidas está se tornando crescente, como o uso de defensivos de origem vegetal, os inseticidas botânicos (Caldeira, 2019; Santos-Junior; Santos; Soares, 2020; Spletozer et al., 2021).

3.2.3 Inseticidas Naturais

As plantas, produzem metabolitos que possuem diversas funções essenciais para a sua sobrevivência. Os metabólitos podem apresentar efeitos alelopáticos, atuando na comunicação entre indivíduos da mesma espécie, atrair polinizadores e dispersores de sementes, proteger contra a perda de água e aumento de temperatura, agir na sinalização entre órgãos vegetais distintos e proteger contra microrganismos patógenos e contra herbívoros (Silva et al., 2019; Almeida; Almeida; Gherardi, 2020; Reis et al., 2020; Santos, 2020).

A evolução das plantas ocorreu junto com insetos herbívoros e isso permitiu que elas desenvolvessem mecanismos de defesa, sejam eles físicos como espinhos, tricomas e ceras, ou químicos como os óleos essenciais, compostos fenólicos e nitrogenados. Esses mecanismos contribuem para a sobrevivência vegetal ao provocar mortalidade, repelência ou atração de predadores e/ou parasitoides (Santos-Junior; Santos; Soares, 2020; Spletozer et al., 2021).

Os inseticidas naturais já eram utilizados para o controle de insetos-praga,

pelos povos antigos a cerca de 4.000 a.C. No entanto, sua utilização cresceu por volta de 2.000 a.C. por países como China, Egito, Índia e Grécia (Lima; Souto; Medeiros, 2019; Santos-Junior; Santos; Soares, 2020; Santos, 2021). O Brasil, no início do século XX, foi um dos maiores exportadores de inseticidas naturais (Spletzer et al., 2021). Esses compostos eram amplamente utilizados e tiveram um papel significativo entre os anos de 1930 a 1940. No entanto, com o surgimento dos inseticidas sintéticos, os inseticidas naturais acabaram sendo substituídos por esses compostos de efeito mais rápido (Morais; Marinho-Prado, 2016; Santos-Junior; Santos; Soares, 2020).

O ressurgimento do interesse pela utilização dos inseticidas botânicos ocorre pela necessidade de buscar de novas fontes para o controle de pragas, que não causem danos ao meio ambiente e a organismos não-alvo. É necessário também que essas novas fontes apresentem rápida degradação e não deixem resíduos nos alimentos, possuam baixa ou nenhuma toxicidade para os humanos e não contribuam para o surgimento de populações de insetos-praga resistentes (Francesena; Schneider, 2018; Seixas et al., 2018; Caldeira, 2019; Lima; Souto; Medeiros, 2019).

O Brasil apresenta uma das maiores biodiversidades de espécies vegetais do planeta. Muitas espécies são naturalmente resistentes ao ataque de insetos e a herbivoria, o que indica que essas espécies podem apresentar compostos inseticidas que podem ser utilizados para o controle de insetos-praga, sendo uma alternativa aos inseticidas sintéticos (Lima; Souto; Medeiros, 2019; Reis et al., 2023).

De acordo com Almeida et al (2017), aproximadamente 100 mil metabolitos secundários apresentam ação inseticida, sendo pertencentes às classes dos alcalóides, flavonóides, quinonas e terpenóides, e se destacam por apresentarem diversos modos de ação. Esses compostos de origem vegetal podem ser obtidos de diferentes partes das plantas como folhas, frutos, caule, raízes, flores e sementes (Santos, 2021; Spletzer et al., 2021), e geralmente podem ser utilizados em pós, extratos ou óleos essenciais (Almeida et al., 2017).

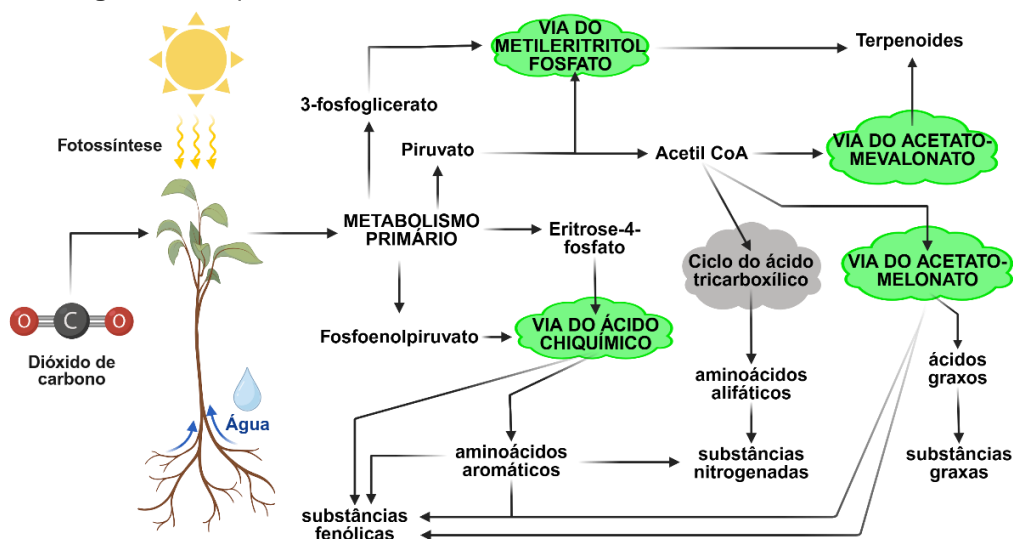
3.2.3.1 Óleos essenciais

Os óleos essenciais (OEs), também denominados como óleos voláteis e óleos etéreos, são combinações de compostos complexos, naturais e odoríferos. De modo geral esses compostos são voláteis e são oriundos do metabolismo secundário das plantas aromáticas (Menezes et al., 2017; Simões et al., 2017; Almeida; Almeida; Gherardi, 2020). Os OE, possuem solubilidade limitada em água e são chamados de hidrolatos quando em água (Simões et al., 2017; Reis et al., 2020).

Os OE podem ser constituídos por 10 a 200 compostos que em geral, se apresentam em concentrações variáveis (André et al., 2018). Os principais constituintes dos OE são os alcaloides, fenilpropanóides e os terpenos. Também podem ser encontrados moléculas de álcoois, aldeídos, cetonas, fenóis, ésteres, éteres, furanos e cumarinas (Campos et al., 2019; Menezes-Filho; Sousa; Castro, 2020).

A biossíntese dos metabolitos secundários presentes nos OEs ocorre por quatro vias principais: acetato-malonato, ácido chiquímico, acetato-mevalonato e metil eritritol fosfato. Além dessas rotas biossintéticas, aminoácidos alifáticos e aromáticos desempenham um papel crucial como precursores na formação de compostos nitrogenados (Simões et al., 2017; Santos, 2020) (Figura 5).

Figura 5 - Esquema ilustrativo da biossíntese dos metabolitos secundários.



Fonte: Adaptado de Santos (2020) feito no Biorender.

Inicialmente, ocorre a formação do isopreno/hemiterpenos, que são moléculas

simples com até cinco átomos de carbono. Em seguida, ocorre a condensação dessas moléculas formando os terpenos maiores (Simões et al., 2017; Santos, 2020; Alves et al., 2022). Os monoterpenos, possuem 10 átomos de carbono, já os sequistenpenos são constituídos por 15 átomos de carbono, os diterpenos apresentam 20 átomos de carbono, os triterpenos 30 átomos de carbono e os tetraterpenos possuem 40 carbonos (Menezes et al., 2017; Santos, 2020).

Os OEs podem ser encontrados e extraídos de diferentes órgãos das plantas, como: raízes, caules, cascas, folhas, flores, frutos e sementes (Pombo et al., 2018; SILVA et al., 2019). São armazenados em células secretoras, cavidades, canais, células epidérmicas ou em tricomas glandulares (Silva et al., 2019; Almeida; Almeida; Gherardi, 2020).

A composição química e o rendimento dos OEs podem variar por diversos fatores como a idade da planta, umidade relativa do ar e temperatura do ambiente, incidência de radiação solar, disponibilidade de água e nutrientes do solo, época do ano (primavera, verão, outono e inverno), hora da coleta do material vegetal, órgãos da planta, fatores genéticos, quimiotipo e processo de extração (André et al., 2018).

O método de extração escolhido para a extração do OE depende de fatores como o órgão da planta do qual será extraído o óleo, classes de compostos e uso pretendido. Atualmente, os principais métodos de extração são; enfloração (utilizado para a extração de flores), hidrodestilação, destilação a vapor, prensagem (para extração de frutos cítricos), extração com solvente orgânico e extração com fluido supercrítico (Simões et al., 2017; Silva et al., 2019). Para a caracterização química desses compostos é utilizada a cromatografia gasosa acoplada a um espectrômetro de massas (CG-MS) (Alves et al., 2022).

Atualmente, mais de 300 óleos essenciais têm importância comercial e são amplamente utilizados nas indústrias alimentícia, cosmética, perfumaria, agrícola, farmacêutica, odontológica e de higiene e na área da saúde (Bizzo; Hovell; Rezende, 2009). De acordo com Bizzo & Rezende (2022), o Brasil é um dos países que mais produz e exporta óleos essenciais, tanto de espécies nativas como o pau-rosa, quanto de exóticas como menta, laranja e eucalipto.

A grande importância comercial dos óleos essenciais está relacionada às

diversas atividades biológicas que podem apresentar, como estimulantes cardiovasculares, anti-inflamatórias, antimutagênicas, antioxidantes, antiespasmódicas, anticonvulsivantes, antissépticas, anti-helmínticas, antibacterianas, antifúngicas e inseticidas (Pombo et al., 2018; Silva et al., 2019; Menezes-Filho; Sousa; Castro, 2020; Alves et al., 2022).

Os óleos essenciais que possuem atividade inseticida podem agir pelas vias de contato tópico e residual, ingestão e fumigação (Fouad; Camara, 2017), causando alterações fisiológicas, bioquímicas e comportamentais, que podem interferir na oviposição, alimentação, sobrevivência ou podem ainda causar repelência dos insetos (Ribeiro et al., 2015; Mercês et al., 2021; Santos, 2021).

3.3 Euphorbiaceae

A família Euphorbiaceae Juss. é considerada uma das maiores e mais diversas dentre todas as famílias pertencentes às angiospermas. Seus representantes estão divididos em cinco subfamílias (Acalyphoideae, Crotonoideae, Euphorbioideae, Oldfieldioideae e Phyllantoideae), 50 tribos, 300 gêneros e 8.000 espécies (Islam et al., 2019; Kemboi et al., 2020; Xu et al., 2021).

Os representantes da família apresentam uma grande diversidade de metabólitos secundários, como: alcaloides, terpenos, flavonoides, taninos e peptídeos, que podem ser utilizados para os desenvolvimentos produtos para diversas finalidades (Ramalho et al., 2018). Também exibem alto potencial econômico, seja ele madeireiro, ornamental, industrial, nutricional e medicinal (Araújo-Júnior et al., 2018).

No Brasil, a família possui um alto grau de endemismo, apresentando cerca de 1000 espécies descritas, distribuídas em 65 gêneros (Araújo-Júnior et al., 2018; Islam et al., 2019). Nas zonas fitogeográficas do Brasil, as áreas mais úmidas contribuem com 2,4 % da diversidade de espécies, já nas áreas mais secas, com aproximadamente 5,0 %, sendo a Caatinga e o Cerrado, as regiões com maior diversidade relativa de espécies. Entre todos os gêneros presentes no país, o gênero *Croton* é o mais abundante (Flora e Funga do Brasil, 2023).

3.3.1 *Croton*

O *Croton* L. está entre os gêneros com maior diversidade e importância entre a família Euphorbiaceae. O gênero, possui aproximadamente 1300 espécies distribuídas em regiões subtropicais e tropicais em ambientes úmidos e áridos do planeta (Xu et al., 2018; Moremi et al., 2021; Guerra-Junior et al., 2022; Beyer et al., 2023). São encontrados em substratos rupícola e terrícola, nas formas de arbusto, erva, liana/volúvel/trepadeira, subarbusto e menos frequentemente, como árvore (Sodré; SILVA, 2015; Caruzo et al., 2023).

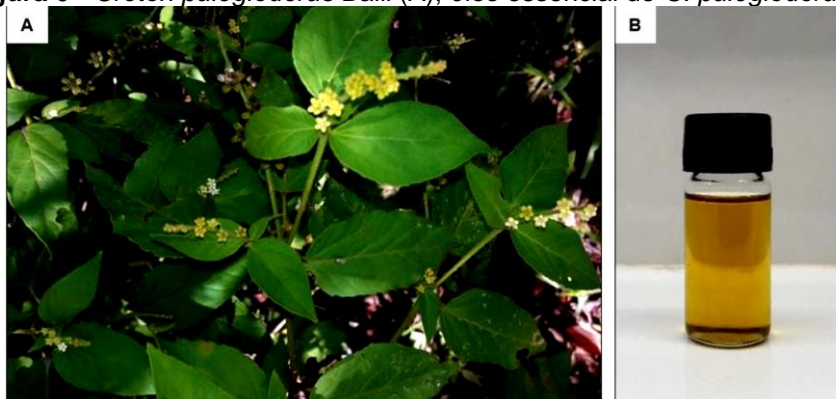
O Brasil possui atualmente cerca de 300 espécies, e destas aproximadamente 230 são endêmicas e encontram-se distribuídas em todas as regiões e estados do País, distribuídas pelos domínios fitogeográficos da Amazônia, Caatinga, Cerrado, Mata Atlântica, Pampas, Pantanal e na ilha oceânica de Fernando de Noronha (Caruzo et al., 2023).

Os representantes do gênero apresentam alto potencial econômico, principalmente para a indústria farmacêutica, devido aos metabólitos secundários (alcalóides, flavonoides e terpenoides) que possuem diversas propriedades medicinais (Cavalcanti; Amaro; Artur, 2022). As espécies do gênero possuem diversas atividades biológicas como, por exemplo, anticancerígeno, antiespasmódico, anti-inflamatória, antimicrobiano, antinociceptivo, antiparasitário, antioxidante, cardiovascular, citotóxica, gastroprotetoras e inseticida (Xu et al., 2018; Al-Hakami et al., 2022; Salleh et al., 2022).

3.3.2 *Croton pulegioidorus*

O *Croton pulegioidorus* Baill (heterotípico *Croton regelianus* Müll. Arg.) (Figura 6) é comumente conhecido como velaminho/velame, pode ser encontrado na forma de arbusto ou subarbusto, medindo entre 0,30 a 1,5 m de altura (Oliveira et al., 2022). A espécie possui ramos verdes, látex translúcido, flor estaminada branco esverdeada, fruto esverdeado e sementes globosa e lisas (Caruzo et al., 2023).

Figura 6 - *Croton pulegioidorus* Baill (A); óleo essencial de *C. pulegioidorus* (B)



Fonte: Santos (2019).

A espécie é endêmica do Brasil, podendo ser encontrada no nordeste (BA, CE, PB, PE e PI), centro-oeste (GO) e sudeste (MG), nos domínios fitogeográficos do Cerrado e da Caatinga, em afloramentos rochosos (Santos; Oliveira; Matos, 2022; Caruzo et al., 2023) (Figura 7). Encontra-se florida e frutificada entre os meses de outubro e maio (Torres, 2009), e o seu óleo essencial é composto principalmente por mono e sesquiterpenos (Rocha, et al., 2021). Devido à presença do ácido caprílico, também conhecido como octanoico, possui odor característico e propriedades bactericidas e antifúngicas (Rocha, 2019).

Figura 7 - Distribuição Geográfica do *Croton pulegioidorus* no Brasil



Fonte: Flora e Funga do Brasil (2025).

3.4 Formulação

Para que os óleos essenciais sejam utilizados de forma eficiente no controle de insetos-praga, é fundamental que uma formulação adequada seja desenvolvida antes de sua comercialização (Gazziero et al., 2021). Essas formulações resultam da combinação precisa de compostos em proporções específicas, com o objetivo de garantir a aplicação uniforme, segura e eficaz do ingrediente ativo (Azevedo; Ferreira, 2006).

O ingrediente ativo, componente principal da formulação, é complementado por compostos auxiliares, como solventes, dispersantes e emulsificantes. Esses elementos desempenham papéis essenciais para assegurar a estabilidade do produto e otimizar seu desempenho (Machado, 2024).

Os compostos auxiliares influenciam diretamente as propriedades físicas e químicas das formulações, contribuindo para preservar a integridade do ingrediente ativo, melhorar sua dispersão durante a aplicação e tornar o manuseio mais seguro (Azevedo; Ferreira, 2006; Gazziero et al., 2021). Dessa forma, uma formulação bem projetada não apenas potencializa a eficácia do produto, mas também contribui para uma aplicação mais sustentável e segura (Gazziero et al., 2021).

3.5 Ensaios de Toxicidade

A toxicologia é considerada como o estudo dos venenos, sendo responsável por estudar os efeitos nocivos de substâncias químicas em sistemas vivos, abrangendo desde células humanas isoladas até ecossistemas inteiros (Laurence; Chabner; Knoll, 2012; Katzung; Masters; Trevor, 2014). A palavra "tóxico" vem do latim *toxicus*, que significa "venenoso", e tem suas raízes no grego antigo *toxikon*, usado para se referir aos venenos aplicados nas pontas de flechas (Perpétuo et al., 2019; Santos; Pacheco, 2023).

A avaliação toxicológica envolve a análise detalhada dos dados relacionados a uma substância ou composto químico, com a finalidade de classificá-lo quanto à sua toxicidade. Além disso, busca fornecer orientações sobre o uso seguro e correto,

incluindo ações preventivas e corretivas em casos de exposição ou utilização inadequada (Larini, 1997; Oliveira, 2019). Desse modo, para que um novo produto, como medicamentos, agrotóxicos e aditivos alimentares seja comercializado e possa ser utilizado ou aplicado nos seres humanos, é fundamental que sejam realizados estudos para avaliar os riscos toxicológicos associados a essa nova substância (Moura et al., 2012).

Os testes toxicológicos devem ser realizados de acordo com protocolos estabelecidos e reconhecidos pela comunidade científica. Em âmbito internacional, destacam-se as diretrizes da *Organisation for Economic Cooperation and Development* (OECD) da Europa e da *Food and Drug Administration* (FDA) dos Estados Unidos. No Brasil, a regulamentação desses testes é responsabilidade da Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) (Santos, 2020; Engelhardt et al., 2022; Araujo, 2023).

Dentre os ensaios realizados nas etapas iniciais da avaliação da segurança de uso de compostos, o ensaio hemolítico é essencial na investigação do potencial de substâncias em causar lise de eritrócitos (Marques-Garcia, 2020). A investigação da compatibilidade sanguínea é importante para avaliar a segurança de produtos farmacêuticos e dispositivos médicos, fornecendo informações relevantes sobre as possíveis reações adversas de substâncias químicas, que podem causar alterações nas membranas dos eritrócitos e induzir a anemia hemolítica (Zohra; Fawzia, 2014; Sæbø et al., 2023).

O ensaio de toxicidade oral aguda também é incluído na avaliação da segurança, pois avalia os efeitos adversos resultantes da administração de dose única, permitindo a classificação do risco de substâncias químicas e o estabelecimento de valores de referência como a DL_{50} (OECD 420, 2002; OECD 423, 2002; OECD 425, 2022). Além disso, os ensaios de genotoxicidade analisam a capacidade de um composto em induzir danos ao DNA, mutações ou aberrações cromossômicas, sendo fundamentais para estimar riscos relacionados à carcinogenicidade e à mutagenicidade (Hartwig et al., 2020; Choudhur et al., 2021; Hayashi, 2022).

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados dessa dissertação/tese estão apresentados na forma de artigo(s).

4.1 ARTIGO I

QUALIS – A2, FATOR DE IMPACTO – 2.5

Crop Protection 188 (2025) 107026

Contents lists available at ScienceDirect

Crop Protection

journal homepage: www.elsevier.com/locate/cropro

Chemical composition and influence of essential oil from *Croton pulegioidorus* Baill. Leaves on the nutrition and survival of *Sitophilus zeamais* Mots. (Coleoptera: Dryophthoridae) as well as survival and behavior of *Nasutitermes corniger* Mots. (Blattodea: Termitidae)

Patryck Érmerson Monteiro dos Santos^a, Thiago Henrique Napoleão^a, Amanda Vieira de Barros^a, Renata Mendonça Araújo^b, Matheus Cavalcanti de Barros^a, Carlos Romero Ferreira de Oliveira^c, Maria Betânia Melo de Oliveira^a, Maria Lígia Rodrigues Macedo^d, Ana Patrícia Silva de Oliveira^a, Thamarah de Albuquerque Lima^{a,*}, Patrícia Maria Guedes Paiva^a

^a Departamento de Bioquímica, Centro de Biociências, Universidade Federal de Pernambuco, Recife, Pernambuco, Brazil
^b Instituto de Química, Universidade Federal do Rio Grande do Norte, Natal, Rio Grande do Norte, Brazil
^c Unidade Acadêmica de Serra Talhada, Universidade Federal Rural de Pernambuco, Serra Talhada, Pernambuco, Brazil
^d Departamento de Tecnologia de Alimentos e da Saúde, Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Alimentos e Nutrição, Universidade Federal do Mato Grosso do Sul, Campo Grande, Mato Grosso do Sul, Brazil

ARTICLE INFO

Keywords:
 Pest insects
 Volatile oil
 Biochemistry
 Euphorbiaceae

ABSTRACT

Essential oils have been studied to develop sustainable alternatives for controlling pest-species. This study determined the chemical composition and toxicity of an essential oil from *Croton pulegioidorus* leaves against *Sitophilus zeamais* and *Nasutitermes corniger*. Ascaridole (22.75%) and camphor (18.11%) were the major compounds. The essential oil showed toxicity upon ingestion on *S. zeamais*, with LC₅₀ and LC₉₀ of 24.24 and 46.76 µL/g for 15 days, respectively. It presented a moderate (10.0 and 12.5 µL/g) to strong (15 µL/g) deterrent effect, interfering with nutritional parameters, causing a reduction in the relative consumption rate, relative biomass gain rate and efficiency in conversion of ingested food. Furthermore, it stimulated *in vitro* *S. zeamais* β-D-xylanase (+33.39%), endoglucanase (+8.28%), exoglucanase (+84.77%), and α-amylase (+359.18%) activities and reduced *in vitro* the activity of trypsin-like enzymes (−79.67%). The essential oil showed fumigant effect against *N. corniger* termites with LC₅₀ and LC₉₀ (24 h) of 0.57 and 3.26 µL/mL of air for workers and 1.63 and 4.74 µL/mL of air for soldiers respectively. In increases, it caused 100% mortality through contact in 2.08 and 0.49 min (at 0.4 µL/µL and neat oil). A significant increase in the number of self-cleaning and falls indicated behavioral changes induced by the oil in *N. corniger* workers. The study shows the potential of the essential oil of *C. pulegioidorus* leaves as an alternative method in the management of maize weevil and *N. corniger*.

1. Introduction

Some insect species have economic importance and are considered agricultural and/or urban pests. Pest insects are one of the limiting factors in grain crops since they can affect the production and/or storage of grains and cause economic losses in the agricultural sector (Subedi et al., 2023). *Sitophilus zeamais* Motschulsky 1883 (Coleoptera: Dryophthoridae), popularly known as maize weevil, is responsible for

significant economic losses in grain cultures such as corn, rice, sorghum, wheat and barley; it also attacks industrialized products (Rosa et al., 2020; Bawa et al., 2022). This species is considered a primary and cosmopolitan pest, with a high potential for multiplication. The feeding and reproductive habits cause deterioration of the grains, which consequently affects nutritional parameters and commercial value of the products as well as promotes an increase in humidity and heat in the environment, favoring the multiplication of several microorganisms

* Corresponding author.

E-mail address: thamarah.albuquerque@ufpe.br (T. de Albuquerque Lima).

<https://doi.org/10.1016/j.cropro.2024.107026>

Received 22 August 2024; Received in revised form 10 October 2024; Accepted 7 November 2024

Available online 8 November 2024

0261-2194/© 2024 Elsevier Ltd. All rights are reserved, including those for text and data mining, AI training, and similar technologies.

such as phytopathogenic fungi (Fouad and Camara, 2017; Oliveira et al., 2017). The impact caused by the larvae and adults of *Sitophilus* can be classified as qualitative and quantitative damages (Martins et al., 2022). Qualitative damage results in a reduction in the nutritional value of the grains and in the germination rate of the seeds (Debjani and Prakasham, 1990; Barney et al., 1991). Quantitative damage is caused by a reduction in the weight of the grains and seeds (Caneppele et al., 2003). These can cause the grain/seeds to be devalued on the market or even lead to the rejection of entire batches of grain (Goni et al., 2017; Silva et al., 2017).

There are also pests resulting from the urbanization process (Korányi et al., 2022). The termite *Nasutitermes corniger* (Motschulsky, 1855) (Blattodea: Termitidae), endemic to the Neotropical region of South America, is defined as urban and agricultural pest (Boulogne et al., 2017; Soares et al., 2017; Gazal et al., 2023). *N. corniger* occurs mainly in the Atlantic Forest biome and consumes a wide variety of wood (e.g. dead twigs, branches, tree stumps, wood debris), being also adapted to feed on a variety of habitats and resources sources (Boulogne et al., 2017; Gazal et al., 2023). It can infest wooden structures in agricultural and urban environment as well as books, clothes, papers, and furniture (Rust and Su, 2012; Santos et al., 2024).

The main way to prevent and control insect pests is through the application of synthetic insecticides, directly on the infested site or in strategic locations where insects can pass. However, their use is associated with persistence and toxicity, damage to the environment and human health, evolution of resistance of insects and causes the elimination of natural enemies and other non-target species (Rezende-Teixeira et al., 2022).

Essential oils are natural and volatile compounds derived from secondary plant metabolites, biodegradable and generally have little or no toxicity to the environment (Oliveira et al., 2024; Lozowicka et al., 2016; Paumgartner and Delgado, 2016; Simões et al., 2017; Botello-Ojeda et al., 2024). The development of natural insecticides from plants, especially based on essential oils, has recently attracted the attention of researchers (Gonzalez-Coloma et al., 2012; Nenaah et al., 2023). In the last two decades, several studies have shown the insecticidal action of essential oils from medicinal and aromatic plants (Gupta et al., 2023; Karabörkücü; Ayvaz, 2023; Popescu et al., 2024). For example, *Eucalyptus globulus* essential oil encapsulated in cyclodextrin proved to be a promising bioinsecticide against *Ephestia kuehniella* larvae (Amara et al., 2024), and aromatic turmeric oil showed toxicity by fumigation and contact against *Tribolium castaneum*, *Lasioderma serricorne*, *Callosobruchus chinensis*, all being pests of stored grains (Sulhath et al., 2024).

The Caatinga biome is exclusively Brazilian, with extreme seasonal conditions and particularly biodiverse, having many endemic species (Marques et al., 2021). Caatinga plants have developed unique chemical characteristics to survive the peculiar biotic and abiotic factors present in this biome, being a great resource for the bioprospecting of relevant biological activities, such as insecticides, anti-inflammatory, antispasmodic, and antibiotic (Cartaxo et al., 2010; Melo et al., 2015; Martins et al., 2020). *Croton pulegioides* Baill. (Euphorbiaceae), popularly known as *velaminho*, is a species endemic to Brazil, which can be found on rocky outcrops in the Caatinga and Cerrado phytogeographic domains. Essential oils extracted from *C. pulegioides* leaves have different compounds, especially monoterpenes and sesquiterpenes, with antibacterial (Rocha et al., 2021), antileishmanial, acaricidal (Castro et al., 2020) and insecticidal (Santos et al., 2019) activities.

Therefore, the objective of this study was to determine the chemical composition and yield of an essential oil from leaves of *C. pulegioides* collected at Brazilian Caatinga, to evaluate the toxicity by ingestion and the effects on the activity of intestinal enzymes of *S. zeamais*, as well as to evaluate the toxicity by fumigation and contact against *N. corniger*.

2. Materials and methods

2.1. Plant material

The leaves of *C. pulegioides* (Fig. 1) were collected in a region of the Caatinga phytogeographic domain, in the city of Triunfo, Pernambuco, Brazil (7°49'19.5" S, 38°06'27.2" W). The access (register A2C6E1D) was recorded in the Sistema Nacional de Gestão do Patrimônio Genético e do Conhecimento Tradicional Associado (SisGen). A voucher specimen (number 104) is archived in the herbarium of the Semiárido do Brasil, Unidade Acadêmica de Serra Talhada of the Universidade Federal Rural de Pernambuco.

2.2. Essential oil extraction

The leaves from *C. pulegioides* were dried at 40 °C and powdered for extraction of the essential oil. The extraction was performed using a Clevenger-type apparatus. The leaf powder (200 g) was mixed with distilled water (2 L) and the hydrodistillation process occurred for 2 h at 100 °C. The essential oil was stored in amber-glass at 4 °C. The percentage yield was calculated by the ratio between the oil mass and the mass of the leaf powder used.

2.3. Phytochemical analysis

The essential oil components was analyzed by gas chromatography coupled to mass spectrometry (GC-MS), using a chromatograph (Model QP5050A, Shimadzu, Kyoto, Japan) coupled with a mass spectrometer (Agilent DB-SMS non-polar capillary column). The temperature for analyses was first set at 60 °C and increased at 4 °C/min up to 280 °C. This temperature was maintained for 15 min. The helium carrier gas was maintained at a flow rate of 1.0 mL/min. The temperature was maintained at 280 °C and ionization energy at 70 eV. The mass spectra were recorded from 10 to 400 m/z. Analysis oil was performed in triplicate and the sample was dissolved in dichloromethane. Individual content was determined based on the peak areas in the chromatogram. Each component was identified based on the retention index considering a homologous series of n-alkanes (C7-C30), corrected by linear regression. It was also compared the specific fragmentation patterns of each component with mass spectra in the virtual database library (NIST/EPA/NIH Mass Spectral Library NIST 11, 2012) and reports in the literature (Adams, 2007).

2.4. Insects

2.4.1. *Sitophilus zeamais*

Colony of *S. zeamais* is maintained at the Laboratório de Bioquímica de Proteínas of the Universidade Federal de Pernambuco with authorization (72024) of the Instituto Chico Mendes de Conservação da Biodiversidade (ICMBio). The insects were reared in glass vessels containing maize grains and maintained in a biological oxygen demand (BOD) chamber at 28 ± 2 °C, relative humidity of 70% ± 10%, and 12:12 light:dark photoperiod. The maize grains (non-genetically modified) were obtained from crops for which agrochemicals were not used. Insects of 30–40 days of age were used in the assays.

2.4.2. *Nasutitermes corniger*

N. corniger nests were collected at the campus of the Universidade Federal Rural de Pernambuco (Recife, Brazil) in a fragment of the Atlantic Rain Forest (8°00'45" S, 34°56'57" W). The authors had authorization (72024) of the Instituto Chico Mendes de Conservação da Biodiversidade (ICMBio). The termite nests, selected based on integrity, were removed from the trunk of a tree, transferred to the laboratory, and maintained at 27 ± 2 °C only during the period necessary for separation and transfer of workers and soldiers (standardized according to morphology and size) to the bioassays. Afterwards, the nest was returned to the place of



Fig. 1. Specimens of *C. pulegioides* collected for extraction of the essential oil evaluated in the present work.

collection.

2.5. Insecticidal assays against *S. zeamais*

2.5.1. Evaluation of ingestion toxicity

The toxicity by ingestion of oil on *S. zeamais* adults was evaluated using an adaptation of the Xie et al. (1996) method described by Napoleão et al. (2013). The experiment was carried on Petri plates (90 × 15 mm) containing five disks of an artificial diet. The artificial diet was composed of wheat flour (2 g) homogenized with 5 mL of *C. pulegioides* essential oil solution in Tween 80 (1%, v/v) at different concentrations. Next, 200 µL aliquots of the suspension were transferred to petri plates forming five disks per plate. After incubation for 16 h at 50 °C, the weight of the plates containing the dried disks was recorded. It is important to highlight that it was possible to perform the incubation at this temperature because the *C. pulegioides* essential oil was extracted through hydrodistillation method in a Clevenger-type apparatus. Groups of 20 adult insects with known weight (mean weight of 3 mg per insect) were transferred to the Petri plate containing the artificial diet. The assays were maintained in the BOD chamber at 28 ± 2 °C, relative humidity of 70% ± 10% and 12:12 light:dark photoperiod for 7 and 15 days. After 7 days, the weights of the flour disks and insects were recorded, and the mortality rate was evaluated 15 days after the start of the experiment. A control group corresponded to individuals treated with a mixture of wheat diluted in distilled water and 1% Tween. Two independent assays were performed in quintuplicate at final concentrations of 5.0, 10.0, 12.5 and 15 µL/g (µL of oil per g of wheat flour in the disks).

The following nutritional indexes were calculated (Xie et al., 1996): relative consumption rate (RCR) = $A/(B \times \text{days})$, where A is the ingested mass (mg) and B is the initial biomass (mg) of the insects; relative biomass gain (RBG) = $C/(B \times \text{days})$, where C is the biomass (mg) acquired or lost by the insects; and efficiency in conversion of ingested food (ECI) = $C/(A \times 100)$. The deterrent effect and nutritional parameters were evaluated using the values obtained after 7 days of the experiment. The feeding deterrence index (FDI) was calculated as follows: $\text{FDI} (\%) = 100 \times (D - E)/D$, where D is the mass of diet ingested by insects from the control and E is the mass ingested by insects from the treatment with essential oil. According to Liu et al. (2007), the treatment was classified as non-deterrent (FDI < 20%), weak deterrent (50% > FDI ≥ 20%), moderate deterrent (70% > FDI ≥ 50%), or strong deterrent (FDI ≥ 70%).

2.5.2. In vitro effects of *C. pulegioides* essential oil on the activity of digestive enzymes

Gut extracts from *S. zeamais* adults were prepared as described by Napoleão et al. (2013). Untreated adults were removed from the colony and immobilized at −14 °C for 15 min. Then, the guts of the 100 insects were dissected and homogenized with 2.0 mL of a buffer solution (0.1 M sodium acetate pH 5.5 or 0.1 M Tris-HCl pH 8.0, both containing 0.02 M calcium chloride). The homogenates were centrifuged (9000 g for 15 min at 4 °C), and the supernatants corresponded to the gut extracts. The protein concentration in the gut extracts was determined using the method described by Lowry et al. (1951).

Gut extract in sodium acetate buffer (0.6 mg of protein) was used to evaluate the activities of cellulases (endoglucanases and exoglucanase), hemicellulase (β-D-xylanase) and α-amylase while gut extract in Tris-HCl buffer (2.13 mg of protein) was used for the determination of trypsin-like activity. The extracts were previously incubated (10 min) with essential oil from *C. pulegioides* (15 mg/mL) and the enzymatic activities were subsequently determined. Control test in absence of substrate (blank) and oil (100% enzyme) were included in all experiments. Enzyme assays were performed in quintuplicate.

The activities of amylase, endoglucanase, exoglucanase, and xylanase were determined according to the methodologies of Bernfeld (1955), Li et al. (2009) and Wood and Bhat (1988), respectively, adapted by Lima et al. (2018). The reactions were started by incubating (10 min at 50 °C) 100 µL of *S. zeamais* gut extract with 400 µL of a solution (1%, w/v) of starch (amylase activity), carboxymethylcellulose (endoglucanase activity), avicel (exoglucanase activity) or xylan (xylanase activity) in 0.1 M sodium acetate pH 5.5 containing 0.15 M NaCl. After incubation, 500 µL of 3,5-dinitrosalicylic acid (DNS) reagent was added to stop the reaction, and the mixtures were heated to 100 °C for 6 min, and then the assay was immediately cooled on ice for 15 min. After this period, the reading was carried out at 540 nm. The amount of reducing sugars was determined using a glucose standard curve. One enzyme unit was defined as the amount of enzyme required to generate 1 µmol of glucose per min.

The evaluation of trypsin activity was carried out using the method proposed by Kakade et al. (1969). Gut extract (85 µL) was incubated (1 h at 37 °C) with 100 µL of Tris buffer and 15 µL of 8 mM N-benzoyl-L-arginyl-p-nitroanilide (BapNA). Then, the absorbance was measured at 405 nm. One unit of trypsin activity was defined as the amount of enzyme that hydrolyzes 1 µmol of BapNA per minute.

2.6. Insecticidal assay against *N. corniger*

2.6.1. Fumigation toxicity test

The essential oil from *C. pulegioides* leaves (0.2, 1.0, 2.0, 3.0, 4.0 and 5.0 $\mu\text{L/mL}$ of air) was impregnated in filter paper (40 \times 40 mm) and placed on the underside of the sterile bottle lid with 50 mL capacity. Then, 20 adults (16 workers and 4 soldiers) were added to each bottle. The control test was carried with filter paper impregnated with distilled water. The fumigation tests were conducted in quintuplicate, at $28 \pm 2^\circ\text{C}$ and $70 \pm 10\%$ relative humidity, in BOD-type climatic chambers. The number of dead insects was determined after 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12 and 24 h after the start of the test. Two independent assays were performed in quintuplicate.

2.6.2. Contact toxicity test and effect of essential oil on the behavior of workers

The bioassay was carried out in Petri dishes (90 \times 15 mm). Initially, 0.5 μL of *C. pulegioides* essential oil in 1% (v/v) Tween 80 was applied with the aid of a micropipette on the pronotum of *N. corniger* workers at concentrations of 0.1, 0.2, 0.4 $\mu\text{L}/\mu\text{L}$ (oil/solvent) or neat oil. For the control treatment, 0.5 μL of 1% Tween 80 was applied. For each concentration of essential oil, two independent experiments with six individuals each were carried out. After applying the essential oil, the time taken for each individual to die was recorded.

The evaluation of behavioral changes in workers treated with *C. pulegioides* essential oil was carried out according to the methodology of Bacci et al. (2015) and Santos et al. (2017), with modifications. The bioassays were carried out in Petri dishes (90 \times 15 mm). Initially, a worker was placed in a Petri dish and, after 5 min of acclimatization, 0.5 μL of the essential oil at a concentration of 0.2 $\mu\text{L}/\mu\text{L}$ of solution was applied to the insects pronotum (the highest concentration that did not kill the insects in 5 min, according to the contact toxicity results). After 30 s, the number of head-butts (forward and backward movements made repeatedly by the individual) and the number of self-cleaning actions carried out by each insect were recorded. For the control treatment, 0.5 μL of 1% Tween 80 was applied. Two independent experiments with six individuals were carried out, with individual observations for a period of 5 min. The observations were made using a Nikon SMZ745T stereoscopic microscope (magnifying glass).

2.7. Statistical analysis

The data obtained were expressed as the mean \pm standard error of the mean. GraphPad Prism 7.0 software was used to perform one-way analysis of variance (ANOVA) followed by Tukey's test (significant at $p < 0.05$) to compare the data from nutritional parameters obtained for *S. zeamais* and the survival data from fumigant and contact toxicity assays with *N. corniger*. The Prism software was also employed to perform Student's t-test for enzyme assays and *N. corniger* behavior data. Probit analysis was used to determine the LC_{50} and LC_{90} values (and the 95% confidence intervals), using the software BioStat (AnalystSoft Inc., Brandon, FL, USA).

3. Results

3.1. Essential oil yield and chemical characterization by GC-MS

The essential oil obtained from *C. pulegioides* leaves showed a yield of 0.91%. Eighteen components (Table 1) were identified by GC-MS analysis representing 99% of the total oil content. The major components of the essential oil were ascaridole (22.75%), camphor (18.11%), eucalyptol (10.80%), α -terpineol (7.01%), bornyl acetate (5.81%), α -humulene (4.33%), p-cymene (4.23%), caryophyllene oxide (4.06%) and terpinen-4-ol (4.02%). The essential oil was composed of monoterpenes (74.5%) and sesquiterpenes (25.5%).

Table 1

Chemical composition of the essential oil from *Croton pulegioides* leaves.

Peak	Compound	RT (min)	IK-L	IK-S	%
1	p-Cymene	9.579	1026	1013.20	4.23
2	Eucalyptol	9.770	1031	1020.33	10.80
3	Linalool	11.785	1096	1095.55	3.91
4	Camphor	13.073	1146	1143.63	18.11
5	Bornenol	13.481	1160	1158.86	1.08
6	Terpinen-4-ol	14.042	1177	1179.80	4.02
7	α -Terpineol	14.437	1188	1194.55	7.01
8	Ascaridole	15.777	1237	1244.57	22.75
9	Bornyl acetate	17.114	1285	1294.48	5.81
10	Isoscaridole	17.642	1303	1314.19	2.99
11	β -Caryophyllene	20.671	1419	1427.27	2.20
12	α -Humulene	21.534	1452	1459.48	4.33
13	β -Bisabolene	22.833	1505	1507.98	1.09
14	Spathulenol	24.593	1578	1573.68	3.83
15	Caryophyllene oxide	24.716	1583	1578.27	4.06
16	humulene 1,2-epoxide	25.328	1608	1601.11	1.23
17	Trifluoroacetyl- α -fenchol	25.797	–	–	1.00
18	tau-Cadinol	26.023	1640	1627.06	1.55
Total detected					99

RT: Retention time; IK-L = literature Kovats index; IK-S = calculated Kovats index.

3.2. Toxicity by ingestion on *S. zeamais*

The incorporation of *C. pulegioides* essential oil in the diet of *S. zeamais* induced insect mortality. The lethal concentrations (χ^2 : 12.6057, $p = 0.0056$) required to kill 50% (LC_{50}) of the insects for 7 and 15 days were 116.19 [79.07–144.18] and 24.24 [19.52–37.62] $\mu\text{L/g}$, respectively; in turn, the concentrations that kill 90% (LC_{90}) for 7 and 15 days were 762.46 [581.03–912.40] and 46.76 [32.61–67.55] $\mu\text{L/g}$, respectively. The ingestion of *C. pulegioides* essential oil by *S. zeamais* adults for 7 days interfered with the nutritional parameters (Fig. 2). At the concentrations of 10.0, 12.5, and 15.0 $\mu\text{L/g}$, the oil significantly ($F_{4,45}$: 354.7, $p < 0.0001$) reduced the relative consumption rate, RCR (Fig. 2A). These same concentrations (10, 12.5 e 15 $\mu\text{L/g}$) led to negative values of relative biomass gain rate (RBG), as shown in Fig. 2B ($F_{4,45}$: 88.51, $p < 0.0001$) and efficiency in conversion of ingested food, ECI (Fig. 2C; $F_{4,45}$: 12.30, $p < 0.0001$). The deterrence analysis (Fig. 2D; $F_{3,36}$: 87.67, $p < 0.0001$) showed that the oil was non-deterrent on *S. zeamais* adults at 5.0 $\mu\text{L/g}$ ($\text{FDI} = 12.96 \pm 2.26\%$), moderately deterrent at the concentrations of 10 and 12.5 $\mu\text{L/g}$ ($\text{FDI} = 59.12 \pm 2.49\%$ and $68.80 \pm 3.55\%$, respectively) and strongly deterrent at a concentration of 15 $\mu\text{L/g}$ ($\text{FDI} = 77.67 \pm 3.72\%$). In spite of the distinct classification, the treatments at 12.5 and 15 $\mu\text{L/g}$ were not statistically different.

3.3. In vitro effect of *C. pulegioides* essential oil on the digestive enzymes of *S. zeamais*

When assessing the in vitro effects of *C. pulegioides* essential oil on the activity of digestive enzymes, a stimulating action was observed for exoglucanase (+84.77%), endoglucanase (+8.28%), α -amylase (+359.18%) and β -D-xylanase (+33.39%) (Table 2). On the other hand, the essential oil caused a reduction in the activity of the trypsin-like enzyme, with an inhibition of –79.67% (Table 2).

3.4. Toxicity by fumigation on *N. corniger*

In bioassays with *N. corniger*, it was observed that the essential oil of *C. pulegioides* presented a toxic effect by fumigation against workers (Fig. 3A; $F_{0,05}$: 74.21, $p < 0.0001$) and soldiers (Fig. 3B; $F_{0,05}$: 45.91, $p < 0.0001$). The LC_{50} and LC_{90} were 0.57 [0.06–1.22] and 3.26 [1.52–8.10] $\mu\text{L/mL}$ of air for workers (χ^2 : 31.69, $p < 0.0001$) and 1.63 [0.77–3.46] and 4.74 [1.69–13.22] $\mu\text{L/mL}$ of air for soldiers (χ^2 : 16.92, $p = 0.002$), respectively, considering a period of 24 h. During the 24 h, it was

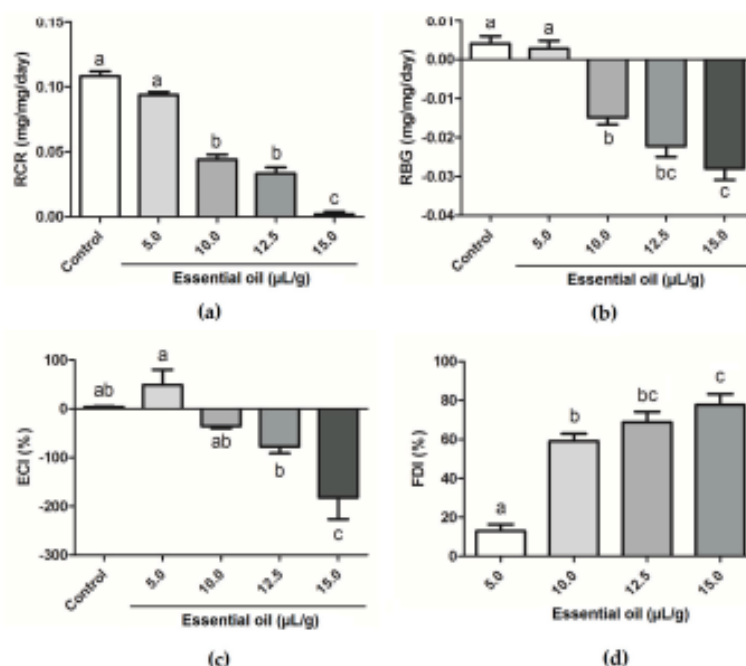


Fig. 2. Nutritional parameters of *S. zeamais* adults reared on artificial diet containing *C. pulegioides* essential oil (5.0, 10.0, 12.5 and 15.0 $\mu\text{L/g}$) for 7 days. (A) Relative consumption rate (RCR) indicates the amount of food consumed in mg per mg of insect body weight per day. (B) Relative biomass gain rate (RBG) indicates the amount of biomass in mg gained every day per (mg of initial body weight). (C) Efficiency of conversion of ingested food (ECI) indicates the proportion of ingested food incorporated by insects as biomass. (D) Feeding deterrence index (FDI). Each bar corresponds to the average \pm standard error of mean (SEM) of two independent experiments performed with five replicates. Different letters indicate significant differences ($p < 0.05$) among treatments.

Table 2
In vitro effect of *C. pulegioides* essential oil on the activity of some digestive enzymes of *S. zeamais*.

Enzyme	Control (Gut extract)	Test (Essential oil + Gut extract)	p-value	Effect
Exoglucanase (U/mg)	0.197 \pm 0.0178	0.364 \pm 0.0124	<0.0001	+84.77%
Endoglucanase (U/mg)	0.145 \pm 0.0024	0.157 \pm 0.0011	0.0025	+8.28%
α -amylase (U/mg)	0.049 \pm 0.0012	0.225 \pm 0.0016	<0.0001	+359.18%
β -D-xylanase (U/mg)	0.213 \pm 0.0021	0.282 \pm 0.0040	<0.0001	+33.39%
Trypsin (mU/mg)	0.423 \pm 0.0185	0.086 \pm 0.0266	<0.0001	-79.67%

Values represent mean \pm standard error of the mean (SEM). A $p < 0.05$ indicates significant difference between control and test according to Student's *t*-test.

observed that there was a significant increase in the mortality of soldiers and workers after 7 and 6 h, respectively, in the highest concentration tested. All concentrations evaluated significantly reduced the survival of workers and soldiers, except the concentration of 0.2 $\mu\text{L/mL}$ of air, which was not efficient in inducing soldier mortality.

3.5. Contact toxicity and effect of *C. pulegioides* essential oil on the behavior of *N. corniger* workers

Contact toxicity of *C. pulegioides* essential oil on *N. corniger* workers was evaluated, and the concentration of 0.4 $\mu\text{L}/\mu\text{L}$ and the neat oil caused mortality significantly faster ($F_{3,44}$: 32.89; $p < 0.0001$) in an average time of 125.2 \pm 28.2 s and 29.64 \pm 2.22 s, respectively. The

concentrations of 0.1 and 0.2 $\mu\text{L}/\mu\text{L}$ caused mortality in an average time of 87.5 \pm 12.70 min (5250 \pm 762 s) and 102.2 \pm 19.11 min (6132 \pm 1146 s), respectively.

The behavioral action of *N. corniger* workers under the influence of *C. pulegioides* essential oil was also evaluated. After contact with the oil (0.2 $\mu\text{L}/\mu\text{L}$), workers showed a significant ($p < 0.0001$) increase in the average number of self-cleaning: 1.00 \pm 0.27 in control and 7.25 \pm 0.75 in the test. The workers exposed to the oil showed a mean of 1.75 \pm 0.17 falls while no falls were recorded for the control. An increase in agitation was also observed in the first 30 s after applying the essential oil, followed by lethargy and fall.

4. Discussion

The *C. pulegioides* leaf essential oil studied here was composed by 10 oxygenated monoterpenes, 1 non-oxygenated monoterpene, 4 oxygenated sesquiterpenes, and 3 sesquiterpenes. The oxygenated monoterpenes accounted for 77.48% of the oil composition. In difference to our results, other studies reported the presence of different major compounds in the chemical composition of essential oils from *C. pulegioides* leaves. Rocha et al. (2021) observed the predominance of monoterpenes with major components *trans*-chrysanthemil acetate (27.05%), α -terpinene (19.21%), *p*-cymene (12.27%), γ -terpinene (9.51%), myrcene (3.65%) and eucalyptol (3.33%). Castro et al. (2020) reported a major chemical composition of *p*-cymene (23.13%), ascaridole (22.50%), α -terpinene (9.32%) and camphor (8.26%). The differences observed in the chemical composition may be related to the extraction method, collection site, time and season of the year, soil type, availability of water and nutrients, plant chemotype or plant age (Gonçalves and Guazzelli, 2015; André et al., 2018; Dobhal et al., 2024).

The results from ingestion toxicity assay suggest that the essential oil

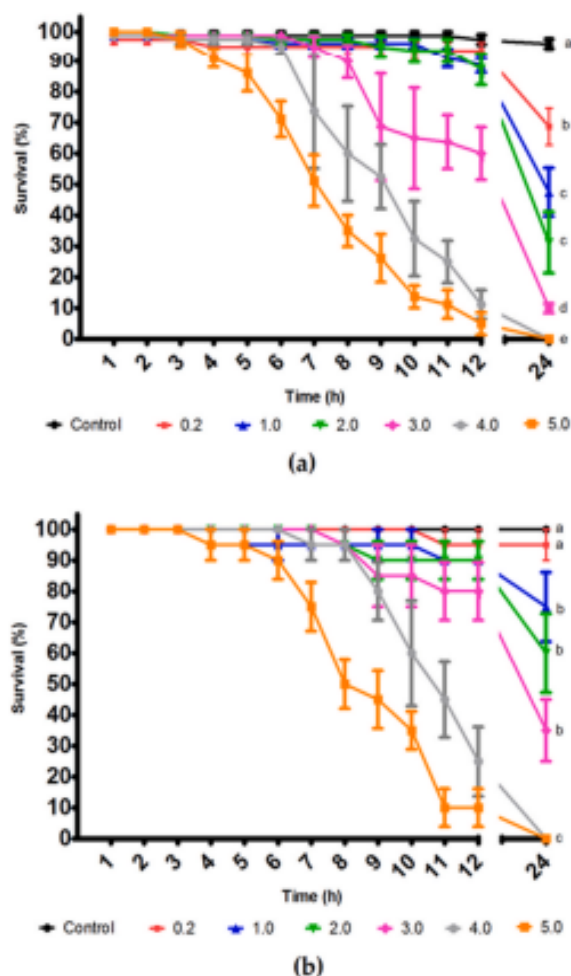


Fig. 3. Fumigant effect of *C. pulegioides* essential oil (0.2, 1.0, 2.0, 3.0, 4.0, and 5.0 $\mu\text{L}/\text{mL}$ air) on the survival of *N. corniger* workers (a) and soldiers (b) when exposed for a time interval from 1 h to 24 h. Different letters indicate significant differences ($p < 0.05$) between treatments regarding the survival rate at 24th day.

of *C. pulegioides* contains anti-nutritional compounds capable of reducing the rates of ingestion, digestion and/or absorption of food by the insect, affecting the acquisition of nutrients, leading them to metabolize their nutritional reserves to meet energy and thus suffering loss of their biomass. Lira et al. (2015) studied toxicity by ingestion of an essential oil from *Alpinia purpurata* (Vieill.) K. Schum. Inflorescence on *S. zeamais* and observed that RBG and ECI were affected, but there was no change in RCR. Ribeiro et al. (2020) observed that the essential oil of *Croton radophianthus* Müll. Arg. Leaves in *S. zeamais* caused an increase of RCR and no reduction in RBG and ECI. Here, the essential oil of *C. pulegioides* leaves also showed toxicity when ingested; however, unlike the studies mentioned, it caused a reduction in RCR, RBG and ECI, with the two last parameters becoming negative. Similarly, the essential oils from inflorescences of *Etilingera elatior* (Jack) R.M.Sm. and leaves of *Piper corcovadensis* (Miq.) C. DC. impaired these three nutritional parameters on *S. zeamais* adults and led to negative values of RBG and ECI (Pimentel et al., 2022, 2023).

The insecticidal activity and anti-nutritional effects of the essential oil from *C. pulegioides* leaves may be related to its main compounds (p-cymene, ascaridole, α -terpinene and camphor) and possible synergistic,

additive or antagonistic relationships among them (Faria et al., 2023). According to Borges and Amorim (2020), terpenes are one of the classes of secondary compounds that have a strong insecticidal action. Viegas-Júnior (2003), Moraes and Marinho-Prado (2016) and Liao et al. (2017) also highlighted that many terpenes delay development, cause damage to maturation, reduce reproductive capacity and suppress appetite, which can lead to insect death due to starvation or direct toxicity.

Previous studies evaluated the effect of a *C. pulegioides* leaf essential oil on six different populations of *S. zeamais*; a fumigant effect was observed with LC_{50} varying between 25.69 and 44.07 $\mu\text{L}/\text{L}$ of air (Santos et al., 2022) and contact toxicity ranging between 4.21 and 6.02 $\mu\text{L}/20$ g of corn (Santos et al., 2019). The results of the present work, in addition to these previous reports, highlight the biotechnological potential of this oil for the creation of an effective bioinsecticide active by ingestion, fumigation and contact, proving to be an excellent strategy for population control of *S. zeamais*.

Our results suggest that *C. pulegioides* essential oil may promote a metabolic imbalance during the digestive processes of *S. zeamais*. It is known that an excessive generation of cellobiose (a product of endoglucanase and exoglucanase actions) can inhibit the process of cellulose hydrolysis, for example (Gusakov et al., 1985). However, the possible consequences of hyperactivity of carbohydrases in *S. zeamais* gut need to be investigated in depth in future studies. The *in vitro* effects of other essential oils on digestive enzyme activities of *S. zeamais* adults have been reported. Pimentel et al. (2022) showed that a *P. corcovadensis* leaf essential oil and its major component 1-butyl-3,4-methylenedioxybenzene (BMDB) can inhibit trypsin-like enzymes. Unlike the *C. pulegioides* oil, the *P. corcovadensis* and BMDB (Pimentel et al., 2022) as well as the essential oil from *E. elatior* inflorescence and its major compounds dodecanol and dodecanal (Pimentel et al., 2023) inhibited amylase activity. Molecular docking studies have demonstrated that essential oil components can bind to the structure of insect enzymes, such as *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae) amylase (Silva et al., 2023) and *Ephestia kuehniella* (Lepidoptera: Pyralidae) amylase (Amara et al., 2024). However, data regarding these issues for *S. zeamais* enzymes and essential oils are not available. It should be highlighted that *in vivo* studies can yield different data because insects can respond to the presence of insecticides in their gut by releasing different sets of isozymes.

The fumigation toxicity results against *N. corniger* indicate that the essential oil of *C. pulegioides* efficiently penetrated the insects through the spiracles, causing rapid neurotoxic action and consequently insect mortality. Similar results were obtained by Santos et al. (2020), who observed the fumigation toxicity of essential oils from *Lippia thymoides* Mart. & Schauer and *L. lasiocalycina* Cham., which was attributed to terpenes. According to Jankowska et al. (2017), substances originated from secondary metabolism, such as terpenes, can act on the nervous system of insects, mainly affecting the activity of the acetylcholinesterase enzyme. Terpenes can also have a toxic effect on other neuro-modulators, such as gamma-aminobutyric acid (GABA), octopamine and tyramine (Enan, 2005; Santos-Junior et al., 2020). Lima et al. (2013) stated that the higher mortality of workers treated with different essential oils was due to a less sclerotized exoskeleton in comparison with soldiers, which facilitates the penetration of the oil. The rapid contact effect of *C. pulegioides* essential oil on the survival of *N. corniger* workers may also have occurred due to rapid penetration of the essential oil through the insect cuticle.

Just like the essential oil of *C. pulegioides*, other essential oils showed contact toxicity against *N. corniger*. The essential oil of *Aristolochia trilobata* L. (2.04 and 2.03 $\mu\text{g}/\text{mg}$) caused 90% mortality after 11 h of experiment (Santos, 2016) and the essential oil of *Cymbopogon winterianus* Jowitt ex Bor (0.2 and 0.3%) caused significant mortality after 24 h of testing (Soares et al., 2008). However, the effects of *C. pulegioides* essential oil on the survival of *N. corniger* were more efficient, inducing mortality at lower concentration and in a faster way.

The behavioral change observed in the present study may indicate that the essential oil influenced the nervous system of the *N. corniger* workers. According to Barbieri et al. (2007), in social insects, it is common to observe self-cleaning and allo-grooming behaviors. Self-cleaning action, observed in workers treated with *C. pulegioides* essential oil, may have caused the workers to ingest the essential oil and this may have led to faster mortality.

The promising insecticidal effects of *C. pulegioides* essential oil stimulate approaches to possible scaled-up production. *C. pulegioides* is a shrub and its growth in vegetation houses, agroforestry systems, and biofactories for seedling production, among other possibilities, can be studied. In addition, the *in vitro* production in cultures and bioreactors can be considered. Krol et al. (2023) studied the production of essential oil in microshoot cultures of *Salvia apiana* Jeps. and reported that stationary cultures accumulated 1.27% essential oil while scaled-up evaluation in RITA bioreactor yielded 1.1% oil as well as a temporary immersion system and a custom made spray bioreactor yielded 18 and 19 g/L dry weight. These yield values are near to that obtained for *C. pulegioides* essential oil (0.91%). In addition, the yield of *C. pulegioides* essential oil is higher than that of rose oil, which production requires 4000 kg of rose petals to produce 1 kg of oil (Lubbe and Verpoorte, 2011). Importantly, safety evaluations for the environment (e.g. fish, invertebrates, algae, microorganisms) and mammals need to be evaluated since safety data for this oil are scarce.

5. Conclusions

The essential oil from *C. pulegioides* leaves is mainly composed of monoterpenes and sesquiterpenes and has been shown to be a potent inducer of mortality in *S. zeamais* and *N. corniger*. In *S. zeamais*, it affected food intake and digestion. It rapidly induced mortality when inhaled by *N. corniger* workers and soldiers as well as affected behavior of worker termites. Rapid toxic action is a desired characteristic for insecticides, which makes *C. pulegioides* essential oil a promising compound to be applied as an alternative in the management of *S. zeamais* and *N. corniger*.

CRedit authorship contribution statement

Patryck Ermerson Monteiro dos Santos: Writing – original draft, Visualization, Validation, Methodology, Investigation, Formal analysis, Data curation, Conceptualization. Thiago Henrique Napoleão: Writing – review & editing, Validation, Software, Resources, Methodology, Funding acquisition, Formal analysis. Amanda Vieira de Barros: Methodology, Investigation, Data curation. Renata Mendonça Araújo: Visualization, Validation, Methodology, Investigation, Formal analysis, Data curation. Matheus Cavalcanti de Barros: Methodology, Investigation, Data curation. Carlos Romero Ferreira de Oliveira: Methodology, Investigation, Funding acquisition, Conceptualization. Maria Betânia Melo de Oliveira: Visualization, Validation, Methodology, Funding acquisition. Maria Lígia Rodrigues Macedo: Visualization, Validation, Methodology, Investigation, Funding acquisition. Ana Patrícia Silva de Oliveira: Writing – review & editing, Visualization, Validation, Supervision, Project administration, Methodology, Investigation, Funding acquisition, Formal analysis, Conceptualization. Thâmarah de Albuquerque Lima: Writing – review & editing, Visualization, Validation, Supervision, Project administration, Methodology, Investigation, Funding acquisition, Formal analysis, Conceptualization. Patrícia Maria Guedes Paiva: Writing – review & editing, Visualization, Validation, Supervision, Resources, Project administration, Funding acquisition, Formal analysis, Conceptualization.

Declaration of competing interest

The authors declare that they have no known competing financial interests or personal relationships that could have appeared to influence

the work reported in this paper.

Acknowledgments

This research was funded by the Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq, 407192/2018-2), the Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES, Finance Code 001) and the Fundação de Amparo à Ciência e Tecnologia do Estado de Pernambuco (FACEPE, APQ-0108-2.08/14, APQ-1491-2.08/22).

Data availability

Data will be made available on request.

References

- Adams, R.P., 2007. Identification of Essential Oil Components by Gas Chromatography/mass Spectrometry, fourth ed. Allured Publ., Carol Stream.
- Amara, F.B., Akermi, S., Driss, F., Marques, H.C., Costa, N., Smaoui, S., Melloul, L., Bejaï, S., Jemli, S., 2024. Exploring the bio-insecticidal activity of *Eucalyptus globulus* essential oil/ β -cyclodextrin inclusion complexes: *in vitro* and *in silico* assessment against *Ephestia kuehniella* larvae. *Pestic. Biochem. Physiol.* 202, 106917.
- André, W.P.P., Ribeiro, W.L.C., Oliveira, L.M.B.D., Macedo, L.T.F., Rondan, F.C.M., Bevilacqua, C.M.L., 2018. Essential oils and their bioactive compounds in the control of gastrointestinal nematodes of small ruminant. *Acta Sci. Vet.* 46, 1–14.
- Bacci, L., Lima, J.K., Araújo, A.P.A., Blank, A.F., Silva, L.M., Santos, A.A., Santos, A.C.C., Alves, P.B., Picano, M.C., 2015. Toxicity, behavior impairment, and repellence of essential oils from pepper-marmarin and patchouli to termites. *Entomol. Exp. Appl.* 156, 66–76.
- Barbieri, R.F., Furti, L.C., Fujihara, R.T., Carlos, A.A., 2007. Dye and insecticide flow among leaf eating ant Workers. *Biotropica* 60, 378–377.
- Barney, R.J., Sedláček, J.D., Siddiqui, M., Price, B.D., 1991. Quality of stored corn (maize) as influenced by *Sitophilus zeamais* Motsch. and several management practices. *J. Stored Prod. Res.* 27, 225–237.
- Barwa, S.A., Ofori, E.S., Osae, M., Avicor, S.W., Owusu, E.O., 2022. Susceptibility of *Sitophilus zeamais* (Coleoptera: Curculionidae) to selected stored product insecticides in the Central region of Ghana. *J. Agric. Food Res.* 9, 1–6.
- Bernfield, P., 1965. Amylase, α and β . In: Colowick, S.P., Kaplan, N.O. (Eds.), *Methods in Enzymology*, 1. Academic Press, New York, pp. 149–158.
- Borges, L.P., Amarim, V.A., 2020. Metabólitos secundários de plantas. *Rev. Agrocienc.* 11, 54–67.
- Botello-Ojeda, A.G., Juárez, Z.N., Tepale, N., Rivera-Márquez, J.A., Conde-Hernández, L.A., 2024. Chemical composition, antioxidant activity and toxicity of the essential oil from *Clinopodium mercurianum*. *Nat. Prod. Res.* <https://doi.org/10.1080/14786419.2023.2253969>.
- Boulogne, I., Constantino, R., Amman, N., Falkowski, M., Rodrigues, A.M.S., Houli, E., 2017. Ecology of termites from the genus *Nasutitermes* (Termitidae: nasutitermitinae) and potential for science-based development of sustainable pest management programs. *J. Pest. Sci.* 90, 19–37.
- Caneppelle, M.A.B., Caneppelle, C., Lazzari, F.A., Lazzari, S.M.L., 2003. Correlation between the infestation level of *Sitophilus zeamais* Motschulsky, 1855 (Coleoptera, Curculionidae) and the quality factors of stored corn, *Zea mays* L. (Poaceae). *Rev. Bras. Entomol.* 47, 625–630.
- Cartão, S.L., Almeida-Souza, M.M., Albuquerque, U.P., 2010. Medicinal plants with bioprospecting potential used in semi-arid northeastern Brazil. *J. Ethnopharmacol.* 131, 326–342.
- Costa, K.N.D.C., Chagas, A.C.D.S., Costa-Júnior, L.M., Camilo, K.M., Brito, E.S.D., Rodrigues, T.H.S., Andrade, L.M., 2020. Acaricidal potential of volatile oils from *Croton* species on *Rhipicephalus microplus*. *Rev. Bras. Farmacogn.* 29, 811–815.
- Debjani, D., Prakash, S., 1990. Assessment of qualitative losses due to *Sitophilus oryzae* Linn. in different maize varieties in storage. *J. Entomol. Res.* 14, 173–188.
- Dohal, P., Puri, V.K., Chandra, S., Rawat, P., Prasad, P., Bhanderi, U., Trivedi, V.L., Nautiyal, M.C., 2024. Climate-induced changes in essential oil production and terpene composition in Alpine aromatic plants. *Plant Stress* 12, 1–9.
- Enan, E.E., 2005. Molecular response of *Drosophila melanogaster* tyramine receptor cascade to plant essential oils. *Insect Biochem. Mol. Biol.* 35, 309–321.
- Faria, J.M.S., Cavaco, T., Gonçalves, D., Barbosa, P., Teixeira, D.M., Monteiro, C., Inácio, M.L., 2023. First report on the synergistic interaction between essential oils against the pine wood nematode *Bursaphelenchus xylophilus*. *Plants* 12, 2438.
- Ferreira, H.A., Camara, C.A., 2017. Chemical composition and bioactivity of peel oils from *Citrus aurantifolia* and *Citrus reticulata* and enantiomers of their major constituent against *Sitophilus zeamais* (Coleoptera: Curculionidae). *J. Stored Prod. Res.* 73, 30–36.
- Gazal, V., Bailex, O., Viana-Bailex, A.M., 2023. Salivary gland substances of the arboreal termite *Nasutitermes corniger* induce worker aggregation and gnawing of food substrate. *Entomol. Exp. Appl.* 171, 343–349.
- Gonçalves, A., Guazzelli, M.J., 2015. Agrofloresta e óleos essenciais. Centro Ecológico Ipe – Serra.
- Goni, M.L., Garón, N.A., Herrera, J.M., Strumia, M.C., Andreatta, A.E., Martini, R.E., 2017. Supercritical CO₂ of LDPE films with terpene ketones as biopesticides against corn weevil (*Sitophilus zeamais*). *J. Supercrit. Fluids* 122, 18–26.

- González-Coloma, A., Bailen, M., Díaz, C.E., Fraga, B.M., Martínez-Díaz, H., Zúñiga, G.B., Centeno, R.A., Cabrera, R., Barón, J., 2012. Major components of Spanish cultivated *Artemisia absinthium* populations: antifeedant, antiparasitic, and antioxidant effects. *Ind. Crops Prod.* 39, 401–409.
- Gupta, I., Singh, R., Mathur, S., Sharma, M., Grewal, K., Singh, H.P., Batish, D.R., 2023. Plant essential oils as biopesticides: applications, mechanisms, innovations, and constraints. *Plants* 12, 2916.
- Gusakov, A.V., Sinityn, A.P., Gerasimov, V.B., Savitskiy, R.Y., Stepanovich, Y., 1985. A product inhibition study of cellulases from *Trichoderma longibrachiatum* using dyed cellulose. *J. Biotechnol.* 3, 167–174.
- Jankowska, M., Rogalska, J., Wysocka, J., Staniewicz, M., 2017. Molecular targets for components of essential oils in the insect nervous system: a review. *Molecules* 22, 34.
- Kakade, M.L., Arzoo, R.L., Liener, I.E., Walzel, P.E., 1969. Unavailability of cystine from trypsin inhibitors as a factor contributing to the poor nutritive value of navy beans. *J. Nutr.* 99, 34–42.
- Karaborklu, S., Ayvaz, A., 2023. A comprehensive review of effective essential oil components in stored-product pest management. *J. Plant Dis. Prot.* 130, 449–481.
- Koranyi, D., Egger, M., Ruch, A., Szabo, B., Batary, F., 2022. Urbanization hampers biological control of insect pests: a global meta-analysis. *Sci. Total Environ.* 834, 1–8.
- Krol, A., Kuczkiewicz, A., Gościński, M., Naczek, A.M., Zabiegalski, B., Gościński, J., Graczyk, F., Zabłotni, D., Bucinski, A., Łurkiewicz, M., 2023. Evaluation of the yield, chemical composition and biological properties of essential oil from biosector-grown rubus of *Salvia spicata* microhabitat. *Sci. Rep.* 13, 7141.
- Li, Y., Yin, Q., Ding, M., Zhou, F., 2009. Purification, characterization and molecular cloning of a novel endo-beta-1, 4-glucanase AC-EG65 from the mollusc *Argulus*. *Comp. Biochem. Physiol.* 153, 149–156.
- Lima, M., Xiao, J.J., Zhou, L.J., Yao, X., Yang, F., Hua, H.M., Wu, X.W., Cao, H.Q., 2017. Chemical composition, insecticidal and biochemical effects of *Melaleuca eucalyptia* essential oil on the *Helicoverpa armigera*. *J. Appl. Entomol.* 141, 721–728.
- Lima, J.K., Albuquerque, E.L., Santos, A.C.C., Oliveira, A.P., Araújo, A.P.A., Blank, A.F., Arrigoni-Blank, P.B., Santos, D.A., Bocci, L., 2013. Bioactivity of some plant essential oils against the termite *Nasutitermes corniger* (Isoptera: Termitidae). *Ind. Crops Prod.* 47, 240–251.
- Lima, T.A., Damilola, L.P., Oliveira, A.P.S., Guedes, C.C.S., Souza, S.O., Sá, R.A., Zangali, B.B., Napoleão, T.H., Paiva, P.M.G., 2018. Binding targets of termiticidal lectins from the bark and leaf of *Myrciobium urundeu* in the gut of *Nasutitermes corniger* workers. *Pest Manag. Sci.* 74, 1500–1509.
- Lira, C.S., Pontual, E.V., Albuquerque, L.P., Paiva, L.M., Paiva, P.M.G., Oliveira, J.V., Napoleão, T.H., Navarro, D.M.A.F., 2015. Evaluation of the toxicity of essential oil from *Alpinia purpurata* infusions to *Sitophilus zeamais* (maize weevil). *Crop Protect.* 71, 95–100.
- Liu, Z.L., Guo, S.H., Ho, S.H., 2007. Screening of Chinese medicinal herbs for bioactivity against *Sitophilus zeamais* Motschulsky and *Tribolium castaneum* (Herbst). *J. Stored Prod. Res.* 43, 290–295.
- Lowry, O.H., Rosebrough, N.J., Farr, A.L., Randall, R.J., 1951. Protein measurement with Folin phenol reagent. *J. Biol. Chem.* 193, 265–275.
- Łurkiewicz, B., Majak, A., Jankowska, M., Kaczynski, P., Hrynko, I., Rutkowska, E., Szabłowski, J., Borowicz, A., 2016. Toxicological studies for adults and children of insecticide residues with common mode of action (MoA) in pre-, intra-, and post-harvest. *Sci. Total Environ.* 566/567, 144–156.
- Lulhe, A., Verpoete, R., 2011. Cultivation of medicinal and aromatic plants for specialty industrial materials. *Ind. Crops Prod.* 34, 785–801.
- Manpa, D.M., Rocha, J.F., Almeida, T.S., Mira, E.F., 2021. Essential oils of Coatings plants with delictary action for *Anolis aeneus*: a Review. *Soc. Ariz. J. Bot.* 143, 69–78.
- Martins, J.C., Silva, E.M., Silva, R.K., Ferreira, S.B., Picano, M.C., 2022. Crypsin oil and neem extract can be a potential alternative for the behavioral control of *Sitophilus zeamais*. *Braz. J. Biol.* 84, 1–6.
- Martins, J.K.S., Oliveira, A.F.M., Almeida, J.S., 2020. Variação sazonal dos redes de interações planta-herpídeos em Floresta Tropical Sazonalmente Seca. *Rev. Bras. Geogr.* 13, 2671–2713.
- Melo, B.A., Molina-Rugama, A.J., Haddi, K., Leite, D.T., Oliveira, E.E., 2015. Repellency and bioactivity of Coating (lime plant) powders against *Callosobruchus maculatus* (Coleoptera: chrysomelidae: Bruchinae). *Fla. Entomol.* 98, 417–423.
- Moraes, L.A.S., Marinho-Prado, J.S., 2016. Plantas com atividade inseticida. In: Halfeld-Vieira, B.A., Marinho-Prado, J.S., Nochet, K.L., Monardi, M.A.B., Bettini, W. (Eds.), *Defensores agrícolas naturais: uso e perspectivas*, first ed. Endergra, Brasília, pp. 542–593.
- Napoleão, T.H., Belmonte, B.R., Pontual, E.V., Albuquerque, L.P., Sá, R.A., Paiva, L.M., Coelho, L.C.B.B., Paiva, P.M.G., 2013. Defoliation effects of *Myrciobium urundeu* leaf extract and lectin on the maize weevil, *Sitophilus zeamais* (Coleoptera, Curculionidae). *J. Stored Prod. Res.* 54, 26–33.
- Nouach, G.E., Alasmont, S., Alasmont, A.A., Allogami, B.Z., Shawar, D.M., Fadl, A.E., 2023. Bio-efficacy of *Salvia officinalis* essential oil, neem oil and monoterpenes components as eco-friendly green insecticides for controlling the granary weevil. *Ind. Crops Prod.* 204, 117298.
- NIST/EPA/NIB Mass Spectral Library (NIST 11), 2012. Mass Spectral Database for Windows, Standard Reference Data Program, U.S. Department of Commerce. National Institute of Standards and Technology, Gaithersburg.
- Oliveira, A.P., Santana, A.S., Santana, E.D., Lima, A.P.S., Faria, R.R., Nunes, R.S., Lima, A.D., Blank, A.F., Araújo, A.P.A., Cláudio, P.F., Barci, L., 2017. Nanofiltration prototype of the essential oil of *Lippia sidoides* and thymol to population management of *Sitophilus zeamais* (Coleoptera: Curculionidae). *Ind. Crops Prod.* 107, 198–205.
- Oliveira, M.A., Arruda, M.G.M., Silva, N.F., Cruz, R.C.D., Barros, S.C.L., Silva, M.S., Souza, T.G.S., Oliveira, E.B., Chagas, C.A., Aguiar, J.S., Oliveira, A.M., Jorge, B.J.B., Souza, L.A., 2024. Cytotoxic, acute oral toxicity, genotoxic and mutagenic assessment of the essential oil from fresh leaves of *Croton uruguayensis* (Kunt.). *J. Ethnopharmacol.* 330, 118206.
- Paugamart, F.J.R., Delgado, L.F., 2016. Ropelentes de mosquitos, eficácia para prevenção de doenças e segurança do uso na gravidez. *Vigil. Sanit. Debate* 4, 97–104.
- Pimentel, C.S., Albuquerque, B.N.L., Rocha, S.R.L., Dutra, R.A., Silva, D.G.R., Santos, P.H.G., Vieira, G.J.S.G., Oliveira, H.V.S., Paiva, P.M.G., Napoleão, T.H., Navarro, D.M.A.F., 2023. Insecticidal potential of essential oil from inflorescences of *Althaea* elater and its major constituents against *Sitophilus zeamais*. *Ind. Crops Prod.* 203, 117154.
- Pimentel, C.S.L., Albuquerque, B.N.L., Rocha, S.R.L., Silva, A.S., Silva, A.R.V., Bellini, R., Agra-Neto, A.C., Aguiar, J.C.R.O.F., Paiva, P.M.G., Pinheiro, J.L., Napoleão, T.H., Navarro, D.M.A.F., 2022. Insecticidal activity of the essential oil of *Piper caribaeum* leaves and its major compound (1-buty-3,4-methylenedioxybenzene) against the maize weevil, *Sitophilus zeamais*. *Pest Manag. Sci.* 78, 1008–1017.
- Popescu, L.E., Gostin, L.N., Blüder, C.F., 2024. An overview of the mechanisms of action and administration technologies of the essential oils used as green insecticides. *Agriflow*, 6, 1195–1217.
- Rozendo-Teixeira, P., Dusi, R.G., Jimenez, P.C., Espindola, L.S., Costa-Lafont, L.V., 2022. What can we learn from commercial insecticides? Efficacy, toxicity, environmental impact, and future developments. *Environ. Pollut.* 300, 119883.
- Ribeiro, L.A.T.A., Silva, R., Silva, A.G., Milet-Pinheiro, P., Paiva, P.M.G., Navarro, D.M.A.F., Silva, M.V., Napoleão, T.H., Carmo, M.T.S., 2020. Chemical characterization and insecticidal effect against *Sitophilus zeamais* (maize weevil) of essential oil from *Croton rubiophorus* leaves. *Crop Protect.* 129, 105043.
- Rocha, R.R., Mano, M.N.C., Gueiros, J.A.P., Cavalcante, R.M.B., Melo, R.S., Azevedo, A.M.A., Pereira, A.M.G., Lopes, P.H.B., Rodrigues, T.H.S., Bandeira, P.N., Gomes, G.A., Camacho-Junior, F.E.A., Carneiro-Torres, D.S., Silva, J.B.V., Carneiro, V.A., 2021. Comparative study of the chemical composition, antibacterial activity and synergic effects of the essential oils of *Croton tetrandrus* Baill. and *C. polyglossus* Baill. against *Staphylococcus aureus* isolates. *Mirid. Pathog.* 156, 104934.
- Rosa, J.S., Oliveira, L., Souza, R.M.O.F., Erculise, C.B., Fernandes-Ferreira, M., 2020. Bioactivity of some Apocynaceae essential oils and their constituents against *Sitophilus zeamais* (Coleoptera: Curculionidae). *Bull. Entomol. Res.* 110, 406–416.
- Rossi, M.K., Su, N.Y., 2012. Managing social insects of urban importance. *Annu. Rev. Entomol.* 57, 355–375.
- Santos, A.A., 2016. Óleos essenciais e seus constituintes para o controle de *Cryptotermes brevis* e *Nasutitermes corniger*: vias de exploração e respostas comportamentais. Universidade Federal de Sergipe.
- Santos, A.A., Oliveira, B.M.S., Melo, C.R., Lima, A.P.S., Santana, E.D.R., Blank, A.F., Picano, M.C., Araújo, A.P.A., Castaldi, P.F., Barci, L., 2017. Sub-lethal effects of essential oil of *Lippia sidoides* on driedwood termite *Cryptotermes brevis* (Blattellidae: termitidae). *Environ. Sci. 145*, 436–441.
- Santos, D.R., Oliveira, L.M., Lucchese, A.M., Espelito, A.F., Cruz, J.D., Lordeiro, M.S., 2020. Insecticidal activity of essential oils of species from the genus *Lippia* against *Nasutitermes corniger* (Munchinsky) (Isoptera: Termitidae). *Sociobiology* 67, 292–300.
- Santos, L.G.P., Costa, B.A.M., Almeida, W.A., Silva, T.N., Coutinho, G.S., Napoleão, T.H., Porto, T.S., Pontual, E.V., 2024. Plant-based insecticides for control of *Anolis aeneus*, *Sitophilus zeamais* and *Nasutitermes corniger*: a review and bibliometric analysis. *Adv. Res.* 25, 150–174.
- Santos, P.É.M., Oliveira, C.R.F., Moraes, C.H.C., 2022. Susceptibilidade de populações de *Sitophilus zeamais* ao óleo essencial de folhas de *Croton polyglossus*. *Acta Biol. Parana.* 51, 1–10.
- Santos, P.É.M., Silva, A.B., Lira, C.R.J.M., Moraes, C.H.C., Oliveira, C.R.F., 2019. Toxicidade por contato do óleo essencial de *Croton polyglossus* Baill sobre *Sitophilus zeamais* Munchinsky. *Rev. Caatinga* 32, 329–335.
- Santos-Junior, C.F., Santos, M., Soares, J.B.C., 2020. A evolução no controle de insetos. *Rev. Agron. Bras.* 4, 1–3.
- Silva, A.C., Manpa, A.M., Figueiredo, M.B., Aguiar, J.C.R.O.F., Câmara, C.A.G., Moraes, M.M., Oliveira, A.P.S., Napoleão, T.H., Paiva, P.M.G., Aquino, T.M., Silva-Júnior, E.F., Crotti, A.E.M., Navarro, D.M.A.F., 2023. Larvicidal activity, enzyme inhibitory effect, and molecular docking by essential oil, hydrolate, aqueous extract, and major compounds from the leaves of *Eugenia uniflora* against *Anolis aeneus*. *Ind. Crops Prod.* 204, 117280.
- Silva, E.C., Vieira, D.D., Lorenz, L.V., 2017. Comparison of the insecticidal activity of *Chrysomelids* *ambrosioides* and *Azadirachta indica* in the control of *Sitophilus zeamais*. *Acta Agron.* 26, 554–559.
- Sinistola, C.M.O., Schenkel, E.P., Mello, J.C.P., Menz, L., Petereck, P.R., 2017. Farmacognosia: Do Produto Natural Ao Medicamento, first ed. Porto Alegre. Artmed.
- Soares, C.G., Lemos, R.N.S., Cardoso, S.R.S., Medeiros, E.R., Araújo, J.R.G., 2008. Efeito de óleos e extratos aquosos de *Azadirachta indica* A. Juss e *Cymbopogon winterianus* Jovet sobre *Nasutitermes corniger* Motschulsky (Isoptera: Termitidae). *Amazonian J. Agric. Environ. Sci.* 50, 107–116.
- Soares, V.F.M., Silva, V.S.G., Rosa, A.C., Moraes, E.B., 2017. Termites (Insecta: blattellidae) buildings in urban located in the municipality of Seropédica. *R. Sci. Electron. Arch.* 10, 18–25.
- Sulathi, B., Pandey, A., Aryal, S., 2023. The impact of climate change on insect pest biology and ecology: implications for pest management strategies, crop production, and food security. *J. Agric. Food Res.* 14, 100733.
- Sulathi, T.A.A., Vusok, N.U., Pathoms, B., George, S.B., 2024. Investigating the insecticidal properties of essential oils extracted from wild turmeric (*Curcuma*

- aromatica salish) leaves waste against three key stored product pests. *Sustain. Chem. Pharm.* 38, 101482.
- Viegas-Júnior, C., 2003. Terpenos com atividade inseticida: uma alternativa para o controle químico de insetos. *Quim. Nova* 26, 390–400.
- Wood, T.M., Bhat, K.M., 1988. Methods for measuring cellulase activity. In: Wood, W.A., Kellogg, S.T. (Eds.), *Methods in Enzymology*, 160. Academic Press Inc., London, pp. 87–112.
- Xie, Y.S., Bodnaryk, R.P., Fields, P.G., 1996. A rapid and simple flour-disk bioassay for testing substances active against stored-product insects. *Can. Entomol.* 128, 865–875.

4.2 ARTIGO II

QUALIS – A4, FATOR DE IMPACTO – 2.6

Toxicon 251 (2024) 108147



Contents lists available at ScienceDirect

Toxicon

journal homepage: www.elsevier.com/locate/toxicon

Acute oral toxicity and genotoxicity assessment of the essential oil from *Croton pulegioides* Baill (Euphorbiaceae) leaves in mice

Patryck Êrmerson Monteiro dos Santos^a, Matheus Cavalcanti de Barros^a,
Amanda Vieira de Barros^a, Renata Mendonça Araújo^b, Amanda de Oliveira Marinho^a,
Anderson Arnaldo da Silva^c, Maria Betânia Melo de Oliveira^a, Talita Giselly dos Santos Souza^d,
Cristiano Aparecido Chagas^d, Thâmarah de Albuquerque Lima^a,
Leydianne Leite de Siqueira Patriota^a, Ana Patrícia Silva de Oliveira^a,
Thiago Henrique Napoleão^{a,*}, Patrícia Maria Guedes Paiva^{a,*}

^a Departamento de Bioquímica, Centro de Biociências, Universidade Federal de Pernambuco, Recife, Pernambuco, Brazil

^b Instituto de Química, Universidade Federal do Rio Grande do Norte, Natal, Rio Grande do Norte, Brazil

^c Departamento de Anatomia, Centro de Biociências, Universidade Federal de Pernambuco, Recife, Pernambuco, Brazil

^d Centro Acadêmico de Vitória, Universidade Federal de Pernambuco, Vitória de Santo Antão, Pernambuco, Brazil

ARTICLE INFO

Handling Editor: Ray Norton

Keywords:

Safety assessment
Toxic natural product
Volatile oil

ABSTRACT

Essential oils obtained from *Croton pulegioides* leaf are renowned for their biological activities; however, data on their toxicity are limited. Therefore, this study aimed to evaluate the acute oral toxicity and genotoxicity of a *C. pulegioides* leaf essential oil (CPLEO). Chemical characterization of CPLEO was conducted by gas chromatography coupled to mass spectrometry (GC-MS). In vitro assay was performed to verify the hemolytic capacity of the oil in mice erythrocytes. Next, an acute oral toxicity study was conducted on female mice at CPLEO doses of 2000, 1000, 500, 250, 100, and 50 mg/kg. Hematological, biochemical, and histopathological markers were assessed in mice from groups where no death occurred. Relative consumption of water and food and the weight of animals and their organs were also recorded. Finally, a genotoxicity analysis was performed using the micronucleus and comet assays. The extraction yield of CPLEO was 1.149% and its major compounds were ascaridole (23.18%), eucalyptol (17.20%), camphor (14.20%), p-cymene (7.91%), α -terpineol (4.69%), and isobornyl acetate (4.57%). CPLEO showed a hemolytic effect only at high concentrations (185.5–1000 mg/mL). It showed acute oral toxicity in mice with a LD₅₀ of 460.42 mg/kg. CPLEO (50–250 mg/kg) caused some significant changes in hematological and biochemical parameters. Histopathological evaluation indicated alterations in liver and kidneys but transaminases, urea and creatinine levels remained like the negative control. CPLEO administration impaired weight gain and reduced water and food consumption. Finally, it was not genotoxic by both comet and micronucleus tests. The results highlight the need for attention when choosing doses to evaluate the bioactivities of CPLEO.

1. Introduction

Plants produce chemical compounds from their secondary metabolism and some of them constitute the so-called essential oils (EOs), also denoted as volatile or ethereal oils (Mahajan et al., 2020). The versatility and biological activities of these volatile natural compounds have attracted attention in Pharmacology and Biotechnology (Simões

et al., 2017; Shanker et al., 2023). EOs have sparked interest as antimicrobial, anti-inflammatory, antioxidant, neuromodulator, and insecticide agents, for example (Bakkali et al., 2008; André et al., 2018; Campos et al., 2018; Bhavanirama et al., 2019; Welj et al., 2019; Bastilha et al., 2020).

The widespread and indiscriminate use of synthetic pesticides led to the establishment of resistant insect populations as well as severe

* Corresponding author.

** Corresponding author.

E-mail addresses: thiago.napoleao@ufpe.br (T.H. Napoleão), patricia.paiva@ufpe.br (P.M. Guedes Paiva).

<https://doi.org/10.1016/j.toxicon.2024.108147>

Received 27 August 2024; Received in revised form 17 October 2024; Accepted 19 October 2024

Available online 19 October 2024

0041-0101/© 2024 Elsevier Ltd. All rights are reserved, including those for text and data mining, AI training, and similar technologies.

damages to environment. EOs have several advantages over the use of synthetic insecticides, including biodegradability, low environmental impact and less toxicity to non-target living beings (Lozowicka et al., 2016; Tabarraei et al., 2019; Demeter et al., 2021). In addition, the chemical variety of EOs maximizes the number of molecular targets in insects and mitigates the emergence of resistance (Zimmermann et al., 2021).

Humans use EOs since ancient times due to their various biological activities (Bhavanirama et al., 2019; Álvarez-Martínez et al., 2021; Ni et al., 2021). However, these compounds may also have some level of toxicity to organisms (Stojanović et al., 2019). For instance, studies have revealed that the use of certain EOs can cause side effects such as gastrointestinal tract irritation, nausea, vomiting, diarrhea, kidney irritation, liver damage, headaches, dizziness, seizures, and respiratory arrest, as well as allergic reactions when in direct contact with the skin (Simões et al., 2017).

The genus *Croton* L. belongs to the Euphorbiaceae family and is found in tropical and subtropical America (Barrera et al., 2016; Bezerra et al., 2020; Oliani et al., 2021). Brazil is home for approximately 350 described species (Sodré and Silva, 2015; Silva et al., 2020), and 252 of these are endemic (Flora do Brasil, 2024). The EOs of *Croton* species contain various bioactive substances, with a particular emphasis on terpenes (Barrera et al., 2016). *Croton pulegioides* Baill., commonly known as “velaminho” or “velame”, can be found as herbs, sub-shrubs, and shrubs on rocky outcrops in Brazil (Flora do Brasil, 2024). In traditional medicine, the species is used to treat urinary, rheumatic, and dermatological problems. *C. pulegioides* is rich in secondary metabolites, especially monoterpenes and sesquiterpenes (Rocha et al., 2021).

Previous studies have shown that EOs from leaves of *C. pulegioides* had insecticidal action against various species of urban pests and/or disease vectors (Souza et al., 2016; Silva et al., 2019; Santos et al., 2019, 2022). However, there is a lack of data on the general safety of EOs from this plant. Hence, the aim of this study was to evaluate the acute oral toxicity and genotoxicity of a *C. pulegioides* leaf essential oil (CPLEO) in Swiss mice. Biochemical and hematological analysis as well as tissue microscopic examination were conducted.

2. Materials and methods

2.1. Plant material

Croton pulegioides leaves were collected during the morning at Triunfo city (7° 50' 26" S, 38° 6' 1" W), Pernambuco, Brazil. A voucher specimen was deposited (#S.S. Matos 104) at the *Herbário do Semiárido do Brasil* (HESBRA) of the *Unidade Acadêmica de Serra Talhada* (UAST) from the *Universidade Federal Rural de Pernambuco* (UFRPE). The study was registered (no. A20671D) in the *Sistema Nacional de Gestão do Patrimônio Genético e do Conhecimento Tradicional Associado* (SisGen).

2.2. Essential oil extraction

The leaves were dried in a stove at 40 °C and then ground using an industrial blender. Then, the leaf powder was placed in a round-bottom flask with distilled water, and hydrodistillation was conducted at 100 °C. Subsequently, in a separation funnel, the hydrodistillate was mixed with dichloromethane and the mixture was agitated. Once formed the water and oil-solvent phases, the oil-solvent mixture was dried using anhydrous Na₂SO₄ and transferred to a volumetric flask attached to a rotary evaporator to separate the EO and the solvent. Then, the collected CPLEO was stored in an amber bottle, hermetically sealed, and refrigerated to prevent alterations in physical and chemical characteristics. The extraction yield (Y%) was calculated using the following formula: $Y\% = (VO \times MO/MS) \times 100$, where VO = volume of oil (mL), MO = mass of 1 mL of oil (g) and MS = dry mass of leaves (g).

2.3. Chemical characterization

The CPLEO was analyzed using a gas chromatograph-mass spectrometer (GC-MS) on a QP 5050[®] instrument (Shimadzu, Kyoto, Japan), equipped with a non-polar capillary column Agilent DB-5ms (50 m × 0.25 mm × 0.25 μm). The oven temperature was set at 60 °C, increased at a rate of 4 °C/min until reaching 280 °C, and then held for 15 min. Helium was used as the carrier gas at a constant flow rate of 1 mL/min. The ionization source temperature was maintained at 280 °C, with an ionization energy of 70 eV, and mass spectra were recorded in the range of 10–400 m/z. The CPLEO sample was dissolved in dichloromethane and analyzed in triplicate. Individual components identification was performed by comparing the retention indices and fragmentation patterns with those in the instrument library, as well as with data found in the literature (Adams, 2007).

2.4. Animals

Swiss male and female mice (25–35g) aged between 5 and 8 weeks were obtained from the *Instituto Keizo Asami* (ILIKA) of the *Universidade Federal de Pernambuco* (UFPE) and acclimatized for 7 days in the *Laboratório de Experimentação Animal* at the *Departamento de Bioquímica* of the UFPE. The animals were kept in standardized conditions (12-h light/dark cycle and a temperature of 22 ± 2 °C). Water and commercial food (Labina, Purina, Brazil) were provided *ad libitum*. All experimental assays were approved by the Ethics Committee on Animal Use of the UFPE under the protocol no. 138/2022.

2.5. Hemolytic assay

The hemolytic activity of the CPLEO was assessed according to De-Qiang et al. (2011) with minor modifications. Blood from mice were collected by cardiac puncture in heparinized tubes and centrifuged at 1000 g for 10 min. Subsequently, the obtained erythrocytes underwent three washes with 0.9% (w/v) NaCl (saline solution) for 5 min at 1000 g. A 1.1% (v/v) erythrocyte suspension was prepared in saline solution. This suspension (0.25 mL) was incubated at 37 °C for 2 h with 0.35 mL of CPLEO dissolved in 1% (v/v) Tween 80 at concentrations of 1000, 750, 500, 375, 250, 187.5, 62.5, 31.25, and 15.62 mg/mL. Saponin and 1% Tween 80 were used as positive and negative controls, respectively. After incubation, the samples were centrifuged at 1000 g for 10 min and 200 μL of the supernatant was transferred to a 96-well microplate for determination of absorbance at 575 nm using a microplate reader. The results were used to calculate the percentage (%) of hemolysis compared to the positive control (100%). The concentration required to cause 50% hemolysis (HC₅₀) was calculated by linear regression.

2.6. Acute oral toxicity assay

Female mice (n = 3) were used in the acute toxicity assay. The treated groups received the CPLEO a single dose of 2000, 1000, 500, 250, 100, or 50 mg/kg of body weight via gavage, while the negative control group received saline solution (0.9% NaCl) via gavage. The starting dose of 2000 mg/kg was chosen according to the OECD protocol 423 since there are no reports on intoxication with *C. pulegioides* in the literature (i.e. available information suggests that mortality is unlikely). However, since animal death was observed (see 'Results and discussion'), the test continued by lowering the doses. In each assay, the animals were observed for behavioral signs of intoxication (Brito et al., 2023) during the first 2 h after treatment, and daily until the end of the experiment. The animals' body weight and water and food consumption were evaluated daily for 14 days. On the 14th day, the animals were anesthetized intraperitoneally with ketamine (77.3 mg/kg) and xylazine (13.3 mg/kg) for blood collection by cardiac puncture. The collected blood was placed in EDTA tubes for the evaluation of hematological parameters which included: red blood cells, hemoglobin, hematocrit,

Table 1Chemical composition of the *Croton pulegioides* leaf essential oil (CPLEO).

N°	Compounds	RT	IK-L	IK-S	%
1	Myrcene	8.621	990	984	1.75
2	α -phellandrene	8.996	1002	997	1.77
3	p-Cymene	9.574	1026	1019	7.91
4	Eucalyptol	9.764	1031	1026	17.20
5	γ -Terpinene	10.565	1059	1055	3.44
6	Linalool	11.78	1096	1099	3.26
7	Camphor	13.067	1146	1146	14.20
8	Terpinen-4-ol	14.036	1177	1182	2.48
9	α -Terpineol	14.435	1188	1196	4.69
10	Ascaridole	15.774	1237	1245	23.18
11	Isobornyl acetate	17.113	1285	1294	4.57
12	Isoscaridole	17.64	1303	1314	2.11
13	Caryophyllene	20.669	1419	1424	2.02
14	α -Humulene	21.535	1454	1456	4.23
15	Bicyclogermacrene	22.609	1500	1495	1.62
16	Spathulenol	24.592	1578	1568	2.64
17	Caryophyllene oxide	24.719	1583	1573	2.93
Total detected					100

RT: Retention time; IK-L: Literature Kovats Index; IK-S: Calculated Kovats Index.

mean corpuscular volume, mean corpuscular hemoglobin, mean corpuscular hemoglobin concentration, and total and differential leukocyte analysis using the MaxCell Vet 500 D automatic hematological analyzer and Olympus optical microscope. For the biochemical evaluation, the blood was transferred to a tube with a separating gel and then centrifuged (3,500 rpm for 10 min) to obtain the serum. The following parameters were then evaluated: albumin, alanine aminotransferase, aspartate aminotransferase, gamma-glutamyl transferase, total proteins, urea, creatinine, total cholesterol, and triglycerides using specific kits (Labtest Diagnóstica, Lagoa Santa, Brazil) and an automatic analyzer COBAS Mira Plus (Roche Diagnostics). The animals were then euthanized by intraperitoneally administering a lethal dose of ketamine (300 mg/kg) and xylazine (30 mg/kg) and spleen, heart, liver, lungs, kidneys, and brain were collected for histological analysis.

2.7. Genotoxicity assessment

The genotoxicity assessment was conducted using the comet assay and the micronucleus test. Male mice ($n = 5/\text{group}$) were divided into five groups: negative control (0.9% NaCl, per os), positive control (methotrexate, MTX, 20 mg/kg, i.p.) and CPLEO (per os) at 50, 100 and 250 mg/kg.

For the comet assay, a total of 60 μL of blood was collected from the tail by venous puncture 24 h after the application of treatments, and the alkaline version of the comet assay was performed (Singh et al., 1988). The analysis was performed using propidium iodide staining with a fluorescence microscope (Zeiss-Imager M2; Carl Zeiss AG, Jena, Germany). For each animal, 100 nucleoids were evaluated to observe the relationship between the length of the tail and the size of the comet's head. Each analyzed nucleoid was classified into one of five classes, where class 0 represents undamaged cells, class 1 represents cells with minor damage, class 2 represents cells with moderate damage, and class 3 represents cells with severe damage. The damage index (DI) was calculated based on the product of the number of cells in each class and the value of each class, according to the following formula: $DI = 0 \times (n. \text{class } 0) + 1 \times (n. \text{class } 1) + 2 \times (n. \text{class } 2) + 3 \times (n. \text{class } 3)$. The damage frequency (DF, %) was calculated based on the number of damaged cells in relation to undamaged cells (class 0) in each treatment using the following formula: $DF = [(\text{total number of nucleotides} - \text{number of class } 0 \text{ cells}) \times 100] / \text{total number}$.

For the micronucleus assay, tail blood (60 μL) was collected 48 h after the treatment application. Firstly, the microscope slides were washed with distilled water, then dipped in 70% alcohol, and placed in an 80 °C oven. Next, the heated slides were treated with acridine orange (1 mg/mL) using a glass rod and air-dried. Subsequently, a blood sample

Table 2Hemolytic activity of the essential oil from *C. pulegioides* leaves on mice erythrocytes.

Concentration (mg/mL)	Hemolysis (%)
1000	71.97 \pm 0.73
750	78.74 \pm 0.98
500	78.98 \pm 0.69
375	78.10 \pm 0.84
250	51.84 \pm 5.17
187.5	36.65 \pm 7.87
62.5	0 \pm 0
31.25	0 \pm 0
15.62	0 \pm 0

from each animal was placed on a microscope slide previously coated with acridine orange and covered with a coverslip to evenly spread the biological material (Eiji et al., 1992). Subsequently, the animals were euthanized by intraperitoneal administration of a lethal dose of ketamine (300 mg/kg) and xylazine (30 mg/kg).

2.8. Statistical analysis

Data were represented by mean \pm standard deviation (SD). Data normality was previously assessed using the Shapiro-Wilk test. Data were analyzed by one-way analysis of variance (ANOVA), followed by Bonferroni post-test using Prism GraphPad 7.0 software. P values ≤ 0.05 were considered statistically significant.

3. Results and discussion

Despite being renowned for its biological activities, the data on the toxicity of essential oils from *C. pulegioides* is limited. Here, we propose to evaluate the possible toxic effects of CPLEO in mice. The CPLEO extraction yield was 1.149% and its chemical composition is presented in Table 1. GC-MS analysis is the reference analytical technique for the identification and quantification of compounds in complex volatile organic mixtures, such as essential oils (Coutinho et al., 2009; Bajo-Fernández et al., 2024). The mass spectra and the retention index values are used as parameters in the GC qualitative analysis to identify the compounds present in the essential oil, indicating major and minor components as well as allowing the comparison of oils extracted from different specimens. GC-MS analyses of CPLEO allowed the identification of 17 constituents that represented 100% of the peak areas. The major compounds were ascaridole (23.18%), eucalyptol (17.20%), camphor (14.20%), p-Cymene (7.91%), α -terpineol (4.69%), and isobornyl acetate (4.57%).

CPLEO chemical composition was qualitatively comparable, at least with respect to the major constituents, to previous reports. Torres et al. (2008) analyzed the chemical composition of an EO of *C. pulegioides* leaves from two distinct locations. They found that the major compounds from one location were p-cymene (22.3%), ascaridole (17.0%), camphor (13.0%), and α -phellandrene (7.1%), while from the other location were ascaridole (33.9%), p-cymene (21.6%), α -terpinene (9.6%), and gamma-terpinene (6.8%). Carvalho et al. (2022) evaluated the chemical composition of a EO from *C. pulegioides* leaves with yield extraction of 0.27%. They observed that the EO contained ascaridole (47.99%), p-cymene (10.92%) and camphor (8.42%) as predominant compounds. The differences in concentrations and major compounds of EOs observed in this study, as well as in the cited studies, can be explained by the fact that the chemical composition of essential oils can vary due to numerous factors, whether physiological, environmental, or genetic (Sharmeen et al., 2021).

The CPLEO (187.5–1000 mg/mL) caused hemolysis of mice erythrocytes ranging from 36.65 to 78.98% (Table 2). However, no hemolytic effect was observed at lower concentrations (15.62–62.5 mg/mL). Vale et al. (2021) analyzed the hemolytic effect of the EO from *Croton*

Table 3

Body weight (g) and consumption of water (mL/animal/day) and food (g/animal/day) of mice treated orally with a single dose (250, 100 or 50 mg/kg) of the essential oil from *C. pulegioides* Baill leaves.

Parameters	NC	250 mg/kg	100 mg/kg	50 mg/kg
Weight gain (g)	3.67 ± 0.58	0.33 ± 1.15 ^a	1.33 ± 2.08	0.67 ± 1.53 ^a
Water consumption (mL/animal/day)	9.23 ± 1.07	5.79 ± 1.44 ^a	6.55 ± 1.48 ^a	7.19 ± 0.84 ^a
Food consumption (g/animal/day)	5.21 ± 0.84	4.12 ± 0.77 ^a	4.41 ± 0.74 ^a	4.26 ± 0.37 ^a

Values correspond to the mean ± SEM (n = 3/group). NC: Negative control. ^a p < 0.05 in relation to the negative control by ANOVA followed by Bonferroni post-test.

Table 4

Evaluation of the relative weight (mg/g animal body weight) of organs from mice treated orally with a single dose (250, 100 or 50 mg/kg) of the essential oil from *C. pulegioides* Baill leaves.

Organs (mg/g)	NC	250 mg/kg	100 mg/kg	50 mg/kg
Liver	63.87 ± 2.71	54.12 ± 6.54	63.03 ± 2.45	60.15 ± 7.40
Kidneys	12.57 ± 0.58	12.94 ± 0.27	12.8 ± 0.41	11.37 ± 1.67
Spleen	6.47 ± 1.02	4.59 ± 0.47	5.99 ± 1.03	4.6 ± 1.20
Heart	5.92 ± 1.46	5.10 ± 0.53	4.90 ± 0.38	4.91 ± 0.74
Lungs	6.68 ± 1.46	8.42 ± 0.89	7.62 ± 0.18	6.04 ± 1.82
Brain	13.5 ± 1.08	13.78 ± 2.38	14.86 ± 0.88	13.4 ± 1.01

NC: Negative control. The values correspond to the mean ± SD (n = 3/group). No significant differences were found by ANOVA followed by Bonferroni post-test.

pinhiensis leaves, whose major compounds were β -caryophyllene (21.58%), D-limonene (13.47%), γ -terpinene (10.08%), and germacrene D (9.56%). They observed that the EO caused over 45% hemolysis at concentrations from 1.25 to 5%. On the other hand, Nascimento et al. (2024) analyzed the hemolytic effect of the EO from *Croton blanchetianus* leaves (0.250–10.0 mg/mL), which had α -pinene (21.23%), β -phellandrene (13.92%), terpinolene (13.01%), and germacrene D (10.89%) as major compounds, and did not detect any hemolytic activity.

Erythrocytes are used as model of mammalian cell membranes in the hemolysis assay, which intend to evaluate lytic interactions of molecules with membranes (Greco et al., 2020; Seba et al., 2023). The extent to which the compound induces disruption of the membrane and causes release of cellular content is a parameter of cytotoxicity important to direct strategies for safety application. The hemolytic effect observed in some EOs may be related to their chemical composition. According to Vale et al. (2021), hemolysis can be induced by the lipophilic interactions of EO constituents with erythrocytes. However, there are now formulations available that can reduce the toxicity of EOs, allowing them to exert their biological activity safely (Ghosh et al., 2018). However, it is worth noting that CPLEO only induced hemolysis at remarkably high doses, with a HC₅₀ of 103.8 ± 7.21, proving to be safe at lower concentrations.

The CPLEO lethal dose (LD₅₀) for the acute oral toxicity assay was estimated at 460.42 ± 180.14 mg/kg (GHS: Category 4). We noticed that for the doses of 1000 and 2000 mg/kg, all the animals died. However, no death was observed at doses below or equal to 250 mg/kg and these animals were used for further toxicity analyses. CPLEO reduced the mice's body weight gain. Furthermore, impaired food and water consumption was observed in mice treated with CPLEO compared to the negative control group (Table 3). These effects can lead to malnutrition and dehydration of the animals whether persisting for long periods. In addition, they can be related to decreased appetite, an effect that has been described for other essential oils administered through ingestion or inhalation and associated with modulation of leptin resistance, activity on sympathetic/parasympathetic nerves, and metabolic alterations in

Table 5

Biochemical parameters of the serum from mice treated orally with a single dose (250, 100 or 50 mg/kg) of the essential oil from *C. pulegioides* Baill leaves.

Parameters	Oral administration			
	NC	250 mg/kg	100 mg/kg	50 mg/kg
Total Protein (g/dL)	5.55 ± 0.38	5.94 ± 0.31	5.38 ± 0.20	6.21 ± 0.48
Glucose (mg/dL)	213.41 ± 43.67	259.23 ± 19.54	286.72 ± 17.23	199.34 ± 50.63
Triglycerides (mg/dL)	163.64 ± 21.55	138.76 ± 31.57	180.22 ± 26.90	179.27 ± 12.11
TC (mg/dL)	118.49 ± 7.66	127.8 ± 9.00	139.87 ± 1.90 ^a	145.66 ± 1.12 ^a
ALT (U/L)	46.96 ± 11.01	43.15 ± 7.83	36.10 ± 21.42	38.45 ± 2.54
AST (U/L)	67.47 ± 7.00	58.82 ± 4.50	44.98 ± 20.34	38.35 ± 23.50
GGT (U/L)	13.74 ± 6.48	9.02 ± 3.00	9.02 ± 5.15	9.88 ± 4.52
Creatinine (mg/dL)	0.75 ± 0.43	0.62 ± 0.52	0.75 ± 0.43	1.5 ± 0.87
Urea (mg/dL)	30.84 ± 7.21	30.73 ± 12.10	39.81 ± 8.34	39.63 ± 0.71

TC: Total cholesterol; ALT: Alanine aminotransferase; AST: Aspartate aminotransferase; GGT: Gamma-glutamyl transferase. NC: Negative control. The values correspond to the mean ± SD (n = 3/group).

^a p < 0.05 in relation to the negative control by ANOVA followed by Bonferroni post-test.

the hypothalamus (Nguyen et al., 2023). There were no significant changes in the weight of the organs of the mice compared to the negative control group (Table 4).

The toxicity of EOs may be related to the chemical composition and concentration of each metabolite (Behbahani et al., 2019). Results obtained by Ez-Zriouli et al. (2023) evaluated the acute oral toxicity of EOs from *Chenopodium ambrosioides* (α -terpinene: 53.4%, ascaridole: 17.7% and p-cymene: 12.1%) and *Eucalyptus camaldulensis* (p-cymene: 35.1%, eudesmol: 11.9%, L-linalool: 11.5% and piperitone: 10.3%) and reported LD₅₀ below 500 mg/kg, like the result obtained in the present study. Considering the similarities between these oils and CPLEO, it can be highlighted the presence of ascaridole (23.18% in CPLEO and 17.7% in *C. ambrosioides* oil), p-cymene (7.91% in CPLEO, 35.1% in *E. camaldulensis* oil, and 12.1% in *C. ambrosioides* oil), and linalool (3.26% in CPLEO and 11.9% in *E. camaldulensis* oil), suggesting that the toxic effects can be linked to their presence. Indeed, p-cymene showed some toxic effects in rats with alterations in urinalysis, hematology, clinical biochemistry, and histopathology, although causing no death (Kuwagata et al., 2024). More impactful, linalool can cause acute systemic toxicity associated to central depressive effects, causing ataxia, decreased motor activity, and respiratory disturbances leading to death (Powers and Beasley, 1985). Finally, it has been demonstrated that ascaridole and caryophyllene oxide (present in CPLEO at 2.93%), can inhibit the mitochondrial electron transport chain as well as that Fe²⁺ can activate ascaridole, becoming it more toxic (Monzote et al., 2009).

Acute administration of CPLEO (50, 100, and 250 mg/kg) did not cause any significant changes on the biochemical parameters (total proteins, glucose, triglycerides, alanine aminotransferase, aspartate aminotransferase, gamma-glutamyl transferase, creatinine, and urea when compared to the negative control group (Table 5). Nonetheless, the level of total cholesterol was higher in both 50 and 100 mg/kg treatment groups than in negative control.

There are some reports on the cholesterol-reducing effect of essential oils, which has been attributed to the ability of some volatile compounds (e.g. the terpenoid geraniol) in inhibiting the production of mevalonic acid (Mączka et al., 2020). However, EO extracted from *Artemisia argyi* leaf markedly raised the total cholesterol level in high-fat diet-fed mice (Wang et al., 2022), although the authors did not suggest any reason for this. Terpenoids are precursors of steroids in biosynthetic pathways and

Table 6

Hematological parameters of mice treated orally with a single dose (250, 100 or 50 mg/kg) of the essential oil from *C. pulegioides* leaves.

Parameters	Oral administration			
	NC	250 mg/kg	100 mg/kg	50 mg/kg
Erythrocytes ($10^6/\text{mm}^3$)	8.28 ± 0.15	7.51 ± 0.39 ^a	9.06 ± 0.31 ^a	9.45 ± 0.44 ^a
Hematocrit (%)	43.47 ± 1.00	38.43 ± 2.10 ^a	47.03 ± 2.00 ^a	48.83 ± 2.40 ^a
Hemoglobin (g/dL)	13.67 ± 0.15	12.13 ± 0.85 ^a	14.4 ± 0.52	15.0 ± 0.69
VCM (fL)	52.5 ± 0.47	51.17 ± 0.23	51.93 ± 0.13	51.67 ± 0.03
MCH (pg)	16.53 ± 0.20	16.17 ± 0.33	15.63 ± 0.13	15.9 ± 0
MCHC (%)	31.43 ± 0.35	31.57 ± 0.53	30.63 ± 0.07	30.73 ± 0.33
Leukocytes ($10^3/\text{mm}^3$)	5.33 ± 0.90	4.23 ± 0.43	3.67 ± 0.27	8.17 ± 1.67
Segmented (%)	29.67 ± 2.96	25.67 ± 7.22	15.0 ± 1.0 ^a	15.0 ± 1.53 ^a
Lymphocytes (%)	64.67 ± 3.18	72.33 ± 7.80	82.0 ± 0.58 ^a	84.33 ± 2.03 ^a
Monocytes (%)	4.67 ± 0.67	2.0 ± 0.58 ^a	2.67 ± 0.27 ^a	0.67 ± 0.67 ^a
Basophils (%)	0.67 ± 0.67	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0
Eosinophils (%)	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0	0.33 ± 0.33	0.0 ± 0.0
Platelets ($10^6/\text{mm}^3$)	0.9 ± 0.23	0.88 ± 0.20	1.19 ± 0.21	1.19 ± 0.45

MCV: mean corpuscular volume; MCH: mean corpuscular hemoglobin; MCHC: mean corpuscular hemoglobin concentration. NC: Negative control. The values correspond to the mean ± SD (n = 3/group).

^a p < 0.05 in relation to the negative control by ANOVA followed by Bonferroni post-test.

this can be a reason for the increase in total cholesterol in mice treated with CPLEO at 50 and 100 mg/kg. However, this needs to be studied more deeply in the future, considering that this effect was not observed in the highest dose (250 mg/kg) and to what type of lipoproteins this increased cholesterol level is associated.

At 250 mg/kg, CPLEO caused a significant reduction in erythrocytes, hematocrit, hemoglobin, and monocytes. According to Costa et al. (2020), secondary metabolites may act on red blood cells, causing interference with the integrity of the plasma membrane, leading to cell shrinkage, decreased content, and even destruction of hemoglobin. This is corroborated by our *in vitro* data showing that CPLEO has hemolytic activity. In addition, this property may have contributed for animal death at the doses since 500 mg/kg. Conversely, CPLEO at 50 and 100 mg/kg led to a significant increase in hematocrit and lymphocytes counting, while decreased segmented leukocytes and monocytes compared to the negative control (Table 6). These data suggest that, at these lowest doses, the hemolytic effect of CPLEO is negligible (or overridden by an increased red blood cell production response) and that this oil can exert an immunomodulatory activity, which has been reported for secondary metabolites (Wang et al., 2020).

Fig. 1 shows the results from the histopathological examination of the liver, kidneys, spleen, lungs, and brain of the negative control group and those treated with CPLEO at 50, 100, and 250 mg/kg (Fig. 1). Ballooned hepatocytes were observed in the liver of animals treated with 50 mg/kg CPLEO. This alteration is a kind of injury that involves the loss of the normal polygonal shape of hepatocytes and is usually associated with the accumulation of fat droplets, endoplasmic reticulum expansion, and damage to cytoskeleton intermediate filaments (Li et al., 2023). Thus, the presence of ballooned cells can be due to the apolar characteristic of CPLEO components, showing affinity for lipid droplets. Importantly, Lima et al. (2013) reinforces that EOs are metabolized by the liver. Liver function can be assessed by measuring the levels of liver

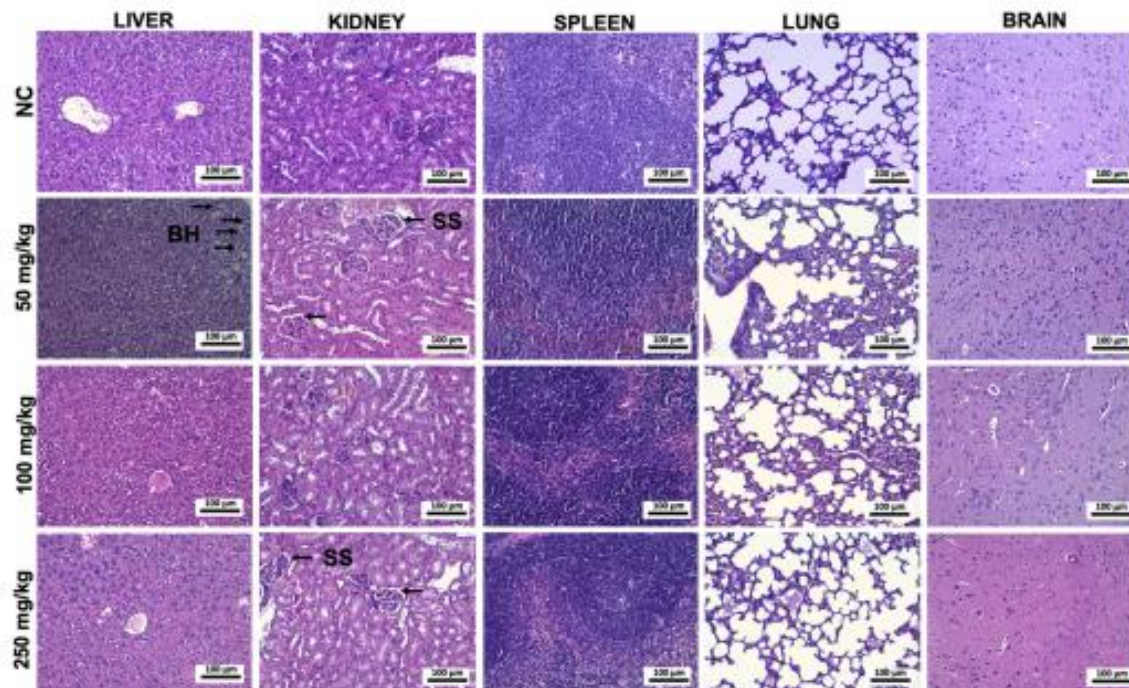


Fig. 1. Photomicrographs of histological sections of the liver, kidneys, spleen, lungs, and brain of female mice in the negative control (NC) group and groups treated with the essential oil from *C. pulegioides* leaves at doses of 50, 100 and 250 mg/kg. Ballooned hepatocytes (BH) and subcapsular space (SS). Magnification: 200×.

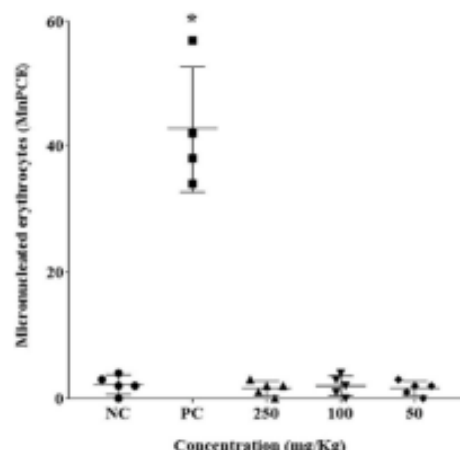


Fig. 2. Number of micronucleated polychromatic erythrocytes in mice treated orally with the essential oil of *C. pulegioides* leaves (250, 100 and 50 mg/kg). NC: Negative control. PC: Positive control. Results represented by mean \pm SEM. (*) $p < 0.05$ in relation to the negative control.

transaminases (Vagvala and Connor, 2018), which were not affected by CPLEO, indicating no significant damage to the functionality of hepatocytes despite these histopathological findings. The kidneys of the groups treated with CPLEO showed only a slight increase in the subcapsular space of the glomeruli. However, this seems have little or no repercussion on the physiology, since urea and creatinine serum levels were not affected by CPLEO. No morphological alterations were observed in the spleen, lungs, and brain.

Genotoxicity assays allow us to determine the effects of xenobiotic compounds, such as EOs, on genetic material (Menz et al., 2023). The number of micronucleated polychromatic erythrocytes (MnPCe) indicated an absence of genotoxic effect of CPLEO at 50, 100 and 250 mg/kg since the data from oil treatments did not differ from the negative control ($p > 0.05$) and were significantly different ($p < 0.05$) from the positive control (Fig. 2).

In the comet assay (Table 7), the treatments with CPLEO at doses of 50, 100, and 250 mg/kg did not induce genotoxic effects since the values of DI and DF were statistically equivalent ($p > 0.05$) to the negative control. When compared to the positive control, these values for CPLEO were significantly lower ($p < 0.05$). Studies on the genotoxicity of plant metabolites are important to ensure the safety of using these compounds (Prota et al., 2019). Our data show that, despite some relevant alterations in mice, CPLEO is not a DNA-damaging agent when ingested at 50–250 mg/kg. Results obtained by Nascimento et al. (2024), who evaluated the genotoxic effect of the EO from *C. blanchetianus* leaves (α -pinene = 21.23%) when administered orally (1000 and 2000 mg/kg) also did not describe a genotoxic effect.

4. Conclusion

The CPLEO exhibited *in vitro* hemolytic activity at high concentrations and was toxic to mice at doses higher than 250 mg/kg, even causing death. At non-lethal doses (50–250 mg/kg), some changes in the hematological parameters were observed, but none or minor biochemical and histopathological changes were found. The EO did not show genotoxic effects in mice. The toxicity of CPLEO to mice can be due to its hemolytic effect (decreasing erythrocyte number) and related to the presence of ascaridole, linalool, p-cymene, and caryophyllene oxide. The CPLEO application requires attention regarding its usage dose to take advantage of its biological effects with minimal adverse effects. The safety assessment described here is essential for the incoming steps involving the production of CPLEO formulations with insecticidal activity, a property that has been shown to be promising for EOs from this plant.

CRediT authorship contribution statement

Patryck Êrmerison Monteiro dos Santos: Writing – original draft, Visualization, Validation, Software, Resources, Methodology, Investigation, Formal analysis, Data curation, Conceptualization. **Matheus Cavalcanti de Barros:** Methodology, Investigation, Data curation. **Amanda Vieira de Barros:** Methodology, Investigation, Data curation. **Renata Mendonça Araújo:** Visualization, Validation, Resources, Methodology, Investigation, Funding acquisition, Formal analysis, Data curation. **Amanda de Oliveira Marinho:** Visualization, Validation, Methodology, Investigation, Data curation. **Anderson Arnaldo da Silva:** Visualization, Validation, Methodology, Investigation, Formal analysis, Data curation. **Maria Betânia Melo de Oliveira:** Visualization, Validation, Resources, Funding acquisition. **Talita Giselly dos Santos Souza:** Methodology, Investigation, Formal analysis, Data curation. **Cristiano Aparecido Chagas:** Resources, Methodology, Investigation, Funding acquisition, Data curation. **Thamarah de Albuquerque Lima:** Writing – review & editing, Visualization, Validation, Supervision, Funding acquisition, Formal analysis, Conceptualization. **Leydianne Leite de Siqueira Patriota:** Writing – review & editing, Visualization, Validation, Formal analysis. **Ana Patrícia Silva de Oliveira:** Writing – review & editing, Visualization, Validation, Supervision, Formal analysis, Conceptualization. **Thiago Henrique Napoleão:** Writing – review & editing, Visualization, Validation, Resources, Project administration, Funding acquisition, Formal analysis. **Patrícia Maria Guedes Paiva:** Writing – review & editing, Visualization, Validation, Supervision, Resources, Project administration, Funding acquisition, Formal analysis, Conceptualization.

Ethical statement

All experimental assays were approved by the Ethics Committee on Animal Use of the Universidade Federal de Pernambuco under the protocol no. 138/2022.

Table 7

Index of damage to each class and damage frequency in the comet assay of animals in the control groups or treated with the essential oil of *C. pulegioides* leaves (250, 100 and 50 mg/kg) administered orally to mice.

Treatment (mg/kg)	Class					Damage Index (DI)	Damage Frequency (DF)
	0	1	2	3	4		
NC	89.60 \pm 1.52	9.20 \pm 2.59	0.60 \pm 0.89	0.40 \pm 0.89	0.20 \pm 0.45	2.5 \pm 1.29	10.4 \pm 0.68
PC	2.40 \pm 2.0 ^a	15.20 \pm 4.32	24.80 \pm 8.35 ^a	26.40 \pm 8.76 ^a	31.20 \pm 6.61 ^a	268.8 \pm 6.51 ^a	97.6 \pm 0.93 ^a
250	89.00 \pm 3.39	10.40 \pm 3.21	0.60 \pm 1.34	0.00 \pm 0.00	0.00 \pm 0.00	11.6 \pm 1.81	11.0 \pm 1.52
100	91.20 \pm 4.15	7.80 \pm 4.76	0.80 \pm 1.10	0.00 \pm 0.00	0.20 \pm 0.45	10.2 \pm 1.93	8.80 \pm 1.86
50	92.00 \pm 3.08	5.80 \pm 1.92	2.00 \pm 2.92	0.20 \pm 0.45	0.00 \pm 0.00	10.4 \pm 2.44	8.0 \pm 1.38

NC: Negative control. PC: Positive control. Values represent the mean \pm SD ($n = 5$ /group).

^a $p < 0.05$ in relation to the negative control.

Declaration of competing interest

The authors declare that they have no known competing financial interests or personal relationships that could have appeared to influence the work reported in this paper.

Acknowledgments

This research was funded by the *Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico* (CNPq, 407192/2018-2), the *Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior* (CAPES, Finance Code 001) and the *Fundação de Amparo à Ciência e Tecnologia do Estado de Pernambuco* (FACEPE, APQ-0108-2.08/14, APQ-1491-2.08/22).

Data availability

Data will be made available on request.

References

- Adams, R.P., 2007. Identification of Essential Oil Components by Gas Chromatography/mass Spectrometry, fourth ed. Carol Stream, IL: Allured Pub. Corp. 2007.
- Álvarez-Martínez, F.J., Barraján-Catalán, E., Herranz-López, M., Micol, V., 2021. Antibacterial plant compounds, extracts and essential oils: an updated review on their effects and putative mechanisms of action. *Phytomedicine* 90, 153626.
- André, W.P.P., Ribeiro, W.L.C., Oliveira, L.M.B.D., Macedo, L.F.F., Rondon, F.C.M., Bevilacqua, C.M.L., 2018. Essential oils and their bioactive compounds in the control of gastrointestinal nematodes of small ruminant. *Acta Sci. Vet.* 46, 1522.
- Bajo-Fernández, M., Souza-Silva, E.A., Barbas, C., Roy-Stille, M.F., García, A., 2024. GC-MS-based metabolomics of volatile organic compounds in exhaled breath: applications in health and disease. A review. *Frontiers in Molecular Bioscience* 10, 1295955.
- Bakkali, F., Averbeck, S., Averbeck, D., Idomar, M., 2008. Biological effects of essential oils: a review. *Food Chem. Toxicol.* 46, 446–475.
- Barrera, C.A.C., Gómez, D.C., Castiblanco, F.A., 2016. Medicinal importance of *Croton genus* (Euphorbiaceae). *Rev. Cubana Plantas Med.* 21, 234–247.
- Batista, G.E., Beshbishy, A.M., Wasef, L.G., Elwae, Y.H.A., Al-Sagan, A.A., El-Hack, M.E.A., Taha, A.E., Abd-Elhakim, Y.M., Deviata, H.P., 2020. Chemical constituents and pharmacological activities of garlic (*Allium sativum* L.): a review. *Nutrients* 12, 872–893.
- Behbahani, B.A., Noshad, M., Fadaei, F., 2019. Camphor essential oil: phytochemical analysis, antimicrobial activity and investigation of its mechanism of action through scanning electron microscopy. *Microb. Pathog.* 136, 103716.
- Bezerra, F.W., Bezerra, P.N., Oliveira, M.S., Costa, W.A., Ferreira, G.C., Carvalho, R.N., 2020. Bioactive compounds and biological activity of *Croton* species (Euphorbiaceae): an overview. *Curr. Bioact. Compd.* 16, 383–393.
- Bhavanirama, S., Vishnupriya, S., Al-Aboudy, M.S., Vijayakumar, R., Baskaran, D., 2019. Role of essential oils in food safety: antimicrobial and antioxidant applications. *Gasin & Oil Science and Technology* 2, 49–55.
- Brito, J.S., Marinho, A.O., Coelho, L.C.B.B., Oliveira, A.M., Paiva, P.M.G., Patriota, L.L.S., Napoleão, T.H., 2023. Toxicity and antitumor activity of the water-soluble lectin from *Moringa oleifera* Lam. seeds (WSMoL) in sarcoma 180-bearing mice. *Toxicon* 234, 107306.
- Campos, E.V.R., Proença, P.L.F., Oliveira, J.L., Bakshi, M., Abhilash, P.C., Fraceto, L.F., 2018. Use of botanical insecticides for sustainable agriculture: future perspectives. *Ecol. Indic.* 105, 483–495.
- Carvalho, M.G., Rondon, F.C.M., Carneiro-Torres, D.S., Fampa, P., Bevilacqua, C.M.L., Bandeira, P.N., Gomes, G.A., 2022. *Croton polygodarum* Baill and *Croton pinnatifidus* Mull. Arg. (Euphorbiaceae) essential oils: chemical composition and anti-Leishmania activity. *Revista Virtual de Quimica* 14, 938–946.
- Costa, W.K., Oliveira, J.R.S., Oliveira, A.M., Silva-Santos, L.B., Cunha, R.X., Freitas, A.F.S., Silva, M.V., Silva, V.B.G., Aguiar, J.C.R.O.F., Silva, A.G., Navarro, D.M.A.F., Lima, V.L.M., Silva, M.V., 2020. Essential oil from *Eugenia arbutifolia* McVaugh leaves has antinociceptive, anti-inflammatory and antipyretic activities without showing toxicity in mice. *Ind. Crop. Prod.* 144, 112050.
- Costinho, I.D., Cardoso, C.A.L., Rê-Poppi, N., Melo, A.M., Vieira, M.C., Honda, N.K., Coelho, R.G., 2009. Gas Chromatography-Mass Spectrometry (GC-MS) and evaluation of antioxidant and antimicrobial activities of essential oil of *Complanatus adamsianus* (Cambess.) O. Berg (Guavina). *Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences* 45, 767–776.
- Demeter, S., Lebbe, O., Heeg, F., Nicola, S.C., Keme Kemene, T., Martin, H., Fauconnier, M.L., Hance, T., 2021. Insecticidal activity of 25 essential oils on the stored product pest, *Sitophilus granarius*. *Foods* 10, 200.
- De-Qiang, D., Zheng, X., Guang, Y., Jian-Feng, Z., Ying-Kun, Q., Jing-Xian, Y., Ting-Guo, K., 2011. Prediagnostic methods for the hemolysis of herbal medicine injection. *J. Ethnopharmacol.* 138, 445–450.
- Eiji, Y., Haruyoshi, H., Masaki, T., Motoyoshi, K., Setsuko, A., 1992. The micronucleus assay with mouse peripheral blood reticulocytes using acridine orange coated slides with triethylenemelamine. *Mutat. Res. Genet. Toxicol.* 278, 127–130.
- Ez-Zirouli, R., Elyacoubi, H., Intara, H., Mesfoui, A., Elhesani, A., Al Kamaly, O., Alshawa, S.Z., Niar, F.A., Ouakini, Z.B., Rochdi, A., 2023. Chemical composition, antioxidant and antibacterial activities and acute toxicity of *Cedrus atlantica*. *Chenopodium ambrosioides* and *Eucalyptus camaldulensis* essential oils. *Molecules* 28, 2074.
- Flora do Brasil, 2024. *Croton*. Available at: <https://floradobrasil.jbrj.gov.br/FB17497> (Accessed 23 August 2024).
- Fruta, R.G., Amorim, A.S., Carneiro, J.K.R., Oliveira, M.A.S., 2010. Citotoxicidade, genotoxicidade e mutagenicidade da infusão de *Plectranthus barbatus* – Lamiaceae (malva-santa) avaliadas pelo sistema teste Alburn cepa. *Revista de Ciências Médicas e Biológicas* 18, 67–72.
- Ghosh, T., Biswas, M.K., Chatterjee, S., Roy, P., 2018. In-vitro study on the hemolytic activity of different extracts of Indian medicinal plant *Croton bonplandianus* with phytochemical estimation: a new era in drug development. *J. Drug Deliv. Therapeut.* 8, 155–160.
- Greco, I., Molchanova, N., Holmedal, E., Jensen, H., Hummel, B.D., Watts, J.L., Håkansson, J., Hansen, P.H., Svensen, H., 2020. Correlation between hemolytic activity, cytotoxicity and systemic in vivo toxicity of synthetic antimicrobial peptides. *Sci. Rep.* 10, 13206.
- Kuwagata, M., Doi, Y., Saito, H., Tsurumoto, M., Igarashi, T., Nishimura, T., Tsukahashi, Y., Hirabayashi, Y., Kitajima, S., 2024. A 90-day repeated oral dose toxicity study of pyrene in rats. *Fundamental Toxicological Sciences* 11, 169–181.
- Li, Y.Y., Zhong, T.L., Xiao, S.Y., Wang, P., Yang, W.J., Jiang, L.L., Chen, L.L., Sha, J.C., Jin, Y., Chen, S.D., Byrne, C.D., Targher, G., Li, J.M., Zhong, M.H., 2023. Hepatocytic ballooning in non-alcoholic steatohepatitis: dilemmas and future directions. *Liver Int.* 43, 1170–1182.
- Lima, G.P.G., Souza, T.M., Paula-Freire, G., Farias, D.F., Cunha, A.P., Ricardo, N.M.P.S., Moraes, S.M., Carvalho, A.F.U., 2013. Further insecticidal activities of essential oils from *Lippia sidoides* and *Croton* species against *Aedes aegypti* L. *Parasitol. Res.* 112, 1953–1958.
- Lonwicka, B., Mojsak, A.P., Janikowska, M., Kaczynski, P., Hrynko, I., Rutkowska, E., Szaburko, J., Borusiewicz, A., 2016. Toxicological studies for adults and children of insecticide residues with common mode of action (MoA) in pome, stone, berries and other small fruit. *Sci. Total Environ.* 566/567, 144–156.
- Mączka, W., Winińska, K., Grabarczyk, M., 2020. One hundred faces of geraniol. *Molecules* 25, 3303.
- Mahajan, M., Kuriy, R.E., Pal, P.K., 2020. Understanding the consequence of environmental stress for accumulation of secondary metabolites in medicinal and aromatic plants. *Journal of Applied Research on Medicinal and Aromatic Plants* 18, 100255.
- Meuz, J., Götz, M.E., Gündel, U., Gürtler, R., Herrmann, K., Hesse-Pris, S., Kneuer, C., Kolrep, F., Nitzsche, D., Pabel, U., Sachs, R., Schmeisser, S., Schumacher, D.M., Schwerdtle, T., Traut, T., Zellmer, S., Schäfer, B., 2023. Genotoxicity assessment: opportunities, challenges and perspectives for quantitative evaluations of dose-response data. *Arch. Toxicol.* 97, 2303–2328.
- Monzone, L., Stenberg, W., Staniek, K., Gille, L., 2009. Toxic effects of carvacrol, caryophyllene oxide, and acardide from essential oil of *Chenopodium ambrosioides* on mitochondria. *Toxicol. Appl. Pharmacol.* 240, 337–347.
- Nascimento, M.F., Costa, W.K., Aguiar, J.C.R.O.F., Navarro, D.M.A.F., Silva, M.V., Paiva, P.M.G., Oliveira, A.M., Napoleão, T.H., 2024. Essential oil from leaves of *Croton blanchetianus* Baill does not present acute oral toxicity, has antigenotoxic action and reduces neurogenic and inflammatory nociception in mice. *J. Ethnopharmacol.* 318, 116908.
- Nguyen, N.P.K., Tran, K.N., Nguyen, L.T.H., Shiu, H.M., Yang, L.J., 2023. Effects of essential oils and fragrant compounds on appetite: a systematic review. *Int. J. Mol. Sci.* 24, 7962.
- Ni, Z.J., Wang, X., Shen, Y., Thakur, K., Han, J., Zhang, J.G., Hu, F., Wei, Z.J., 2021. Recent updates on the chemistry, bioactivities, mode of action, and industrial applications of plant essential oils. *Trends Food Sci. Technol.* 110, 78–89.
- Oliani, J., Ferreira, M.J.P., Salatino, A., Salatino, M.L.F., 2021. Leaf flavonoids from *Croton urucurua* and *C. floribundus* (Euphorbiaceae). *Biochem. Systemat. Ecol.* 94, 104217.
- Powers, K.A., Beasley, V.R., 1985. Toxicologic aspects of linoleol: a review. *Vet. Hum. Toxicol.* 27, 484–485.
- Rocha, R.R., Matos, M.N.C., Guerrero, J.A.P., Cavalcante, R.M.B., Melo, R.S., Azevedo, Á. M.A., Pereira, A.M.G., Lopes, P.H.R., Rodrigues, T.H.S., Bandeira, P.N., Gomes, G.A., Catunda-Junior, F.E.A., Carneiro-Torres, D.S., Silva, J.R.V., Carneiro, V., 2021. Comparative study of the chemical composition, antibacterial activity and synergic effects of the essential oils of *Croton tetradenus* Baill. and *C. polygodarum* Baill. against *Staphylococcus aureus* isolates. *Microb. Pathog.* 156, 104934.
- Saba, I.P., Bjørk, M., Franzik, H., Helgesen, E., Booth, J.A., 2023. Optimization of the hemolysis assay for the assessment of cytotoxicity. *Int. J. Mol. Sci.* 24, 2914.
- Santos, P.E.M., Oliveira, C.R.F., Matos, C.H.C., 2022. Susceptibilidade de populações de *Sitophilus zeamais* ao óleo essencial de folhas de *Croton polygodarum*. *Acta Biol. Parana.* 51, e85387.
- Santos, P.E.M., Silva, A.B.D., Lins, C.R.I.D.M., Matos, C.H.C., Oliveira, C.R.F., 2019. Contact toxicity of essential oil of *Croton polygodarum* Baill on *Sitophilus zeamais* Motschulsky. *Revista Coatings* 32, 329–335.
- Shankar, M.A., Khansabhyam, A.C., Thorakattu, P., Nirmal, N.P., 2023. Biological potential of essential oils in pharmaceutical industries. In: Pati, S., Sarkar, T., Lahiri, D. (Eds.), *Recent Frontiers of Phytochemicals*, p. 2023.
- Sharmeen, J.B., Mahomedally, F.M., Zengin, G., Maggi, F., 2021. Essential oils as natural sources of fragrance compounds for cosmetics and cosmeceuticals. *Molecules* 26, 666.

- Silva, T.L., Oliveira, C.R.F., Matos, C.H.M., Badji, C.A., Morato, R.P., 2019. Leaf essential oil from *Croton paleogodonius* Baill shows insecticidal activity against *Staphylinus zimmermanni* mutschinsky. *Revista Castings* 32, 354–363.
- Silva, T.S.S., Freitas, J.S., Santos, E.S.L., Corqueira-Silva, C.B.M., 2020. Diversity and genetic structure in natural populations of *Croton leucomifolius* (Euphorbiaceae) based on molecular markers. *Ab. J. Biotechnol.* 19, 613–624.
- Simões, C.M.O., Schenkel, E.P., Mello, J.C.P., Menz, L.A., Petruvick, P.R., 2017. *Farmacognosia: Do Produto Natural Ao Medicamento*, first ed. Porto Alegre: Artmed.
- Singh, N.P., Meeney, M.T., Tice, R.R., Schneider, E.L., 1988. A simple technique for quantitation of low levels of DNA damage in individual cells. *Exp. Cell Res.* 175, 184–191.
- Sodré, R.C., Silva, M.J., 2015. O gênero *Croton* L. (Euphorbiaceae s-s-Crotonaceae) na Floresta Nacional de Silvânia, Goiás, Brasil. *Berlingia. Série Botânica* 70, 89–104.
- Souza, V.N.D., Oliveira, C.R.F.D., Matos, C.H.C., Almeida, D.K.F.D., 2016. Toxicidade da fumaça de óleos essenciais contra *Rhyssalus dominica* (L.) em grãos de milho armazenados. *Revista Castings* 29, 435–440.
- Stojanović, N.M., Randjelović, P.J., Mladenović, M.Z., Ilić, I.B., Petrović, V., Stojiljković, N., Ilić, S., Radulović, N.S., 2019. Toxic essential oils, part VI: acute oral toxicity of lemon balm (*Melissa officinalis* L.) essential oil in BALB/c mice. *Food Chem. Toxicol.* 133, 110794.
- Taharrati, H., Hassan, J., Parvizi, M.R., Golshahi, H., Keshavare-Tarikh, H., 2019. Evaluation of the acute and sub-acute toxicity of the black canaway seed essential oil in Wistar rats. *Toxicol Rep* 6, 869–874.
- Torres, M.C., Assunção, J.C., Santiago, G.M., Andrade-Neto, M., Silveira, E.R., Costa-Lotufo, L.V., Bezerra, D.P., Marinho-Filho, J.D., Viana, F.A., Penna, O.D., 2008. Larvicidal and nematocidal activities of the leaf essential oil of *Croton regelianus*. *Chem. Biodivers.* 5, 2724–2728.
- Vagstad, S.H., O'Connor, S.D., 2018. Imaging of abnormal liver function tests. *Clinical Liver Disease* 11, 128–134.
- Vale, J.P.C., Vasconcelos, M.A., Arruda, F.V.S., Firmiani, N.C.S., Pereira, A.L., Andrade, A.L., Sakur-Sampaio, S., Sampaio, A.H., Marinho, E.S., Teixeira, A.M.R., Marinho, M.M., Rodrigues, T.H.S., Teixeira, E.H., Santos, H.S., 2021. Evaluation of antimicrobial and antioxidant potential of essential oil from *Croton planifolius* mill. *Arg. Current Microbiology* 78, 1926–1938.
- Wang, K., Ma, J., Li, Y., Han, Q., Yin, Z., Zhou, M., Luo, M., Chen, J., Xie, S., 2022. Effects of essential oil extracted from *Artemisia argy* leaf on lipid metabolism and gut microbiota in high-fat diet-fed mice. *Front. Nutr.* 9, 1024722.
- Wang, L., Li, S., Liu, H., Bao, L., 2020. Advances in research on the effects of natural drugs with immune-promoting effects on immune function. *Eur. J. Inflamm.* 10, 1–15.
- Well, A., Al-Sabhi, A., Al-Sabhi, J., Said, S., Hossain, M.A., Al-Riyami, S., 2019. Chemical composition and biological activities of the essential oils of *Psidium guajava* leaf. *J. King Saud Univ. Sci.* 31, 993–998.
- Zimmermann, R.C., Araújo, C.E.C., Araújo, P.J.P., Benatto, A., Chaudh, A., Martins, C.E.N., Amari, W., Cipriano, R.R., Zawadzka, M.A.C., 2021. Insecticide activity and toxicity of essential oils against two stored-product insects. *Crop Protect.* 144, 105575.

4.3 PATENTE



16/08/2024 18:04 870240070260
29409161941686302

Pedido nacional de Invenção, Modelo de Utilidade, Certificado de Adição de Invenção e entrada na fase nacional do PCT

Número do Processo: BR 10 2024 016870 4

Dados do Depositante (71)

Depositante 1 de 1

Nome ou Razão Social: UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO

Tipo de Pessoa: Pessoa Jurídica

CPF/CNPJ: 24134488000108

Nacionalidade: Brasileira

Qualificação Jurídica: Instituição de Ensino e Pesquisa

Endereço: Av. Prof. Moraes Rego, 1235 - Cidade Universitária

Cidade: Recife

Estado: PE

CEP: 50670-901

País: Brasil

Telefone: (81)2126 8959

Fax: (81)2126 8959

Email: patentes_dine.propesq@ufpe.br

**PETICIONAMENTO
ELETRÔNICO**

Esta solicitação foi enviada pelo sistema Peticionamento Eletrônico em
16/08/2024 às 18:04, Petição 870240070260

Dados do Pedido**Natureza Patente:** 10 - Patente de Invenção (PI)**Título da Invenção ou Modelo de Usina (54):** FORMULAÇÃO À BASE DO ÓLEO ESSENCIAL DE *Croton pulegioidorus* BAILL. PARA O CONTROLE DE INSETOS-PRAGA (*Aedes (Stegomyia) aegypti* L., 1762; *Nasutitermes corniger* Mots., 1855 e *Sitophilus zeamais* Mots., 1855).**Resumo:** O presente pedido de patente de invenção trata de uma formulação à base do óleo essencial de folhas de *Croton pulegioidorus*, que pode ser utilizada para o controle dos insetos-praga: *Aedes aegypti*, *Nasutitermes corniger* e *Sitophilus zeamais*. A formulação contempla os efeitos larvicida e adulticida para *Ae. aegypti* e os efeitos por contato e fumigação para *N. corniger* e *S. zeamais*. A formulação pode ser aplicada diretamente sobre os insetos, sobre os produtos ou locais de passagem desses insetos. O produto é destinado ao controle de insetos-praga e vetor de doenças e tem a vantagem de ser um produto natural, biodegradável, que atua por mais de uma via, causando efeitos bioquímicos, fisiológicos e morte dos insetos.**Figura a publicar:** 5**PETICIONAMENTO
ELETRÔNICO**

Esta solicitação foi enviada pelo sistema Peticionamento Eletrônico em 16/08/2024 às 18:04, Petição 870240070260

Dados do Inventor (72)

Inventor 1 de 5**Nome:** PATRYCK ÉRMERSON MONTEIRO DOS SANTOS**CPF:** 11771034432**Nacionalidade:** Brasileira**Qualificação Fiscal:** Estudante de Pós Graduação**Endereço:** Boa Vista**Cidade:** Recife**Estado:** PE**CEP:** 50050-180**País:** BRASIL**Telefone:** (87) 999 341571**Fax:****Email:** patryckermerson@gmail.com**Inventor 2 de 5****Nome:** ANA PATRÍCIA SILVA DE OLIVEIRA SANTOS**CPF:** 06360298406**Nacionalidade:** Brasileira**Qualificação Fiscal:** Professor do ensino superior**Endereço:** Várzea**Cidade:** Recife**Estado:** PE**CEP:** 50810-000**País:** BRASIL**Telefone:** (81) 995 198686**Fax:****Email:** anapatricia.oliveira@ufpe.br**Inventor 3 de 5**

**PETICIONAMENTO
ELETRÔNICO**Esta solicitação foi enviada pelo sistema Peticionamento Eletrônico em
16/08/2024 às 18:04, Petição 870240070260

Nome: PATRÍCIA MARIA GUEDES PAIVA

CPF: 36565431434

Nacionalidade: Brasileira

Qualificação Física: Professor do ensino superior

Endereço: Boa Viagem

Cidade: Recife

Estado: PE

CEP: 51130-300

País: BRASIL

Telefone: (81) 996 470100

Fax:

Email: patricia.paiva@ufpe.br

Inventor 4 de 5

Nome: THÂMARAH DE ALBUQUERQUE LIMA

CPF: 07605262493

Nacionalidade: Brasileira

Qualificação Física: Professor do ensino superior

Endereço: Pina

Cidade: Recife

Estado: PE

CEP: 51011-010

País: BRASIL

Telefone: (81) 996 332077

Fax:

Email: thamarah.albuquerque@ufpe.br

Inventor 5 de 5

**PETICIONAMENTO
ELETRÔNICO**

Esta solicitação foi enviada pelo sistema Peticionamento Eletrônico em
16/08/2024 às 18:04, Petição 870240070260

Nome: THIAGO HENRIQUE NAPOLEÃO
CPF: 05775407423
Nacionalidade: Brasileira
Qualificação Física: Professor do ensino superior
Endereço: Boa Viagem
Cidade: Recife
Estado: PE
CEP: 51021-330
País: BRASIL
Telefone: (81) 999 218154
Fax:
Email: thiago.napoleao@ufpe.br

Documentos anexados

Tipo Anexo	Nome
Relatório Descritivo	Relatório Descritivo.pdf
Reivindicação	Reivindicações.pdf
Desenho	Desenhos.pdf
Resumo	Resumo.pdf

5 CONCLUSÃO

- O presente trabalho demonstrou que o OEFCP é composto principalmente de monoterpenos e sesquiterpenos, sendo o ascaridol (22,75% a 23,18%), cânfora (14,20% a 18,11%), eucaliptol (10,80% a 17,20%) e α -terpineol (4,69% a 7,01%) os compostos majoritários.
- O óleo essencial mostrou-se um potente agente inseticida contra diversas espécies de insetos-praga. Em *S. zeamais*, foi observada a toxicidade por ingestão com CL₅₀ de 24,24 μ L/g e CL₉₀ de 46,76 μ L/g por 15 dias. Além disso, o OEFCP apresentou efeito dissuasor de moderado a forte, causando redução na taxa de consumo relativo, taxa de ganho relativo de biomassa e eficiência na conversão do alimento ingerido.
- O OEFCP também alterações significativas na atividade de enzimas digestivas: β -D-xilanase (+33,39%), endoglucanase (+8,28%), exoglucanase (+84,77%), α -amilase (+359,18%) e tripsina (-79,67%). Essas enzimas desempenham funções essenciais no metabolismo digestivo e na sobrevivência dos insetos.
- Para *N. corniger*, o OEFCP induziu rápida mortalidade quando em contato (0,49 min). Quando inalado (fumigação) por operários e soldados de *N. corniger*, apresentou CL₅₀ de 0,57 μ L/mL e 1,63 μ L/mL, respectivamente, bem como afetou o comportamento de cupins operários.
- O OEFCP exibiu efeito hemolítico *in vitro* nas concentrações de 187,5 a 1000 mg/mL e DL₅₀ de 460,42 mg/kg por toxicidade oral aguda. Nos ensaios cometa e micronúcleo, não foram observadas alterações significativas em relação ao controle, indicando que o óleo não é genotóxico.
- Uma formulação à base do óleo essencial de *C. pulegioidorus* para o controle dos insetos-praga, *Ae. aegypti*, *N. corniger* e *S. zeamais* foi desenvolvida, cujo processo

está registrado sob o número BR1020240168704.

- Desse modo, a aplicação do óleo essencial de *C. pulegioidorus* requer atenção quanto à sua dose de uso para aproveitar seus efeitos biológicos com efeitos adversos mínimos.
- Diante dos resultados obtidos, conclui-se que o óleo essencial de *C. pulegioidorus* apresenta potencial promissor como alternativa no manejo de insetos-praga (*S. zeamais*, *N. corniger* e *Ae. aegypti*), destacando-se por sua rápida ação inseticida.

6 SÚMULA CURRICULAR

ATIVIDADES DE PESQUISA

- Colaboração no artigo científico: Xavier, K. C. M., Nascimento-Santos, D. K. D., Cruz, R. C. D., Silva, L. Q. M., Araújo, A. M. S., Santos, P. É. M., Guedes, P. M., Rolim, L. A., Bedor, D. C. G., Alves-Júnior, S. Insecticidal effects of *Sargassum vulgare* and *Caulerpa racemosa* extracts on *Aedes aegypti*. **Parasitology International**, v. 106, p. 1-10, 2025. <https://doi.org/10.1016/j.parint.2025.103031>
- Colaboração no artigo científico: Santos, N. D. D. L., Santos, P. É. M. D., Lira, T. L. D. S., Santos, A. R. D. S., Silva, J. N. D. O., Santos, A. N. S. D., Amorim, M. M. R., Barros, M. R., Coelho, L. C. B. B., Paiva, P. M. G., Lima, T. A., Martins, G. F., Napoleão, T. H., Pontual, E. V. Insecticidal Activity of Lectin Preparations from *Moringa oleifera* Lam.(Moringaceae) Seeds against *Alphitobius diaperinus* (Panzer)(Coleoptera: Tenebrionidae). **Plants**, v. 14, n. 511, p. 1-15, 2025. <https://doi.org/10.3390/plants14040511>
- Colaboração no artigo científico: Xavier, K. C. M., Nascimento Santos, D. K. D., da Cruz, R. C. D., Silva, L. Q. M., Araújo, A. M. S., Santos, P. M., Rolim, L. A., Paiva, P. M. G., Souza, I. A., Alves-Júnior, S. Phytochemical, cytotoxic, and insecticidal effects of crude extracts of the alga *Alsidium triquetrum* (SGGmelin) Trevisan on *Aedes aegypti*. **Biocatalysis and Agricultural Biotechnology**, v. 63, p. 1-14, 2025. <https://doi.org/10.1016/j.bcab.2024.103461>
- Colaboração no artigo científico: Bezerra, A. Â., Santos, P. É. M., Alcantara, Q. H. S. P., Santos, F. H. G., Navarro, D. M. D. A. F., Paiva, P. M. G., Silva, M. V., Napoleão, T. H., Santos-Correia, M. T. Seed oil from *Syagrus coronata* has contact toxicity and reduces population growth of *Sitophilus zeamais* (Coleoptera: Curculionidae). **Crop Protection**, v. 190, p. 1-6, 2025. <https://doi.org/10.1016/j.cropro.2024.107077>
- Colaboração no artigo científico: Silva, M. S., Araújo, A. M. S., da Silva, L. Q. M., Barros, S. C. L., Cruz, R. C. D., Oliveira, M. A., Arruda, M. G. M., Oliveira, M. e. F. A., Santos, P. É. M., Paiva, P. M. G., Souza, I. A. Atividade larvica do extrato etanólico das folhas frescas de *Croton cordiifolius* sobre *Aedes aegypti* e análise toxicológica em *Mus musculus*. **Cuadernos de Educación y Desarrollo**, v. 16, n. 5, p. 1-25, 2024. <https://doi.org/10.55905/cuadv16n5-071>
- Colaboração no artigo científico: Barros, A. V., Bomfim, I. M. F. N., Ribeiro, L. L. C., Silva, B. R. Á., Lins, H. T. S., Santos, P. É. M., Paiva, P. M. G., Oliveira, M. B. M., Araújo, R. M., Neto, R. M. Phytochemical profile, antibacterial and antibiofilm activity of spice plants against important food pathogens. **Cuadernos de Educación y Desarrollo**, v. 16, n. 6, p. 1-19, 2024. <https://doi.org/10.55905/cuadv16n6-205>

- Colaboração no artigo científico: Santos, N. D. D. L., Albuquerque, L. P. D., de Amorim, M. M. R., de Oliveira Silva, J. N., Procópio, T. F., Santos, P. É. M. D., Paiva, P. M. G., Barros, M. R., Napoleão, T. H., Pontual, E. V. Effects of Lectin Preparations from *Microgramma vacciniifolia* Rhizomes on the Survival, Digestive Enzymes, and Acetylcholinesterase Activity of *Alphitobius diaperinus* (Panzer)(Coleoptera: Tenebrionidae). **Macromol**, v. 3, n. 3, p. 451-462, 2023. <https://doi.org/10.3390/macromol3030027>
- Colaboração no capítulo de livro: BARROS, A. V.; MENDES, C. T. P.; SILVA, B. R. A.; SANTOS, P. É. M.; SÁ, R. A. Q. C.; DANTAS, T. F.; LINS, H. T. S.; SILVA, T. C. D. M.; XAVIER, Y. K. S.; OLIVEIRA, M. B. M. Avaliação do potencial antibacteriano de plantas alimentícias não convencionais com ocorrência no brasil: uma revisão da literatura. In: Amanda Rodrigues. (Org.). Internacional de Saúde ÚNICA. 6ed. Even3 Publicações, 2023. p. 119-127. <https://doi.org/10.29327/vii-congresso-internacional-de-saude-unica-e-iii-simposio-internaconal-pluriprofissional-de-saude-312619.688675>
- Colaboração no capítulo de livro: BARROS, A. V.; MENDES, C. T. P.; SILVA, B. R. A.; MONTEIRO-SANTOS, P.E.; SA, R. A. Q. C.; DANTAS, T. F.; LINS, H. T. S. ; SILVA, T. C. D. M. ; XAVIER, Y. K. S. ; OLIVEIRA, M. B. M. . Compreendendo os mecanismos de virulência, resistência e patogenicidade de *Staphylococcus aureus*: desafios no tratamento de infecções causadas por uma bactéria poderosa. In: Amanda Rodrigues. (Org.). Internacional de Saúde ÚNICA. 6ed. Even3 Publicações, 2023. p. 271-281. <https://doi.org/10.29327/vii-congresso-internacional-de-saude-unica-e-iii-simposio-internaconal-pluriprofissional-de-saude-312619.688753>
- Colaboração no artigo científico: Sceening de metabólitos secundários com associação sinérgica com a amoxicilina: uma abordagem *in vitro* e *in sílico* de autoria de Amanda Vieira de Barros, Gabriela de Lima Menezes, Bruno Oliveira de Veras, Patryck Érmerson Monteiro dos Santos, Umberto Laino Fulco, Patrícia Maria Guedes Paiva, Márcia Vanusa da Silva, Maria Betânia Melo de Oliveira. **(EM ANDAMENTO)**
- Colaboração no artigo científico: *Hyptis fruticosa* Salzm. ex Benth. (Lamiaceae): composição química, atividade antimicrobiana, antioxidante e toxicidade in vivo do óleo essencial de autoria de Amanda Vieira de Barros, Milena; Patryck Érmerson Monteiro dos Santos, Querem, Fábio Henrique Galdino dos Santos, Daniela Maria do Amaral Ferraz Navarro, Patrícia Maria Guedes Paiva, Márcia Vanuza da Silva, Bruno Oliveira de Veras, Maria Betânia Melo de Oliveira. **(EM ANDAMENTO)**
- Colaboração no artigo científico: Efeito Modulador da Resistência do Eugenol Frente a isolados de *Klebsiella pneumoniae* Multidroga-Resistente (MDR) e Extensivamente Resistente (XDR): Uma análise *in vitro* e *in sílico* de autoria de Amanda Vieira de Barros, Carem Mendes Tavares, Beatriz Alves Reis, Patryck Érmerson Monteiro dos Santos, Patrícia Maria Guedes Paiva, Márcia Vanusa da Silva, Bruno Oliveira de Veras, Maria Betânia Melo de Oliveira **(EM ANDAMENTO)**

- Colaboração no artigo científico: Efeito antibacteriano, modulatório e antivirulento do Óleo Essencial de *Algrizea minor* (OEAM) Sobral, Faria & Proença (Myrtaceae) em isolados de *Staphylococcus aureus* Resistente à Meticilina (MRSA) de autoria de Amanda Vieira de Barros, Henrique Nelson Pereira Costa Júnior, Raudiney Frankilin Vasconcelos Mendes, Patryck Érmerson Monteiro dos Santos, Rafael Matos Ximenes, Jael Fernandes Tavares, Daniela Maria do Amaral Ferraz Navarro, Patricia Maria Guedes Paiva, Clovis Macedo Bezerra Filho; Márcia Vanusa da Silva, Bruno Oliveira de Veras, Maria Betânia Melo de Oliveira. **(EM ANDAMENTO)**
- Colaboração no artigo científico: Efeito modulador do α -pineno e β -pineno em associação com β -lactâmicos frente a *Staphylococcus aureus* MRSA de autoria de Amanda Vieira de Barros, Raudiney Frankilin Vasconcelos Mende, Henrique Nelson Pereira Costa Júnior, Patryck Érmerson Monteiro dos Santos, Rafael Matos Ximenes, Patricia Maria Guedes Paiva¹, Márcia Vanusa da Silva, Bruno Oliveira de Veras¹, Maria Betânia Melo de Oliveira. **(EM ANDAMENTO)**
- Colaboração no artigo científico: Exploração do potencial biotecnológico de bactérias isoladas de ambientes aquáticos impactados de autoria de Amanda Vieira de Barros; Patryck Érmerson Monteiro dos Santos; Jonathan Mandú de Araújo; Jaqueline dos Santos Silva; Yhasminie Karine da Silva Xavier; Tayane de Cássia Dias Mendes Silva; Gabriela de Lima Torres; Karen Cristina da Silva Moreira; Wesllen David Silva Vila; Bruno Oliveira de Veras; Patricia Maria Guedes Paiva; Maria Betânia Melo de Oliveira. **(EM ANDAMENTO)**
- Colaboração na dissertação de mestrado intitulada: "Avaliação da ação inseticida do óleo fixo de *Syagrus coronata* (mart.) Becc. contra *Sitophilus zeamais* Motschulsky, 1855 (Coleoptera, Curculionidae)." Discente: Antônio Ângela Bezerra. Orientado pela Profa. Dra. Maria Tereza dos Santos Correia e coorientado pela Profa. Dra. Márcia Vanusa da Silva e pelo Prof. Dr. Thiago Henrique Napoleão. **(CONCLUÍDO)**
- Colaboração no desenvolvimento do projeto de iniciação científica intitulado Avaliação do potencial inseticida do óleo essencial de folhas de *Croton pulegioidorus* BAILL. (EUPHORBIACEAE) coletado na caatinga e microcápsulas contendo o óleo, contra *Periplaneta americana* L. 1758 (BLATTARIA: BLATTIDAE). Discente: Emanoelli Vitória da Silva dos Santos. Orientado pela Profa. Dra. Thâmarah de Albuquerque Lima. **(CONCLUÍDO)**
- Colaboração no desenvolvimento do projeto de iniciação científica intitulado Avaliação da atividade inseticida do óleo de *Syagrus coronata* contra *Sitophilus zeamais*. Discente: Quêren Hapuque Silva Pereira de Alcântara Vilarim. Orientado pela Profa. Dra. Márcia Vanusa da Silva e coorientado pelo Prof. Dr. Thiago Henrique Napoleão. **(CONCLUÍDO)**
- Colaboração no desenvolvimento do projeto de iniciação científica intitulado

Avaliação do potencial do óleo essencial e do nanoencapsulado de *Croton heliotropiifolius* Kunth sobre *Sitophilus zeamais* (Motschulsky, 1885) como alternativas no desenvolvimento de defensivos agrícolas naturais. Discente: Quêren Hapuque Silva Pereira de Alcântara Vilarim. Orientado pela Profa. Dra. Márcia Vanusa da Silva e coorientado pelo Prof. Dr. Thiago Henrique Napoleão. **(CONCLUÍDO)**

- Colaboração no desenvolvimento do projeto de iniciação científica intitulado Avaliação do potencial inseticida do óleo essencial de folhas de um espécime de *Croton pulegioidorus* BAILL. (Euphorbiaceae) coletado na caatinga, contra *Alphitobius diaperinus* PANZER, 1797 (Coleoptera: Tenebrionidae). Discente: Gabriel Fontes de Almeida Tavares. Orientado pela Profa. Dra. Thâmarah de Albuquerque Lima. **(CONCLUÍDO)**
- Colaboração no desenvolvimento de experimentos da tese intitulada Efeito do extrato salino de sarcotesta de *Punica granatum* L. no desenvolvimento do *Aedes aegypti* L. (1762) e avaliação da toxicidade *in vivo*. Discente: Juliane Nancy de Oliveira Silva. Orientado pela Profa. Dra. Thâmarah de Albuquerque Lima e coorientado pela Profa. Dra. Ana Patrícia Silva de Oliveira. **(EM ANDAMENTO)**
- Certificamos que o trabalho intitulado: Effects of Lectin Preparations from *Microgramma vacciniifolia* on *Alphitobius diaperinus* (Panzer) (Coleoptera: Tenebrionidae) (J-36), de autoria de: Santos, N.D.L.; Albuquerque, L.P.; Amorim, M.M.R.; Silva, J.N.O., Santos, P. E. M., Paiva, P.M.G., Barros, M.R. ; Napoleão, T.H. ; Pontual, E.V., foi apresentado como poster durante a XV Reunião Regional da Sociedade Brasileira de Bioquímica e Biologia Molecular (SBBq), realizada em Maceió, Alagoas, no período de 15 a 18 de novembro de 2023. **(CONCLUÍDO)**
- Certificamos que o trabalho intitulado: Bioactivity of the essential oil of *Lippia alba* (MILL.) leaves Against *Nasutitermes corniger* (Blattodea:Termitidae) (J-24), de autoria de: Silva, J. V. ; Santos, P. E. M. ; Silva, J. N. O. ; Santos, E.V.S.; Tavares, G.F.A.; Vilarim, Q. H. S. P. A. ; Souza, D. A. C. ; Oliveira, A. P. S. ; Napoleão, T. H. ; Lima, T. A. ; Paiva, P. M. G., foi apresentado como poster durante a XV Reunião Regional da Sociedade Brasileira de Bioquímica e Biologia Molecular (SBBq), realizada em Maceió, Alagoas, no período de 15 a 18 de novembro de 2023. <https://easyapp.ekmf.com.br/sg/uploads/eventos/evento10/docs/livro.pdf> **(CONCLUÍDO)**
- Certificamos que o trabalho intitulado: Insecticidal activity of the essential oil of *Lippia alba* (Mill.) N.E.Br. ex Britton & P.Wilson leaves and its main compound (1,8-cineole) against *Sitophilus zeamais* Mots., 1855 (Coleoptera: Curculionidae) (J-42), de autoria de: Vilarim, Q. H. S. P. A. ; Silva, J. N. O ; Santos, P. E. M.; Tavares, G.F.A. ; Santos, E.V.S.; Oliveira, A. P. S ; Paiva, P. M. G. ; Napoleão, T. H. ; Lima, T. A ., foi apresentado como poster durante a XV Reunião Regional da Sociedade Brasileira de Bioquímica e Biologia Molecular (SBBq), realizada em Maceió, Alagoas, no período de 15 a 18 de novembro de 2023.

<https://easyapp.ekmf.com.br/sg/uploads/eventos/evento10/docs/livro.pdf>
(CONCLUÍDO)

- Certificamos que o trabalho intitulado: Phytochemical profile and effect of saline extract of *Punica granatum* L. sarcotesta against *Aedes aegypti* L. larvae (J-27), de autoria de: Silva, J.N.O ; Santos, P.E.M. ; Santos, E. V. S. ; Tavares, G. F. A. ; Bezerra, A. A. ; Souza, D. A. C. ; Silva, J. V. ; Vilarim, Q. H. S. P. A. ; Napoleão, T. H. ; Paiva, P. M. G. ; Oliveira, A.P.S. ; Lima, T. A. ; foi apresentado como poster durante a XV Reunião Regional da Sociedade Brasileira de Bioquímica e Biologia Molecular (SBBq), realizada em Maceió, Alagoas, no período de 15 a 18 de novembro de 2023.
<https://easyapp.ekmf.com.br/sg/uploads/eventos/evento10/docs/livro.pdf>
(CONCLUÍDO)
- Certificamos que o trabalho intitulado: Insecticidal activity of the fixed oil from *Syagrus coronata* (Mart.) Becc. SEEDS AGAINST *Sitophilus zeamais* Motschulsky, 1855 (Coleoptera, Curculionidae) (J-07), de autoria de: Bezerra, A. A. ; Santos, P.E.M. ; Vilarim, Q.H.S.P.A. ; Silva, J.N.O. ; Santos, E.V.S. ; Tavares, G.F.A. ; Silva, M. V. ; Paiva, P.M.G. ; Napoleão, T. H. ; Correia, M.T.S., foi apresentado como poster durante a XV Reunião Regional da Sociedade Brasileira de Bioquímica e Biologia Molecular (SBBq), realizada em Maceió, Alagoas, no período de 15 a 18 de novembro de 2023.
<https://easyapp.ekmf.com.br/sg/uploads/eventos/evento10/docs/livro.pdf>
(CONCLUÍDO)
- Certificamos que o trabalho intitulado: Insecticidal activity of eucalyptol (1,8-cineol) for the Control of *Nasutitermes corniger* MOTS., 1855 (J-15), de autoria de: Souza, D. A. C. ; Santos, P. E. M. ; Silva, J. N. O. ; Tavares, G.F.A.; Silva, J. V. ; Santos, E.V.S.; Vilarim, Q. H. S. P. A. ; Oliveira, A. P. S. ; Napoleão, T. H. ; Lima, T. A. ; Paiva, P. M. G., foi apresentado como poster durante a XV Reunião Regional da Sociedade Brasileira de Bioquímica e Biologia Molecular (SBBq), realizada em Maceió, Alagoas, no período de 15 a 18 de novembro de 2023.
<https://easyapp.ekmf.com.br/sg/uploads/eventos/evento10/docs/livro.pdf>
(CONCLUÍDO)
- Certificamos que o trabalho intitulado: Evaluation of the antibacterial and anti-biofilm potential of *Eugenia pohliana* L. (MYRTACEAE) leaf essential oil (G-01), de autoria de: Santos, E.V.S.; Barros, A. V. ; Santos, P. E. M. ; Lima, W. L. R. ; Silva, B. R. A. ; Silva, J. N. O ; Vilarim, Q. H. S. P. A. ; Tavares, G.F.A. ; Silva, J. V. ; Souza, D. A. C. ; Oliveira, M. B. M. ; Silva, M. V. ; Oliveira, A. P. S ; Napoleão, T. H. ; P, foi apresentado como poster durante a XV Reunião Regional da Sociedade Brasileira de Bioquímica e Biologia Molecular (SBBq), realizada em Maceió, Alagoas, no período de 15 a 18 de novembro de 2023.
<https://easyapp.ekmf.com.br/sg/uploads/eventos/evento10/docs/livro.pdf>

(CONCLUÍDO)

- Certificamos que o trabalho intitulado: Bioactivity of the essential oil from *Hyptis fruticosa* Salzm. Ex Benth. Leaves on *Alphitobius diaperinus* Panzer (Coleoptera: Tenebrionidae) (J-19), de autoria de: Tavares, G.F.A.; Santos, E.V.S. ; Santos, P.É.M. ; Barros, A.V. ; Silva, J.N.O. ; Bezerra, A.A. ; Vilarim, Q.H.S.P.A. ; Silva, M.V. ; Oliveira, M.B.M. ; Oliveira, A.P.S. ; Paiva, P.M.G. ; Napoleão, T.H. ; Lima, T.A., foi apresentado como poster durante a XV Reunião Regional da Sociedade Brasileira de Bioquímica e Biologia Molecular (SBBq), realizada em Maceió, Alagoas, no período de 15 a 18 de novembro de 2023. <https://easyapp.ekmf.com.br/sg/uploads/eventos/evento10/docs/livro.pdf>

(CONCLUÍDO)

- Certificamos que o trabalho intitulado: Antibacterial and antibiofilm activities of *Myrciaria tenella* essential oil (J-40), de autoria de: Santos, P. E. M. ; Barros, A. V. ; Silva, J. N. O. ; Lima, W. L. R. ; Silva, B. R. A. ; Santos, E.V.S. ; Tavares, G.F.A. ; Vilarim, Q. H. S. P. A. ; Silva, J. V. ; Souza, D. A. C. ; Oliveira, M. B. M. ; Silva, M. V. ; Oliveira, A. P. S. ; Napoleão, T. H., Lima, T. A., Paiva, P. M. G. foi apresentado como poster durante a XV Reunião Regional da Sociedade Brasileira de Bioquímica e Biologia Molecular (SBBq), realizada em Maceió, Alagoas, no período de 15 a 18 de novembro de 2023. (<https://easyapp.ekmf.com.br/sg/uploads/eventos/evento10/docs/livro.pdf>)

(CONCLUÍDO)

- Certificamos que o trabalho intitulado: Insecticidal activity of the essential oil of *Lippia alba* (Mill.) N.E.Br. ex Britton & P.Wilson leaves and its main compound (1,8-cineole) against *Sitophilus zeamais* Mots., 1855 (Coleoptera: Curculionidae) (J-42), de autoria de: Vilarim, Q. H. S. P. A. ; Silva, J. N. O. ; Santos, P. E. M. ; Tavares, G.F.A. ; Santos, E.V.S. ; Oliveira, A. P. S. ; Paiva, P. M. G. ; Napoleão, T. H. ; Lima, T. A. , recebeu a menção honrosa na categoria apresentação de poster realizada durante XV Reunião Regional da Sociedade Brasileira de Bioquímica e Biologia Molecular (SBBq), realizada em Maceió, Alagoas, no período de 15 a 18 de novembro de 2023. <https://easyapp.ekmf.com.br/sg/uploads/eventos/evento10/docs/livro.pdf>

(CONCLUÍDO)

- Certificamos que o trabalho intitulado: Phytochemical profile and effect of saline extract of *Punica granatum* L. sarcotesta against *Aedes aegypti* L. larvae (J-27), de autoria de: Silva, J.N.O ; Santos, P.E.M. ; Santos, E. V. S. ; Tavares, G. F. A. ; Bezerra, A. A. ; Souza, D. A. C. ; Silva, J. V. ; Vilarim, Q. H. S. P. A. ; Napoleão, T. H. ; Paiva, P. M. G. ; Oliveira, A.P.S. ; Lima, T. A. ; recebeu a menção honrosa na categoria apresentação de poster realizada durante XV Reunião Regional da Sociedade Brasileira de Bioquímica e Biologia Molecular (SBBq), realizada em Maceió, Alagoas, no período de 15 a 18 de novembro de 2023. <https://easyapp.ekmf.com.br/sg/uploads/eventos/evento10/docs/livro.pdf>

(CONCLUÍDO)

- Certificamos que o trabalho intitulado: Phytochemical profile and effect of saline extract of *Punica granatum* L. sarcotesta against *Aedes aegypti* L. larvae (J-27), de autoria de: Silva, J.N.O ; Santos, P.E.M. ; Santos, E. V. S. ; Tavares, G. F. A. ; Bezerra, A. A. ; Souza, D. A. C. ; Silva, J. V. ; Vilarim, Q. H. S. P. A. ; Napoleão, T. H. ; Paiva, P. M. G. ; Oliveira, A.P.S. ; Lima, T. A. ; recebeu a menção honrosa na categoria apresentação de poster realizada durante XV Reunião Regional da Sociedade Brasileira de Bioquímica e Biologia Molecular (SBBq), realizada em Maceió, Alagoas, no período de 15 a 18 de novembro de 2023. <https://easyapp.ekmf.com.br/sg/uploads/eventos/evento10/docs/livro.pdf>
(CONCLUÍDO)
- Certificamos que o trabalho intitulado: Antibacterial and antibiofilm activities of *Myrciaria tenella* essential oil (J-40), de autoria de: Santos, P. E. M. ; Barros, A. V.; Silva, J. N. O.; Lima, W. L. R. ; Silva, B. R. A. ; Santos, E.V.S. ; Tavares, G.F.A. ; Vilarim, Q. H. S. P. A. ; Silva, J. V. ; Souza, D. A. C. ; Oliveira, M. B. M. ; Silva, M. V. ; Oliveira, A. P. S. ; Napoleão, T. H., Lima, T. A., Paiva, P. M. G. recebeu a menção honrosa na categoria apresentação de poster realizada durante XV Reunião Regional da Sociedade Brasileira de Bioquímica e Biologia Molecular (SBBq), realizada em Maceió, Alagoas, no período de 15 a 18 de novembro de 2023. <https://easyapp.ekmf.com.br/sg/uploads/eventos/evento10/docs/livro.pdf>
(CONCLUÍDO)
- Certificamos que o trabalho intitulado: Caracterização química, avaliação da toxicidade in vivo e desenvolvimento de formulação inseticida do óleo essencial de folhas de *Croton pulegioides* de autoria de: Santos, P. E. M. recebeu a menção honrosa durante o II Encontro do PPGCB: Integração com a Sociedade, realizado de 25 a 28/09/2023 no Auditório Jorge Lobo do Centro de Ciências da Saúde da Universidade Federal de Pernambuco (UFPE). **(CONCLUÍDO)**

ATIVIDADE DE EXTENSÃO

- Certificamos que Patryck Érmerson Monteiro dos Santos, participou na qualidade de Membro da Comissão Organizadora da **I Escola de Verão em Bioquímica e Biotecnologia** realizada de 13/01/2025 a 23/01/2025, na cidade de Recife, contabilizando carga horária total de 60 horas. **(CONCLUÍDO)**
- Certificamos que, O(A) DISCENTE PATRYCK ERMERSON MONTEIRO DOS SANTOS, MATRÍCULA 20211011959, participou do projeto de extensão EXPLORANDO AS RELAÇÕES ENTRE A EXTENSÃO UNIVERSITÁRIA, DIVULGAÇÃO CIENTÍFICA E A POPULARIZAÇÃO DA CIÊNCIA: ESTRATÉGIAS DE AÇÃO DO LABORATÓRIO DE BIOQUÍMICA DE PROTEÍNAS (BIOPROT) DA UFPE E PARCEIROS, coordenado pelo(a) Professor(a) THIAGO HENRIQUE NAPOLEAO, promovido pelo(a) DEPARTAMENTO DE BIOQUÍMICA - CB, na função de MEMBRO DA EQUIPE EXECUTORA, com 624 hora(s) de atividades desenvolvidas. A atividade foi

realizada no período de 1 de Agosto de 2023 a 31 de Julho de 2024.
(CONCLUÍDO)

- Certificamos que, O(A) DISCENTE PATRYCK ERMERSON MONTEIRO DOS SANTOS, MATRÍCULA 20211011959, participou do evento de extensão II TRILHA ECOLÓGICA DO CATIMBAU, com carga horária de 20 hora(s), coordenado pelo(a) Professor(a) THIAGO HENRIQUE NAPOLEAO, promovido pelo(a) DEPARTAMENTO DE BIOQUIMICA - CB, na função de MEMBRO DA EQUIPE EXECUTORA, com 20 hora(s) de atividades desenvolvidas. A atividade foi realizada no período de 4 de Junho de 2024 a 6 de Junho de 2024.
(CONCLUÍDO)
- Certificamos que, O(A) DISCENTE PATRYCK ERMERSON MONTEIRO DOS SANTOS, MATRÍCULA 20211011959, participou do evento de extensão II TRILHA ECOLÓGICA DO CATIMBAU, com carga horária de 20 hora(s), coordenado pelo(a) Professor(a) THIAGO HENRIQUE NAPOLEAO, promovido pelo(a) DEPARTAMENTO DE BIOQUIMICA - CB, na função de MEMBRO DA EQUIPE EXECUTORA, com 20 hora(s) de atividades desenvolvidas. A atividade foi realizada no período de 4 de Junho de 2024 a 6 de Junho de 2024. **(CONCLUÍDO)**
- Declaramos para os devidos fins que, o(a) Discente PATRYCK ERMERSON MONTEIRO DOS SANTOS, MATRÍCULA 20211011959, está inscrito como participante do projeto de extensão CIÊNCIA ITINERANTE: DO LITORAL À CAATINGA, que ocorrerá no período de 1 de Julho de 2024 a 31 de Outubro de 2026, promovido pelo(a) PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS BIOLÓGICAS - CB, na função de MEMBRO DA EQUIPE EXECUTORA, com carga horária prevista de 720 hora(s) de atividades desenvolvidas. **(EM ANDAMENTO)**
- Certificamos que, O(A) DISCENTE PATRYCK ERMERSON MONTEIRO DOS SANTOS, MATRÍCULA 20211011959, participou do evento de extensão III ENCONTRO DO PPGB: A BIOECONOMIA COMO ALAVANCA PARA O DESENVOLVIMENTO SUSTENTÁVEL, com carga horária de 30 hora(s), coordenado pelo(a) Professor(a) THIAGO HENRIQUE NAPOLEAO, promovido pelo(a) DEPARTAMENTO DE BIOQUIMICA - CB, na função de MEMBRO DA EQUIPE EXECUTORA, com 15 hora(s) de atividades desenvolvidas. A atividade foi realizada no período de 16 de Setembro de 2024 a 6 de Outubro de 2024.
(CONCLUÍDO)
- Certificamos que, O(A) DISCENTE PATRYCK ERMERSON MONTEIRO DOS SANTOS, MATRÍCULA 20211011959, participou do evento de extensão DIA DA TERRA 2024 NA UFPE (ANO II), com carga horária de 20 hora(s), coordenado pelo(a) Professor(a) FLAVIO JOSE DA SILVA, promovido pelo(a) DEPARTAMENTO DE ENGENHARIA MECANICA - CTG, na função de MEMBRO DA EQUIPE EXECUTORA, com 8 hora(s) de atividades desenvolvidas. A atividade foi realizada no período de 25 de Abril de 2024 a 31 de Maio de 2024.
(CONCLUÍDO)

- Certificamos que Patryck Érmerson Monteiro dos Santos participou na qualidade de Ministrante do Evento de extensão “O PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS BIOLÓGICAS DA UFPE NA SEMANA NACIONAL DE CIÊNCIA E TECNOLOGIA 2023”, promovido pelo Departamento de Bioquímica do(a) Centro de Biociências, no período de 16 de outubro de 2023 a 20 de outubro de 2023, com carga horária de 38 (trinta e oito) horas, registrado no SIGPROJ – Sistema de Informação e Gestão de Projetos sob o nº 398846.2194.134786.09102023. **(CONCLUÍDO)**
- Certificamos que Patryck Érmerson Monteiro dos Santos participou na qualidade de ministrante e membro da comissão organizadora do evento de extensão “Trilha Ecológica do Catimbau”, promovido pelo Departamento de Bioquímica do(a) Centro de Biociências em 26 de junho de 2023, com carga horária de 22 (vinte e duas) horas, registrado no SIGPROJ – Sistema de Informação e Gestão de Projetos sob o nº 395009.2194.134786.25052023. **(CONCLUÍDO)**

7 REFERÊNCIA BIBLIOGRÁFICA

- AL-HAKAMI, I. A.; RAWEH, S.; EL-SHAIBANY, A.; HUMAID, A.; ELAASSER, M. A. Review of Biological Activities of Genus *Croton*. **PSM Microbiology**, v. 7, n. 1, p. 12-18, 2022
- ALMEIDA, P. S., PASSOS, R. A., OSHIRO, E., NASCIMENTO, J., PORTES, F., TEIXEIRA, M. A. B., SOUZA, M. A. F., SOUZA, E. J. **Curso de Identificação de Culicídeos de Importância Médica**. Campo Grande, Governo do Estado de Mato Grosso do Sul: Secretaria de Estado de Saúde, 2018. Disponível em: < <https://www.vs.saude.ms.gov.br/wp-content/uploads/2023/02/Apostila-treinamento-CCV-SES-I-3.pdf> >. Acesso em: 7 fev. 2025.
- ALMEIDA, W. A. D.; SILVA, I. H. L. D.; SANTOS, A. C. V. D.; BARROS, A. P.; SOUSA, A. H. D. Potentiation of copaíba oil-resin with synthetic insecticides to control of fall armyworm. **Revista Caatinga**, v. 30, n. 4, p. 1059-1066, 2017.
- ALTUNÇ, Y. E.; AGRAFIOTI, P.; LAMPIRI, E.; GÜNCAN, A.; TSIALTAS, I. T.; ATHANASSIOU, C. G. Population growth of *Prostephanus truncatus* and *Sitophilus zeamais* and infestation patterns in three maize hybrids. **Journal of Stored Products Research**, v. 101, n. 102091, p. 1-7, 2023.
- ALVES, N. V.; CASTRO, I. P. M.; GELLEN, L. F. A.; PANONTIN, J. F. Potencial farmacológico dos óleos essenciais: uma atualização. In: ALMEIDA-JUNIOR, S. **Práticas Integrativas e Complementares: Visão Holística e Multidisciplinar**. 1. ed. São Paulo: Editora Científica Digital, 2022. cap. 13, p. 144-160.
- ANDRÉ, W. P. P.; RIBEIRO, W. L. C.; OLIVEIRA, L. M. B. D.; MACEDO, I. T. F.; RONDON, F. C. M.; BEVILAQUA, C. M. L. Essential Oils and Their Bioactive Compounds in the Control of Gastrointestinal Nematodes of Small Ruminant. **Acta Scientiae Veterinariae**, v. 46, n.1522, p. 1-14, 2018.
- ARAÚJO, A., OLIVEIRA, J. V. D., FRANÇA, S. M., NAVARRO, D. M., & DUTRA, K. D. A. Toxicity and repellency of essential oils in the management of *Sitophilus zeamais*. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, v. 23, p. 372-377, 2019.
- ARAUJO, N. G. R. **Investigação do potencial citotóxico e mutagênico de extratos do gênero *Vanilla* spp. de interesse comercial**. 60 f. Dissertação (Mestrado em Biociência) - Universidade do Estado do Rio de Janeiro, Instituto de Biologia Roberto Alcântara Gomes, Rio de Janeiro, 2023
- ARAÚJO-JÚNIOR, G. D. N.; SÁ SOUZA, M.; SIMÕES, V. J. L. P.; GOMES, F. T.; JARDIM, A. M. D. R. F.; LEITE, M. L. D. M. V.; TEIXEIRA, V. I.; SILVA, T. G. F. Espécies da família Euphorbiaceae na alimentação animal. **Pubvet**, v. 12, n. 8, p. 1-8, 2018.

- ATHIÉ, I. **Insetos de grãos armazenados: aspectos biológicos e identificação**. 2. ed. São Paulo: Livraria Varela, 2002. 244 p.
- AYUB, N. M.; KASSIM, N. F. A.; SABAR, S.; WEBB, C. E.; XIANG, K. Z.; HASHIM, N. A. An efficient and biodegradable alginate-gelatin hydrogel beads as bait against *Aedes aegypti* and *Aedes albopictus*. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 224, p. 1460-1470, 2023.
- AZEVEDO, F. R.; FERREIRA, F. C. O. **Tecnologia de Aplicação de Defensivos Agrícolas**. 1. ed. Fortaleza: Embrapa Agroindústria Tropical, 2006. 47 p.
- BARBOSA, G. L.; LAGE, M. D. O.; ANDRADE, V. R.; GOMES, A. H. A.; QUINTANILHA, J. A.; CHIARAVALLOTI-NETO, F. Influência de pontos estratégicos na dispersão de *Aedes aegypti* em áreas infestadas. **Revista de Saúde Pública**, v. 53, n. 29, p. 1-12, 2019.
- BARROS, F. A.; RADÜNZ, M.; SCARIOT, M. A.; CAMARGO, T. M.; NUNES, C. F.; SOUZA, R. R.; GILSON, I. K.; HACKBART, H. C. S.; RADÜNZ, L. L.; OLIVEIRA, J. V.; TRAMONTIN, M. A.; RADÜNZ, A. L.; DAL MAGRO, J. Efficacy of encapsulated and non-encapsulated thyme essential oil (*Thymus vulgaris* L.) in the control of *Sitophilus zeamais* and its effects on the quality of corn grains throughout storage. **Crop protection**, v. 153, p. 1-10, 2022.
- BASSANI, A. T.; TRAMONTINA, A. C.; TRAMONTINA, F. F. Educação Ambiental, Vigilância em Saúde e o Controle do Vetor *Aedes aegypti* (Linnaeus, 1762) (Diptera: Culicidae). **REMEA-Revista Eletrônica do Mestrado em Educação Ambiental**, v. 36, n. 1, p. 339-356, 2019.
- BEYER, J.; ESSER, H. J.; EURLINGS, M. C. M.; VANWELZEN, P. C. A revision of the genus *Croton* (Euphorbiaceae) in Sumatra (Indonesia). **Blumea-Biodiversity, Evolution and Biogeography of Plants**, v. 68, n. 1, p. 1-25, 2023.
- BERTI-FILHO, E.; MACEDO, L. P. M. **Fundamentos de controle biológico de insetos-praga**. 1. ed. Natal: IFRN Editora, 2010. 108 p.
- BIZZO, H. R.; HOVELL, A. M. C.; REZENDE, C. M. Óleos essenciais no Brasil: aspectos gerais, desenvolvimento e perspectivas. **Química nova**, v. 32, n. 3, p. 588-594, 2009.
- BIZZO, H. R.; REZENDE, C. M. O mercado de óleos essenciais no Brasil e no mundo na última década. **Química Nova**, v. 45, n. 8, p. 949-958, 2022.
- BOSCHIERO, B. N. **Inseticidas: 5 Mecanismos de ação dos principais grupos químicos**. Agroadvance, 2022. Disponível em: <<https://agroadvance.com.br/blog-inseticidas-mecanismos-de-acao/#:~:text=Inseticidas%20s%C3%A3o%20compostos%20qu%C3%ADmicos>>

%20que,funcionar%20e%20o%20inseto%20morra.>. Acesso em: 8 set. 2023.

- BOULOGNE, I.; CONSTANTINO, R.; AMUSANT, N.; FALKOWSKI, M.; RODRIGUES, A. M. S.; HOUËL, E. Ecology of termites from the genus *Nasutitermes* (Termitidae: Nasutitermitinae) and potential for science-based development of sustainable pest management programs. **Journal of Pest Science**, v. 90, n. 1, p. 19-37, 2017.
- BRUSCA, R.; BRUSCA, G.J. **Invertebrados**. 2. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan S.A., 2007. 1012 p.
- CALDEIRA, Z. V. **Impactos de inseticidas botânico e sintético em *Palmistichus elaeis* Delvare & Lasalle 1993 (Hymenoptera: Eulophidae)**. 48 f. Dissertação (Mestrado – Programa de Pós-Graduação em Produção Vegetal) - Universidade Federal dos Vales do Jequitinhonha e Mucuri, Diamantina, 2019.
- CAMPOS, E. V. R.; PROENÇA, P. L. F.; OLIVEIRA, J. L.; BAKSHI, M.; ABHILASH, P. C.; FRACETO, L. F. Use of botanical insecticides for sustainable agriculture: future perspectives. **Ecological Indicators**, v. 105, n. 1, p. 483-495, 2019.
- CARAMBULA, S.; CRUZ, R.; DUTRA, J. R.; MELO-MENEZES, L.; BENAMÚ, M. A. Caracterização da fauna edáfica na produção pecuária em distintos sistemas de pastoreio. **Conjecturas**, v. 21, n. 4, p. 834-847, 2021.
- CARNEIRO, Z. F. **Resistência de variedades de milho crioulo ao gorgulho-do-milho *Sitophilus zeamais* (Coleoptera: Curculionidae)**. 71 f. Dissertação (Mestrado em Agronomia) - Universidade Tecnológica Federal do Paraná, 2017.
- CARUZO, M.B.R.; SECCO, R.S.; MEDEIROS, D.; RIINA, R.; TORRES, D.S.C.; SANTOS, R.F.D.; PEREIRA, A.P.N.; ROSSINE, Y.; LIMA, L.R.; MUNIZ FILHO, E.; VALDUGA, E. ***Croton in Flora e Funga do Brasil***. Jardim Botânico do Rio de Janeiro. Disponível em: <<https://floradobrasil.jbrj.gov.br/FB17497>>. Acesso em: 13 set. 2023
- CARUZO, M.B.R.; SECCO, R.S.; MEDEIROS, D.; RIINA, R.; TORRES, D.S.C.; SANTOS, R.F.D.; PEREIRA, A.P.N.; ROSSINE, Y.; LIMA, L.R.; MUNIZ FILHO, E.; VALDUGA, E. ***Croton pulegioides in Flora e Funga do Brasil***. Jardim Botânico do Rio de Janeiro. Disponível em: <<https://floradobrasil.jbrj.gov.br/FB17534>>. Acesso em: 16 set. 2023
- CARVALHO, A. F.; OLIVEIRA CARDOSO, A.; HAMBURGER, D. S. Relação entre casos de dengue e temperatura mínima em municípios do estado de São Paulo. **Brazilian Journal of Animal and Environmental Research**, v. 2, n. 5, p. 1648-1657, 2019.
- CASTRO-FARIA, Á. B. Revisão sobre alguns grupos de inseticidas utilizados no manejo integrado de pragas florestais A review of some insecticide groups used

- in forest pest integrated management. **Ambiência**, v. 5, n. 2, p. 345-358, 2009.
- CAVALCANTE, Y. P.; AMARO, B. O.; ARTUR, F. Bioprospecção dos constituintes voláteis de espécies do gênero *Croton* L. do Delta do Parnaíba. **Research, Society and Development**, v. 11, n. 7, p. e3011729639-e3011729639, 2022.
- CHOUDHURI, S.; KAUR, T.; JAIN, S.; SHARMA, C; ASTHANA, S. A review on genotoxicity in connection to infertility and cancer. **Chemico-biological interactions**, v. 345, n. 109531, p. 1-13, 2021.
- CONSOLI, R. A.; OLIVEIRA, R. L. **Principais mosquitos de importância sanitária no Brasil**. 20 ed. Rio de Janeiro:Fiocruz, 1994. 228p.
- CONSTANTINO, R. **Termite Database**. 2018. Disponível em: <<http://www.termitologia.net/termite-database>>. Acesso em: 25 ago. 2023.
- CORTEVAAGRISCIENCE. MANEJO INTEGRADO DE PRAGAS: **Modos de Ação de Inseticidas**. CORTEVAagriscience, 2020. Disponível em: <https://www.corteva.com.br/content/dam/dpagco/corteva/la/br/pt/bpa-site/ebooks/pdfs/Ebook_MIP_Manejo_Integrado_de_Pragas_Modos_de_acao_de_inseticidas.pdf>. Acesso em: 8, set. 2023.
- COSME, L.V.; GLORIA-SORIA, A.; CACCONE, A.; POWELL, J.R.; MARTINS, A.J. Evolution of kdr haplotypes in worldwide populations of *Aedes aegypti*: Independent origins of the F1534C kdr mutation. **PLoS neglected tropical diseases**, v. 14, n. 4, p. 1-18, 2020.
- COSTA-SANTOS, J.; SANTOS, M. I. G. Consequências do uso de agrotóxicos na agricultura: Uma revisão bibliográfica. **Research, Society and Development**, v. 12, n. 10, p. 1-10, 2023.
- CRUZ, D. **Planejamento e gestão de inseticidas na cultura de grãos**. CHBAGRO, 2020. Disponível em: <<https://blog.chbagro.com.br/planejamento-e-gestao-de-inseticidas-na-cultura-de-graos>>. Acesso em: 15, set. 2023.
- DEVI, S. R.; THOMAS, A.; REBIJITH, K. B.; RAMAMURTHY, V. V. Biology, morphology and molecular characterization of *Sitophilus oryzae* and *S. zeamais* (Coleoptera: curculionidae). **Journal of Stored Products Research**, v. 73, p. 135-141, 2017.
- DINIZ, A. G.; CERQUEIRA, L. V. B. M. P. D.; RIBEIRO, T. K. D. O.; COSTA, A. F.; TIAGO, P. V. Pathogenicity of isolates of *Fusarium incarnatum-equiseti* species complex to *Nasutitermes corniger* (Blattodea: Termitidae) and *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae). **International Journal of Pest Management**, v. 68, n. 2, p. 103-112, 2022.
- ENGELHARDT, R. L.; SILVA, T. M.; CARMO, F. A.; ANTUNES-ROCHA, H. V. In vitro

transdermal drug permeation tests: a regulatory scenario evaluation. **Revista Colombiana de Ciencias Químico-Farmacéuticas**, v. 51, n. 1, p. 41-67, 2022.

FERNANDES, J. R. C. ***Sitophilus zeamais* e *Sitotriga cerealella*: pragas do milho**. Agronegocios.eu: Cerealicultura, 2015. Disponível em: <<http://www.agronegocios.eu/noticias/sitophilus-zeamais-e-sitotriga-cerealella-pragas-do-milho/>>. Acesso em: 20 ago 2023

FERREIRA, E. T. A.; MATOS-ROCHA, T. J.; CALHEIROS, C. M. L. Identification of the diversity of possible breeding sites used by *Aedes aegypti* in construction works. **Diversitas Journal**, v. 7, n. 1, p. 0148-0162, 2022.

Flora e Funga do Brasil. ***Croton: Croton pulegioidorus* Baill.** Jardim Botânico do Rio de Janeiro. Disponível em: <<https://floradobrasil.jbrj.gov.br/FB17534>>. Acesso em: 07 fev. 2025

Flora e Funga do Brasil. **Euphorbiaceae**. Jardim Botânico do Rio de Janeiro. Disponível em: <<https://floradobrasil.jbrj.gov.br/FB113>>. Acesso em: 12 set. 2023

FOUAD, H. A.; CAMARA, C. A. Chemical composition and bioactivity of peel oils from *Citrus aurantiifolia* and *Citrus reticulata* and enantiomers of their major constituent against *Sitophilus zeamais* (Coleoptera: Curculionidae). **Journal of stored products research**, v. 73, n. 1, p. 30-36, 2017.

FRANCO, M. J. C. S.; ALBIERO, A. L. M. Estruturas secretoras em folha e caule de *Esenbeckia febrifuga* (A. St.-Hil.) A. Juss. ex Mart. e *Esenbeckia grandiflora* Mart. (Rutaceae). **Hoehnea**, v. 45, n. 3, p. 468-483, 2018.

GALLO, D.; NAKANO, O.; SILVEIRA-NETO, S.; CARVALHO, R. P. L.; BAPTISTA, G. C.; BERTI-FILHO, E.; PARRA, J. R. P.; ZUCCHI, R. A.; ALVES, S. B.; VENDRAMIM, J. D.; MARCHINI, L. C.; LOPES, J. O. S.; OMOTO, C. **Entomologia agrícola**. 1. ed. Piracicaba: FEALQ, 2002. 920 p.

GARBUIO, M.; DIAS, L. D.; SOUZA, L. M.; CORRÊA, T. Q.; MEZZACAPPO, N. F.; BLANCO, K. C.; OLIVEIRA, K. T.; INADA, N. M.; BAGNATO, V. S. Formulations of curcumin and d-mannitol as a photolarvicide against *Aedes aegypti* larvae: Sublethal photolarvicidal action, toxicity, residual evaluation, and small-scale field trial. **Photodiagnosis and Photodynamic Therapy**, v. 38, n. 102740, p. 1-9, 2022.

GARCEZ, W. S.; GARCEZ, F. R.; SILVA, L. M.; SARMENTO, U. C. Substâncias de origem vegetal com atividade larvídica contra *Aedes aegypti*. **Revista Virtual de Química**, v. 5, n. 3, p. 363-393, 2013.

GRAFFUNDER, K. G.; CAMILLO, C. M.; PIRES, F. L. B.; MÜLLER, G. A. Zoological Collection: a scientific approach to teaching about arthropods in a public school

in the interior of Rio Grande do Sul, Brazil. **Research, Society and Development**, v. 10, n. 7, p. 1-10, 2021.

GAZAL, V.; SANTOS, A. B.; BERBER, G. D. C. M.; RIGUEIRA, G.; FERNANDES, V.; SOUZA, T. S.; AGUIAR-MENEZES, E. L.; MENEZES, E. B. Nidificação e forrageamento habitual de térmitas (Insecta: Blattodea) em espécies arbóreas. **Scientific Electronic Archives**, v. 16, n. 3, P. 70-80, 2023.

GAZZIERO, D. L. P.; OLIVEIRA, R. B.; OVEJERO, R. F. L.; BARBOSA, H. N.; PRECIPITO, L. M. B. **Manual técnico para subsidiar a mistura em tanque de agrotóxicos e afins**. 21. ed. Londrina: Embrapa Soja, 2021, 23 p.

GEHRKE, F. S.; VISINHO, M. A. T.; PINTO, J. L.; CARMO, A.; MENEZES-RODRIGUES, F. S.; FONSECA, F. L. A. Spatial Analysis Of Dengue Cases And Correlation With Rainfall Data In São Paulo From 2015 To 2016. **Saúde e meio ambiente: revista interdisciplinar**, v. 9, n. 1, p. 264-275, 2020.

GHANNEM, S.; TOUAYLIA, S.; BOUMAIZA, M. Beetles (Insecta: Coleoptera) as bioindicators of the assessment of environmental pollution. **Human and Ecological Risk Assessment: An International Journal**, v. 24, n. 2, p. 456-464, 2018.

GOÑI, M. L.; GAÑÁN, N. A.; HERRERA, J. M.; STRUMIA, M. C.; ANDREATTA, A. E.; MARTINI, R. E. Supercritical CO₂ iof LDPE films with terpene ketones as biopesticides against corn weevil (*Sitophilus zeamais*). **The Journal of Supercritical Fluids**, v. 122, n. 1, p. 18-26, 2017.

GONÇALVES, L. B. **Características anatômicas, histoquímicas e fitoquímicas de *Cybistax antisiphilitica* (Mart.) Mart. (Bignoniaceae)**. 45 f. Dissertação (Mestrado em Biodiversidade e Conservação) – Instituto Federal Goiano, Rio Verde, 2022.

GUERRA-JUNIOR, J. I.; FERREIRA, M. R. A.; OLIVEIRA, A. M.; SOARES, L. A. L. *Croton* sp.: A review about popular uses, biological activities and chemical composition. **Research, Society and Development**, v. 11, n. 2, p. 1-15, 2022.

GULLAN, P. J.; CRANSTON P. S. **Insetos: fundamentos da entomologia**. 5. ed. Rio de Janeiro: Roca, 2017, 912 p.

HAMADA, N.; NESSIMIAN, J. L.; QUERINO, R. B.; HAMADA, N.; NESSIMIAN, J. L.; QUERINO, R. B. **Insetos aquáticos na Amazônia brasileira: taxonomia, biologia e ecologia**. 1. ed. Manaus: Editora do INPA, 2014, 724 p.

HAYASHI, M. Opinion: regulatory genotoxicity: past, present and future. **Genes and Environment**, v. 44, n. 13, p. 1-6, 2022.

HARTWIG, A.; ARAND, M.; EPE, B.; GUTH, S.; JAHNKE, G.; LAMPEN, A.; MATUS,

H.; MORNLEN, B.; RIETJENS, I. M. C. M.; SCHMITZ-SPANKE, S.; SCHRIEVER-SCHWEMMER, G.; STEINBERG, P.; EISENBRAND, G. Mode of action-based risk assessment of genotoxic carcinogens. **Archives of toxicology**, v. 94, n. 6, p. 1787-1877, 2020.

HENRIQUE, F. **Inseticidas: aliados no controle de insetos-praga**. (2019). Disponível em: <<https://boaspraticasagronicas.com.br/artigos/inseticidas>>. Acesso em: 03 fev. 2025.

HERNÁNDEZ-CRUZ, J., LUNA-CRUZ, A., LOERA-ALVARADO, E., VILLANUEVA-SÁNCHEZ, E., LANDERO-VALENZUELA, N., ZÁRATE-NICOLÁS, B. H., ... & GRANADOS-ECHEGOYEN, C. A. Efficiency of the essential oil of *Porophyllum linaria* (Asteraceae) a Mexican endemic plant against *Sitophilus zeamais* (Coleoptera: Curculionidae). **Journal of Insect Science**, p. iez079, 2019.

HONG, K. J.; LEE, W.; PARK, Y. J.; YANG, J. O. First confirmation of the distribution of rice weevil, *Sitophilus oryzae*, in South Korea. **Journal of Asia-Pacific Biodiversity**, v. 11, n. 1, p. 69-75, 2018.

IOC/Fiocruz – Instituto Oswaldo Cruz. **Dengue – Vírus e Vetor: Conheça o comportamento do mosquito *Aedes aegypti* e entenda a razão que leva este pequeno inseto a ser taxado desta forma**. 2023. Disponível em: <https://www.ioc.fiocruz.br/dengue/textos/oportunista.html>. Acesso em: 20 ago. 2023.

ISLAM, M. S.; ARA, H.; AHMAD, K. I.; UDDIN, M. M. A review on medicinal uses of different plants of Euphorbiaceae family. **UPRA3**, v. 4, n. 1, p. 45-49, 2019.

KATZUNG; B. G.; MASTERS, S. B.; TREVOR, A. J. **Farmacologia: Básica e Clínica**. 12. ed. Porto Alegre: AMGH, 2014. 1244 p.

KEMBOI, D.; PETER, X.; LANGAT, M.; TEMBU, J. A review of the ethnomedicinal uses, biological activities, and triterpenoids of *Euphorbia* species. **Molecules**, v. 25, n. 4019, p. 1-29, 2020.

KOOP, C.; VOLPI, T. A. Comparison of entomological knowledge between students from urban and rural áreas. **Revista Eletrônica Científica Ensino Interdisciplinar**, v. 7, n. 20, p. 1-14, 2021.

KRISHNA, K.; GRIMALDI, D. A.; KRISHNA, V.; ENGEL, M. S. Treatise on the Isoptera of the World: Basal Families. **Bulletin of the American Museum of Natural History**, v. 1, n. 377, p. 05-200, 2013a.

KRISHNA, K.; GRIMALDI, D. A.; KRISHNA, V.; ENGEL, M. S. Treatise on the Isoptera of the world. **Bulletin of the American Museum of Natural History**, v. 5, n. 377, p. 1495- 1987, 2013b.

- KUMARI, N.; KUMAR, V.; KUMAR, A.; KUMAR, A.; SATI, K.; PRAKASH, O.; KAPOOR, N. Biology of *Sitophilus zeamais* Motsch. On maize grains under laboratory condition. **The Pharma Innovation Journal**, v.11, n. 9, p. 1388-1391, 2022.
- LARINI, L. **Toxicologia**. 3.ed. São Paulo: Editora Manole, 1997. 311 p.
- LAURENCE, L. B.; CHABNER, B. A.; KNOLLMANN, B. C. **As bases farmacológicas da terapêutica de Goodman & Gilman**. 12. ed. Porto Alegre: AMGH, 2012. 2101 p.
- LIMA, G.; CAJAIBA, R. L.; SOUSA, E. Percepção e classificação de insetos por moradores da Comunidade Vila Pindaré, Buriticupu, Maranhão-estudo de caso. **Enciclopédia Biosfera**, v. 17, n. 32, p. 411-421; 2020.
- LEITE, G. L. D. **Entomologia básica**. 2011. Universidade Federal de Minas Gerais: Instituto de Ciências Agrárias. Disponível em: <https://www.ica.ufmg.br/wp-content/uploads/2017/06/ap_ent_basica.pdf>. Acesso em: 10 out. 2023.
- LIMA-FILHO, C. A.; SILVA LIMA, A. E.; ARCANJO, R. M. G.; LIRA-SILVA, D.; JESUS, G. F.; ALBUQUERQUE, A. O. B. C.; SILVA, A. P. R.; SILVA, M. V. B. Perfil epidemiológico dos casos de dengue no estado de Pernambuco, Brasil. **Research, Society and Development**, v. 11, n. 2, p. 1-13, 2022.
- LIMA, J. A. A. **A Urbanização Afeta Negativamente A Diversidade De Besouros: Uma Revisão Integrativa**. 42 f. Dissertação (Mestrado em Ecologia, Conservação e Manejo da Vida Silvestre) - Universidade Federal de Minas Gerais: Instituto de Ciências Biológicas, 2021.
- Lima, M. A. C. **Barata**. 2023. Disponível em: <<https://mundoeducacao.uol.com.br/biologia/barata.htm>>. Acesso em: 05 set 2023
- LIMA, R. B.; SOUTO, R. N. P.; MEDEIROS, F. A. Espécies vegetais usadas como repelentes e inseticidas no estado do Amapá, BR. **Revista Brasileira de Agroecologia**, v. 14, n. 3, p. 40-53, 2019.
- LIMA, T. A.; BAPTISTA, N. M. Q.; OLIVEIRA, A. P. S.; SILVA, P. A.; GUSMÃO, N. B.; CORREIA, M. T. S.; NAPOLEÃO, T. H.; SILVA, M. V.; PAIVA, P. M. G. Insecticidal activity of a chemotype VI essential oil from *Lippia alba* leaves collected at Caatinga and the major compound (1, 8-cineole) against *Nasutitermes corniger* and *Sitophilus zeamais*. **Pesticide Biochemistry and Physiology**, v. 177, n. 104901, p. 1-9, 2021.
- LIMA, T. A.; FERNANDES, K. M.; OLIVEIRA, A. P. S.; DORNELLES, L. P.; MARTINS, G. F.; NAPOLEÃO, T. H.; PAIVA, P. M. Termiticidal lectins from *Myracrodruon urundeuva* (Anacardiaceae) cause midgut damage when ingested by

- Nasutitermes corniger (Isoptera: Termitidae) workers. **Pest management science**, v. 73, n. 5, p. 991-998, 2017.
- LIU, Z. L.; CHU, S. S.; JIANG, C. H.; HOU, J.; LIU, Q. Z.; JIANG, G. H. Composition and insecticidal activity of the essential oil of *Lindera aggregata* root tubers against *Sitophilus zeamais* and *Tribolium castaneum*. **Journal of Essential Oil Bearing Plants**, v. 19, n. 3, p. 727-733, 2016.
- LOPES, L. M. **Óleo essencial de pimenta-longa (*Piper hispidinervum*): alternativa de controle para *Sitophilus zeamais* (Coleoptera: Curculionidae)**. 93 f. Tese (Doutorado) – Universidade Federal do Acre, Programa de Pós – Graduação em Produção Vegetal, Doutor em Produção Vegetal, Rio Branco, 2020.
- LOPES, R. D. S.; LIMA, G. D.; CORREIA, M. T. D. S.; COSTA, A. F.; LIMA, E. Á. D. L. A.; LIMA, V. L. D. M. The potential of *Isaria* spp. as a bioinsecticide for the biological control of *Nasutitermes corniger*. **Biocontrol Science and Technology**, v. 27, n. 9, p. 1038-1048, 2017.
- LORINI, I.; KRZYZANOWSKI, F. C.; BARROS FRANÇA-NETO, J.; HENNING, A. A.; HENNING, F. A. **Manejo integrado de pragas de grãos e sementes armazenadas**. 3. ed. Brasília: Embrapa, 2015. 86 p.
- MACHADO, A. W. **Entenda as formulações de agrotóxicos/defensivos agrícolas**. 2024. Disponível em: <https://www.agrolink.com.br/agrolinkfito/defensivos-e-adjuvantes/caracteristicas-e-modo-de-acao/entenda-as-formulacoes-de-defensivos-agricolas-_485933.html>. Acesso em: 07 fev.2025.
- MACHADO-FILHO, E. A.; BARBOSA, M. D. Q.; SILVA, P. L. Production and application of indian carnation oil as an alternative for the control of mosquito larvae *Aedes aegypti*. **Rev Acad. Online**, v. 6, n. 1, p. 1-23, 2020.
- MACHADO, F. P.; FOLLY, D.; ENRIQUEZ, J. J. S.; MELLO, C. B.; ESTEVES, R.; ARAÚJO, R. S.; TOLEDO, P. F. S.; MANTILLA- AFANADOR, J. G.; SANTOS, M. G.; OLIVEIRA, E. E.; RICCI-JUNIOR, E.; ROCHA, L. Nanoemulsion of *Ocotea indecora* (Shott) Mez essential oil: Larvicidal effects against *Aedes aegypti*. **Culturas e Produtos Industriais**, v. 192, n. 116031, p. 1-10, 2023.
- MAGALHÃES, C.; OLIVEIRA, C.; MATOS, C.; BRITO, S.; MAGALHÃES, T.; FERRAZ, M. Potencial inseticida de óleos essenciais sobre *Tribolium castaneum* em milho armazenado. **Revista Brasileira de Plantas Medicinais**, v. 17, n. 4, p. 1150-1158, 2015.
- MARQUES-GARCIA, F. Methods for hemolysis interference study in laboratory medicine—a critical review. **Ejifcc**, v. 31, n. 1, p. 85-97, 2020.
- MARTINS, J. C.; SILVA, É. M.; SILVA, R. S.; FERREIRA, S. R.; PICANÇO, M. C. Copaiba oil and Neem extract can be a potential alternative for the behavioral

control of *Sitophilus zeamais*. **Brazilian Journal of Biology**, v. 84, n. e254628, p. 1-6, 2022.

MATIAS, R. S. **COMO AGEM OS INSETICIDAS NOS INSETOS. PRAGAS & Eventos**. 2021. Disponível em: <<https://www.pragaseeventos.com.br/como-agem-os-inseticidas-nos-insetos/>>. Acesso em: 15 set. 2023.

MATTAR, V. T.; BORIONI, J. L.; HOLLMANN, A.; RODRIGUEZ, S. A. Insecticidal activity of the essential oil of *Schinus areira* against *Rhipibruchus picturatus* (F.)(Coleoptera: Bruchinae), and its inhibitory effects on acetylcholinesterase. **Pesticide Biochemistry and Physiology**, v. 185, n. 105134, p. 1-7, 2022.

MEDEIROS, M. A.; HERTERREITEN-SOUZA, E. S.; MILANE, P. V. G. N.; PIRES, C. S. S.; CARNEIRO, R. G.; SUJII, E. R. **Princípios e práticas ecológicas para o manejo de insetos-praga na agricultura**. 1. ed. Brasília: Emater-DF, 2010, 44 p.

MENDES, L. A.; SILVA, R. R. A.; OLIVEIRA, E. E.; CORRÊA, M. J. M.; MARQUES, C. S.; DA SILVA-FERREIRA, M. F.; TEIXEIRA, R. R.; MOREIRA, R. P. L. Optimization of inclusion complex's preparation of *Psidium cattleianum* S. essential oil and 2-hydroxypropyl- β -cyclodextrin by central composite design for application as larvicide in *Aedes aegypti* L. **Industrial Crops and Products**, v. 194, n. 116333, p. 1-12, 2023.

MENEZES-FILHO, A. C. P.; SOUSA, W. C.; CASTRO, C. F. S. Composição química dos óleos essenciais de *Schinus molle* e atividade antifúngica em *Sclerotinia sclerotiorum*. **Colloquium Agrariae**, v. 16, n.3, p.115-123, 2020.

MENEZES, P. M. N.; BRITO, M. C.; LUCCHESI, A. M.; LIMA, J. T.; ALMEIDA RIBEIRO, L. A.; SILVA, F. S. Atividade Farmacológica De Óleos Essenciais No Sistema Respiratório: Uma Revisão Sistemática De Estudos Pré-Clínicos. **Revista Eletrônica de Farmácia**, v. 14, n. 3, p. 16-31, 2017.

MIRANDA, F. R. **Desenvolvimento Pós-Embrionário do Intestino Médio e Efeito Da Cafeína e da Borra de Café em *Aedes aegypti* (DIPTERA: CULICIDAE)**. 2019. 51 f. Dissertação (Mestrado em Biologia Celular e Estrutural) - Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, 2019.

MENDES, C. R. A.; MENDES, C. E. P.; SANTOS, F. S. E.; LUZ, K. S. R.; SANTANA, L. P. Agrotóxicos: principais classificações utilizadas na agricultura brasileira-uma revisão de literatura. **Revista Maestria**, n. 17, n. 1, p. 95-107, 2019.

MERCÊS, P. F. F.; SILVA-BESSA, C. M. A.; MALAFAIA, C. B.; CÂMARA, C. A. G.; SILVA, M. M. C.; BEZERRA-SILVA, P. C.; NAVARRO, D. M. D. A. F.; NAPOLEÃO T. H. CORREIA, T. S.; SILVA, M. V.; OLIVA, M. L. V. 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. 3, n. 4, p. 417-428, 2018.

MERSON, A. A. **Ação de inseticidas sintéticos e botânicos na cultura do morangueiro sobre *Trichogramma pretiosum* RILEY (Hymenoptera: Trichogrammatidae)**. 68 f. Dissertação (Mestrado em Agropecologia) – Instituto Federal do Espírito Santos, Porto Alegre, 2022.

MORAIS, L. A. S.; MARINHO-PRADO, J. S. Plantas com Atividade Inseticida. *In*: HALFELD-VIEIRA, B. de A.; MARINHO-PRADO, J. S.; NECHET, K. de L.; MORANDI, M. A. B.; BETTIOL, W. **Defensivos agrícolas naturais: uso e perspectivas**. Brasília: Embrapa, 2016. cap. 19, p. 542-593.

MOREIRA, M. F.; MANSUR, J. F.; MANSUR-FIGUEIRA, J. Resistência e inseticidas: estratégias, desafios e perspectivas no controle de insetos. **Inst Nac Ciênc Tecnol Entomol Mol**, v. 15, n. 1, p. 1-23, 2012.

MOREMI, M. P.; MAKOLO, F.; VILJOEN, A. M.; KAMATOU, G. P. A review of biological activities and phytochemistry of six ethnomedicinally important South African *Croton* species. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 280, n. 1, p. 1-16, 2021.

MOURA, N.; VASCONCELOS, A. C.; BERNABÉ, B.; TEIXEIRA, L. J.; SARAIVA, S. Ensaio toxicológicos: um estudo sobre a utilização de testes in vivo e in vitro. **Enciclopédia biosfera**, v. 8, n. 15, p. 1945-1959, 2012.

NEGRÃO, B. G. **Efeito da radiação gama visando tratamento querentenário e análise de capacidade de expansão de milho pipocac (*Zea mays* L. Var. *everta*)**. 65 f. Dissertação (Mestrado em Tecnologia Nuclear) – Instituto de Pesquisas energéticas e Nuclear, São Paulo, 2019.

ORGANISATION FOR ECONOMIC CO-OPERATION AND DEVELOPMENT (OECD). **Testing of Chemicals. 420: Acute Oral Toxicity - Fixed Dose Procedure, OECD Guidelines for the Testing of Chemicals, Section 4**. OECD Publishing, Paris, 2002. Disponível em: https://www.oecd-ilibrary.org/environment/test-no-420-acute-oral-toxicity-fixed-dose-procedure_9789264070943-en. Acesso em: 20 jan. 2025.

ORGANISATION FOR ECONOMIC CO-OPERATION AND DEVELOPMENT (OECD). **Testing of Chemicals. 423: Acute Oral toxicity - Acute Toxic Class Method, OECD Guidelines for the Testing of Chemicals, Section 4**. OECD Publishing, Paris, 2002. Disponível em: https://www.oecd-ilibrary.org/environment/test-no-423-acute-oral-toxicity-acute-toxic-class-method_9789264071001-en. Acesso em: 20 jan. 2025.

ORGANISATION FOR ECONOMIC CO-OPERATION AND DEVELOPMENT (OECD). **Testing of Chemicals. 425: Acute Oral Toxicity: Up-and-Down Procedure, OECD Guidelines for the Testing of Chemicals, Section 4**. OECD Publishing,

Paris, 2022. Disponível em: https://www.oecd.org/en/publications/test-no-425-acute-oral-toxicity-up-and-down-procedure_9789264071049-en.html. Acesso em: 20 jan. 2025.

- OLIVEIRA, A. L. **Toxicidade pré-clínica de plantas medicinais: avaliando a descrição dos métodos com base nas diretrizes arrive (*Animals in Research: Reporting In Vivo Experiments*)**. 114 f. Dissertação (Mestrado em Ciências) – Faculdade de Ciências Farmacêuticas da Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 2019.
- OLIVEIRA, A. P.; SANTOS, A. A.; SANTANA, A. S.; LIMA, A. P. S.; MELO, C. R.; SANTANA, E. D.; SAMPAIO, T. S.; BRANCO, A. F.; ARAÚJO, A. P. A.; CRISTALDO, P. F.; BACCI, L. Essential oil of *Lippia sidoides* and its major compound thymol: Toxicity and walking response of populations of *Sitophilus zeamais* (Coleoptera: Curculionidae). **Crop Protection**, v. 112, n. 1, p. 33-38, 2018.
- OLIVEIRA, C. R. F.; MATOS, C. H. C.; DA SILVA, A. B.; SANTOS, P. É. M.; MAGALHÃES, C. R. I. **Toxicidade por contato do óleo essencial de *Croton pulegioides* Baill (Euphorbiaceae) sobre insetos de feijão armazenado**. In Open Science Research IV. 4. ed. Editora Científica Digital, 2022. Cap. 102, p. 1549-1559.
- OLIVEIRA, J. C. **Seleção de *Bacillus* spp. da Amazônia Brasileira portadores do gene Chi (quitinase) para o controle biológico de *Aedes* (*Stegomyia*) *aegypti* (Linnaeus, 1762)**. 2018. 82 f. Dissertação (Mestrado em Biotecnologia e Recursos Naturais) – Universidade do Estado do Amazonas, Manaus, 2018.
- O RAPPA; RAPADURA. 2016. **Reza Vela / Nordeste Me Veste [Acústico na Oficina Francisco Brennand]**. Direção: Warner Music Brasil. Disponível em: https://www.youtube.com/watch?v=<id_video>. Acesso em: 9 fev. 2025.
- PANGNAKORN, U.; CHUENCHOOKLIN, S. Evaluation of essential oils against *Sitophilus zeamais* (Motshulsky) (Coleoptera: Curculionidae). **Adv. in Medicinal Plant Research**, v. 6, n. 1, p. 19-25, 2018.
- PATÍÑO-BAYONA, W. R.; NAGLES GALEANO, L. J.; BUSTOS-CORTES, J. J.; DELGADO-ÁVILA, W. A.; HERRERA-DAZA, E.; SUÁREZ, L. E. C.; PRIETO-RODRÍGUEZ, J.; PATÍÑO-LADINO, O. J. Effects of Essential Oils from 24 Plant Species on *Sitophilus zeamais* Motsch (Coleoptera, Curculionidae). **Insects**, v. 12, n. 6, p. 532-550, 2021.
- PEACH, D. A.; GRIES, G. Mosquito phytophagy—sources exploited, ecological function, and evolutionary transition to haematophagy. **Entomologia Experimentalis et Applicata**, v. 168, n. 2, p. 120-136, 2020.
- PERPÉTUO, N. C.; GRAÇA CAMPOS, M.; TRINCÃO, P. R.; COUTINHO, A. P. Breve

história da toxicologia vegetal: alguns usos das plantas tóxicas ao longo do tempo. **História da Ciência e Ensino: Construindo interfaces**, v. 20, n. 1, p. 248-264, 2019.

POMBO, J. C. P.; RIBEIRO, E. R.; LIMA-PINTO, R.; SILVA, B. J. M. Efeito antimicrobiano e sinérgico de óleos essenciais sobre bactérias contaminantes de alimentos. **Segurança Alimentar e Nutricional**, v. 25, n. 2, p. 108-117, 2018.

POZO-SANTIAGO, C. O.; VELÁZQUEZ-MARTÍNEZ, J. R.; CRUZ-PÉREZ, A. D. L.; CAPELLO-GARCÍA, S.; SANCHÉZ-GUTIERREZ, F. El papel de la humedad relativa, temperatura y sustratos en la supervivencia de *Nasutitermes corniger*. **Ecosistemas y recursos agropecuarios**, v. 7, n. 3, p. 1-9, 2020.

RAFAEL, J. A.; MELO, G. A. R.; CARVALHO, C. J. B. **Insetos do Brasil: diversidade taxonomia**. 1 ed. Ribeirão Preto: Halos, 2012, 810 p.

RAFAEL, J. A.; MELO, G. A. R. D.; CARVALHO, C. J. B. D.; CASARI, S. A.; CONSTANTINO, R. **Insetos do Brasil: diversidade taxonomia**. 2 ed. Manaus: INPA, 2024, 880 p.

RAMALHO, S. D.; PINTO, M. E. F.; FERREIRA, D.; BOLZANI, V. S. Biologically active orbitides from the Euphorbiaceae family. **Planta medica**, v. 84, n. 10, p. 558-567, 2018.

REIS, D. L. R. S.; CARNEIRO, A. B.; CRUZ, V. D.; FERNANDES, E. H. M.; KNOECHELMANN, C. M.; SILVA SIQUEIRA, F. F. Potencial de plantas inseticidas no controle de formigas cortadeiras no Brasil. **Unisanta BioScience**, v. 12, n. 1, p. 17-39, 2023.

REIS, J. B.; FIGUEIREDO, L. A.; CASTORANI, G. M.; VEIGA, S. M. O. M. Avaliação da atividade antimicrobiana dos óleos essenciais contra patógenos alimentares. **Brazilian Journal of Health Review**, v. 3, n. 1, p. 342-363, 2020.

REMESH, A. V.; PRABHAKAR, P. R.; BABU, C. V. Biorational potential of Mentha essential oils of Indian origin: Comparative note on insecticidal efficacy, fumigant persistence, oviposition deterrence of *Sitophilus oryzae*. **Food Bioscience**, v. 54, n. 102932, p. 1-11, 2023.

RIBEIRO, L. P.; ANSANTE, T. F.; NICULAU, E. D. S.; PAVARINI, R.; SILVA, M. F. D. G. F. D.; SEFFRIN, R. C.; VENDRAMIM, J. D. *Pimenta pseudocaryophyllus* Derivatives: Extraction Methods and Bioactivity Against *Sitophilus zeamais* Motschulsky (Coleoptera: Curculionidae). **Neotropical entomology**, v. 44, n. 1, p. 634-642, 2015.

ROCHA, R. R. **Estudo comparativo sobre a composição química, atividade antibacteriana e efeito sinérgico dos óleos essenciais de *Croton tetradenius* Baill. e *C. pulegioidorus* Baill. contra isolados de**

Staphylococcus aureus. 79 f. Dissertação (Mestrado em Biotecnologia) – Universidade Federal do Ceará, Sobral, 2020.

- ROCHA, R. R.; MATOS, M. N. C.; GUERRERO, J. A. P.; CAVALCANTE, R. M. B.; MELO, R. S.; AZEVEDO, Á. M. A.; PEREIRA, A. M. G.; LOPES, P. H. R.; RODRIGUES, T. H. S.; BANDEIRA, P. N.; GOMES, G. A.; CATUNDA-JUNIOR, F. E. A.; CARNEIRO-TORRES, D. S.; SILVA, J. R. V.; CARNEIRO, V. Comparative study of the chemical composition, antibacterial activity and synergic effects of the essential oils of *Croton tetradenius* Baill. and *C. pulegioidorus* Baill. against *Staphylococcus aureus* isolates. **Microbial Pathogenesis**, v. 156, n. 1, p. 1-8, 2021.
- ROSA, C. S., VERAS, K. S., SILVA, P. R., LOPES NETO, J. J., CARDOSO, H. L. M., ALVES, L. P. L., BRITO, M. C. A.; AMARAL, F. M. M.; MAIA J. G. S.; MONTEIRO, O. S.; MORAES, D. F. C. COMPOSIÇÃO química e toxicidade frente *Aedes aegypti* L. e *Artemia salina* Leach do óleo essencial das folhas de *Myrcia sylvatica* (G. Mey.) DC. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v. 18, n. 1, p. 19-26, 2016.
- RUPPERT, E. E.; FOX, R. S.; BARNES, R.D. **Zoologia dos Invertebrados**. 7ª ed. São Paulo:Editora Roca, 2005. 1145 p.
- SÆBØ, I. P.; BJØRÅS, M.; FRANZYK, H.; HELGESEN, E.; BOOTH, J. A. Optimization of the hemolysis assay for the assessment of cytotoxicity. **International journal of molecular sciences**, v. 24, n. 3, p. 1-20, 2023.
- SALLEH, W. M. N. H. W.; NAFIAH, M. A.; KHAMIS, S.; JAURI, M. H. Chemical Composition of the Essential Oil of *Croton argyratus*. **Chemistry of Natural Compounds**, v. 58, n. 3, p. 556-557, 2022.
- SANTOS, A. A. B.; PACHECO, C. S. V. Atuação do biomédico na toxicologia forense. **Revista Ibero-Americana de Humanidades, Ciências e Educação**, v. 9, n. 10, p. 3940-3952, 2023.
- SANTANA, A. S.; BALDIN, E. L. L.; SANTOS, T. L. B.; BAPTISTA, Y. A.; SANTOS, M. C.; LIMA, A. P. S.; TANAJURA, L. S.; VIEIRA, T. M.; CROTTI, A. E. M. Synergism between essential oils: A promising alternative to control *Sitophilus zeamais* (Coleoptera: Curculionidae). **Crop Protection**, v. 153, n. 105882, p. 1-8, 2022.
- SANTOS, A. B. **Termitofauna (Blattodea: Termitidae) associada a espécies arbóreas em área de reserva da Ilha do Catalão da UFRJ, RJ**. 48 f. Dissertação (Mestrado em Fitossanidade e Biotecnologia Aplicada) - Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, 2015.
- SANTOS, A. F. **Filogeografia de *Nasutitermes corniger* (Isoptera: Termitidae: Nasutitermitinae) na região Neotropical**. 80 f. Dissertação (Mestrado em Genética) - Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”: Instituto de Biociências, Letras e Ciências Exatas, 2016.

- SANTOS, D. Y. A. C. **Biossíntese, funções e aplicações dos metabólitos secundários de plantas**. 1. ed. Curitiba: Appris, 2020, 401 p.
- SANTOS-JUNIOR, C. F.; SANTOS, M.; SOARES, J. B. C. A evolução no controle de insetos. **Revista Agronomia Brasileira**, v. 4, n. 1, p. 1-3, 2020.
- SANTOS, J. R.; ROCHA, A. M. Análise dos domínios biotecnológicos empregados em patentes para combate ao mosquito *Aedes aegypti*, sob enfoque patentário. **Ciências Médicas e Biológicas**, v. 17, n. 1, p. 20-26, 2018.
- SANTOS, M.; SILVA, R. A.; ANTUNES, S. C. Artrópodes. **Revista de Ciência Elementar**, v. 6, n. 2, p. 1-5, 2018.
- SANTOS, P. É. M. **Composição química e bioatividade do óleo essencial de folhas de *Croton pulegioides* Baill. sobre as espécies *Sitophilus zeamais* (Motschulsky, 1885) e *Nasutitermes corniger* (Motschulsky, 1855)**. 72 f. Dissertação (Mestrado em Bioquímica e Fisiologia) – Universidade Federal de Pernambuco, Recife, 2021.
- SANTOS, P. É. M.; NAPOLEÃO, T. H.; BARROS, A. V.; ARAÚJO, R. M.; BARROS, M. C.; OLIVEIRA, C. R. F.; OLIVEIRA, M. B. M.; MACEDO, M. L. R.; OLIVEIRA, A. P. S.; LIMA, T. A.; PAIVA, P. M. G. Chemical composition and influence of essential oil from *Croton pulegioides* Baill. Leaves on the nutrition and survival of *Sitophilus zeamais* Mots.(Coleoptera: Dryophthoridae) as well as survival and behavior of *Nasutitermes corniger* Mots.(Blattodea: Termitidae). **Crop Protection**, v. 188, p. 107026, 2025.
- SANTOS, P. É. M.; OLIVEIRA, C. R. F.; MATOS, C. H. C. Susceptibilidade de populações de *Sitophilus zeamais* ao óleo essencial de folhas de *Croton pulegioides*. **Acta Biológica Paranaense**, v. 51, n. 1, p. 1-10, 2022.
- SANTOS, P. É. M.; Silva, A. B.; Magalhães Lira, C. R. I.; Matos, C. H. C.; Oliveira, C. R. F. Toxicidade por contato do óleo essencial de *Croton pulegioides* BAILL sobre *Sitophilus zeamais* MOTSCHULSKY. **Revista Caatinga**, v. 32, n. 2, p. 329-335, 2019.
- SANTOS, R. H. G. **Composição e atividade biológica do óleo essencial foliar de *Calyptanthus dardanoi* Mattos (Myrtaceae) ocorrente na Floresta Atlântica e Caatinga**. 94 f. Dissertação (Mestrado em Ciências Biológicas) – Universidade Federal de Pernambuco, Recife, 2020.
- SANTOS, R. M.; NOGUEIRA, K. L.; CHAPLA, V. M. Composição Química e Atividade Antioxidante de Óleos Essenciais das Folhas da *Schinus terebinthifolius* e *Siparuna guianensis*. **Revista Virtual de Química**, v. 15, n. 2, p. 295-300, 2023.
- SANTOS, R. S.; GODOY, K. B.; COSTA, J. E. S. Termitofauna (Blattodea) em

- Sistemas Agroflorestais no Sudoeste da Amazônia, Acre, Brasil. **Biota Amazônia (Biote Amazonie, Biota Amazonia, Amazonian Biota)**, v. 12, n. 1, p. 57-60, 2022.
- SEIXAS, P. T. L.; DEMUNER, A. J.; ALVARENGA, E. S.; BARBOSA, L. C. A.; MARQUES, A.; FARIAS, E. D. S.; PICANÇO, M. C. Bioactivity of essential oils from *Artemisia* against *Diaphania hyalinata* and its selectivity to beneficial insects. **Scientia Agricola**, v. 75, n. 6, p. 519–525, 2018.
- SIMÕES, C. M. O.; SCHENKEL, E. P.; MELLO, J. C. P.; MENTZ, L. A.; PETROVICK, P. R. **Farmacognosia: do produto natural ao medicamento**. 1. ed. Porto Alegre: Artmed, 2017, 486 p.
- SILVA, E. C.; VIEIRA, D. D.; LEONEL, L. V. Comparação da atividade inseticida de *Chenopodium ambrosoides* e *Azadirachta indica* no controle de *Sitophilus zeamais*. **Revista Cultura Agronômica**, v. 26, n. 4, p. 554-559, 2017.
- SILVA, K. N. **Atividade entomopatogênica de espécies *Paecilomyces* contra ovos de *Aedes (Stegomyia) aegypti* Linnaeus, 1762 (Diptera: Culicidae)**. 2023. 117f. Dissertação (Mestrado em Biologia da Interação Patógeno-Hospedeiro) – Fundação Oswaldo Cruz: Instituto Leônidas e Maria Deane, Manaus, 2022.
- SILVA, L. L. M.; GARRIDO, R. G. Organofosforados e organoclorados: toxicologia médica e reflexos ambientais. **Research, Society and Development**, v. 10, n. 10, p. 1-11, 2021.
- SILVA, S. G.; CRUZ, J. D.; FIGUEIREDO, P. L. B.; COSTA, W. A.; OLIVEIRA, M. S.; PINTO, R. H. H. SILVA, R. C.; BEZERRA, F. W. F.; CARVALHO-JUNIOR, R. N.; ANDRADE, E. H. A. Aspectos botânicos dos óleos essenciais. In: DALLAMUTA, J. **Estudos Transdisciplinares Nas Engenharias**, 3. ed. São Paulo: Atena, 2019. cap. 16, p. 170-181.
- SILVA, T. L.; OLIVEIRA, C. R. F.; MATOS, C. H. M.; BADJI, C. A.; MORATO, R. P. Leaf essential oil from *Croton pulegioides* Baill shows insecticidal activity against *Sitophilus zeamais* Motschulsky. **Revista Caatinga**, v. 32, n. 2, p. 354-363, 2019.
- SILVÉRIO, M. R. S.; ESPINDOLA, L. S.; LOPES, N. P.; VIEIRA, P. C. Plant Natural Products for the Control of *Aedes aegypti*: The Main Vector of Important Arboviruses. **Moléculas**, v. 25, n. 15, p. 1-42, 2020.
- SOARES, V. F. M.; SILVA, V. S. G.; ROSA, A. C.; MENEZES, E. B. Termites (Insecta: Blattodea) buildings in urban located in the municipality of Seropédica, RJ. **Scientific Electronic Archives**, v. 10, n. 5, p. 18-25, 2017.
- SODRÉ, R. C.; SILVA, M. J. O gênero *Croton* L. (Euphorbiaceae ss–Crotonoideae) na Floresta Nacional de Silvânia, Goiás, Brasil. **Iheringia, Série Botânica**, v. 70, n.

1, p. 89-104, 2015.

- SOUZA, A. R.; NUNES-FILHO, J.; SIQUEIRA, S. M.; FERNANDES, S. J. G. **Informações Técnicas sobre Manejo e Conservação de Solos.** In. FERNANDES, J. G.; LOPES, G. M. B.; ROSA, R. C. T. O Desenvolvimento Rural Sustentável e a Agropecuária em Pernambuco. 1. ed. Recife: Instituto Agrônômico de Pernambuco, 2022. cap. 4, p. 84-101.
- SOUZA, L.; CARDOSO, M. D. G.; KONIG, I. F. M.; FERREIRA, V. R. F.; CAETANO, A. R. S.; CAMPOLINA, G. A.; HADDI, K. Toxicity, Histopathological Alterations and Acetylcholinesterase Inhibition of *Illicium verum* Essential Oil in *Drosophila Suzukii*. **Agriculture**, v. 12, n. 1667, p. 1-17, 2022.
- SOUZA, V. N. D.; OLIVEIRA, C. R. F. D.; MATOS, C. H. C.; ALMEIDA, D. K. F. D. Toxicidade da fumigação de óleos essenciais contra *Rhyzopertha dominica* (f.) Em grãos de milho armazenados. **Revista Caatinga**, v. 29, n. 2, pág. 435-440, 2016.
- SPLETOZER, A. G.; SANTOS, C. R. D.; SANCHES, L. A.; GARLET, J. Plants with insecticide potential: focus on Amazon species. **Ciência Florestal**, v. 31, n. 2, p. 974-997, 2021.
- SUBKRASAE, C.; ARDPAIRIN, J.; DUMIDAE, A.; JANTHU, P.; MUANGPAT, P.; POLSEELA, R.; TANDHAVANANT, S.; THANWISAI, A.; VITTA, A. Larvicidal activity of *Photorhabdus* and *Xenorhabdus* bacteria isolated from insect parasitic nematodes against *Aedes aegypti* and *Aedes albopictus*. **Acta Tropica**, v. 235, n.106668, p. 1-11, 2022.
- SVERDRUP-THYGESON, A. **Planeta dos insetos**. 1. ed. São Paulo: Matrix, 2019, 192 p.
- TAKAGI, B. A.; SOUZA, T. G. B.; OLIVEIRA, M. D.; BERNARDES, L. G.; ODA, J. Y.; MACHADO, A. R. D. S. R.; MACHADO, A. M. Efeito larvídica e ovocida de extratos de *Crotalaria pallida* sobre o vetor *Aedes aegypti*. **Brazilian Journal of Development**, v. 6, n. 5, p. 23060-23074, 2020.
- TORRES, D. S. N. **Diversidade de Croton L. (Euphorbiaceae) no bioma caatinga**. 2009. 295 f. Tese (Doutorado em Botânica) – Universidade Estadual de Feira de Santana, Feira de Santana, 2009.
- VIANA-JUNIOR, A. B.; OLIVEIRA, M. H.; SOUZA, R. A.; SANTOS, M. **Cupins: Vilões Nas Casas, Heróis nos Ecossistemas.** In. CANEDO-JÚNIOR, E. O.; SILVA, G. S.; KORASAKI, V. Insetos na Educação: Um guia para professores. 1 ed. Campina Grande: EPTEC, 2021, cap. 9, p. 142-153.
- VORIS, D. G. D. R.; AFONSO, C. H.; ALMEIDA FILHO, C. A.; FERNANDES, C. O.; BRITO, D. Q.; MORAES, C. S.; LIMA, K. S. C.; LIMA, J. B. P.; MIRANDA, M. G.; AVELAR, K. E. S.; FRIEDE, R.; LIMA, A. L. S. Etnofarmacológicos de Óleos

Essenciais com Atividade Larvica Contra o Mosquito *Aedes aegypt*. **Semioses**, v. 11, n. 1, p. 86-94, 2017.

XU, W. H., LIU, W. Y., & LIANG, Q. Chemical constituents from Croton species and their biological activities. **Molecules**, v. 23, n. 9, p. 2333, 2018.

XU, Y.; TANG, P.; ZHU, M.; WANG, Y.; SUN, D.; LI, H.; CHEN, L. Diterpenoids from the genus Euphorbia: Structure and biological activity (2013–2019). **Phytochemistry**, v. 190, n. 112846, p. 1-14, 2021.

YANG, Y.; ISMAN, M. B.; TAK, J. H. Insecticidal activity of 28 essential oils and a commercial product containing *Cinnamomum* Cassia bark essential oil against *Sitophilus zeamais* Motschulsky. **Insects**, v. 11, n. 8, p. 474, 2020.

ZARA, A. L. D. S. A.; SANTOS, S. M. D.; FERNANDES-OLIVEIRA, E. S.; CARVALHO, R. G.; COELHO, G. E. Estratégias de controle do *Aedes aegypti*: uma revisão. **Epidemiologia e Serviços de Saúde**, v. 25, n. 1, p. 391-404, 2016.

ZOHRA, M.; FAWZIA, A. Hemolytic activity of different herbal extracts used in Algeria. **International Journal Of Pharmaceutical Sciences And Research**, v. 5, n. 8, p. 495-500, 2014

ZULFA, R.; LO, W. C.; CHENG, P. C.; MARTINI, M.; CHUANG, T. W. Updating the insecticide resistance status of *Aedes aegypti* and *Aedes albopictus* in Asia: a systematic review and meta-analysis. **Tropical Medicine and Infectious Disease**, v. 7, n. 10, p. 306-322, 2022.

