

Rio Branco, AC / Janeiro, 2024



Toxicidade comparativa de terpenoides e fenilpropanoides presentes em óleos essenciais para lagarta-do-cartucho

Murilo Fazolin⁽¹⁾, André Fabio Medeiros Monteiro⁽²⁾, Maria Érica Costa de Lima⁽³⁾ e Natalia da Silva Maisforte⁽⁴⁾

⁽¹⁾ Pesquisador, Embrapa Acre, Rio Branco, AC. ⁽²⁾ Analista, Embrapa Acre, Rio Branco, AC. ⁽³⁾ Engenheira-agrônoma, estudante de mestrado da Universidade Federal do Acre, Rio Branco, AC. ⁽⁴⁾ Bióloga, estudante de mestrado da Universidade Federal do Acre, Rio Branco, AC.

Resumo – No manejo da resistência de insetos podem ser utilizados compostos sinérgicos em combinação com inseticidas químicos. Há poucas opções de sinérgicos comerciais. O aproveitamento das frações do óleo essencial de *Piper aduncum* L. (Oepa) obtidas por retificação é considerado ambientalmente sustentável. Portanto, o desenvolvimento de formulações a partir dessas frações enriquecidas por adição de *blends* de compostos pode ser uma opção sinérgica para inseticidas químicos, sendo esse o objetivo deste trabalho. Utilizaram-se para a elaboração do *blend*: 27 monoterpênicos, 3 sesquiterpenoides e 7 fenilpropanoides combinados com a fração nas proporções de 2,0, 10,0 e 25,0% (V/V). A toxicidade dos tratamentos foi diferenciada pela comparação dos fatores de sinergismo e coeficientes angulares das retas obtidas da regressão da resposta concentração-mortalidade para larvas de *Spodoptera frugiperda* (Smith, 1797). A fração enriquecida ou não com os diferentes compostos foi sinérgica para os inseticidas metomil e ciflutrina, e a adição do *blend* a 25,0% (V/V) favoreceu uma rápida resposta de mortalidade; pequeno efeito sinérgico foi observado para a combinação do inseticida dursban com a fração sem adição do *blend*; o inseticida ciflutrina, comparado aos demais, apresentou maior resposta sinérgica em todas as proporções na combinação com o *blend* de compostos avaliados.

Termos para indexação: *Spodoptera frugiperda*, dilapiol, monoterpênicos, sesquiterpenoides, inseticida, controle de insetos.

Comparative toxicity of terpenoids and phenylpropanoids present in essential oils to fall armyworm

Abstract – This study explores the management of insect resistance through the use of synergistic compounds in combination with chemical insecticides. The focus is on the environmentally sustainable use of fractions of the essential oil of *Piper aduncum* L. (Oepa) obtained through rectification. The development of formulations from these fractions, enriched with *blends* of compounds, is considered a synergistic option for chemical insecticides. The study employed 27 monoterpene, 3 sesquiterpene, and 7 phenylpropanoids in the

Embrapa Acre
Rodovia BR-364, km 14, sentido
Rio Branco/Porto Velho
Caixa Postal 321
69900-970 Rio Branco, AC
www.embrapa.br/acre
www.embrapa.br/fale-conosco/sac

Comitê Local de Publicações
Presidente
Elias Melo de Miranda
Secretária-executiva
Claudia Carvalho Sena

Membros
Carlos Mauricio Soares de Andrade,
Celso Luis Bergo, Evandro Orfanó
Figueiredo, Rivaldalve Coelho
Gonçalves, Rodrigo Souza Santos,
Romeu de Carvalho Andrade Neto,
Tadário Kamel de Oliveira,
Tatiana de Campos e
Virgínia de Souza Alvares

Edição executiva
e revisão de texto
Claudia Carvalho Sena e
Suely Moreira de Melo

Normalização bibliográfica
Renata do Carmo França Seabra
(CRB-11/1044)

Projeto gráfico
Leandro Sousa Fazio

Diagramação
Francisco Carlos da Rocha Gomes

Publicação digital: PDF

Todos os direitos
reservados à Embrapa.

formulation of the blend, combined with the fraction in proportions of 2.0, 10.0 and 25.0% (V/V). The toxicity of the treatments was assessed by comparing synergism factors and angular coefficients, using the concentration-mortality response to *Spodoptera frugiperda* larvae. The fraction, whether enriched or not with different compounds, demonstrated synergy with the insecticides methomyl and cyfluthrin. The addition of the blend at 25.0% (V/V) favored a rapid mortality response. A slight synergistic effect was observed for the combination of the insecticide Dursban with the fraction without the addition of the blend. Cyfluthrin exhibited a greater synergistic response, in all proportions, when combined with the blend of evaluated compounds compared to other insecticides.

Index terms: *Spodoptera frugiperda*, dillapiole, monoterpenes, sesqui-terpenes, insecticide, insect control.

Introdução

Nos últimos anos, o uso de óleos essenciais (OEs) derivados de plantas aromáticas como inseticidas de baixo risco aumentou consideravelmente devido à exigência de consumidores com consciência voltada à preservação ambiental ou como insumo para a produção orgânica. Esses óleos são facilmente produzidos por destilação por arraste de vapor do material vegetal e contêm muitos terpenos voláteis de baixo peso molecular assim como fenólicos. As principais famílias de plantas das quais podem ser extraídos incluem: Myrtaceae, Lauraceae, Lamiaceae, Piperaceae e Asteraceae (Nollet; Rathore, 2017). Os efeitos inseticidas apontados estão relacionados à repelência, inibição de crescimento para várias espécies de insetos, controlando insetos fitófagos de pré e pós-colheita, insetos domésticos e de plantas ornamentais. Com poucas exceções, sua toxicidade para mamíferos é baixa com curta persistência ambiental (Regnault-Roger et al., 2012).

O óleo essencial de pimenta-de-macaco (Oepa), *Piper aduncum* L. (Piperaceae), apresenta o dilapiol como composto majoritário (Fazolin et al., 2007), cuja estrutura química contém o grupo metilendioxifenil ligado a dois grupos metoxila (OCH₃). Trata-se de um composto precursor de lignanas que apresenta potencialmente a capacidade de interferência e inibição das principais famílias de enzimas detoxificativas dos insetos, tais como: monooxigenases dependentes do citocromo P450, esterases e glutatona S-transferase (Liu, 2015).

Essa interferência metabólica pode explicar o efeito inseticida do óleo de *P. aduncum*,

quando utilizado para o controle de vários artrópodes (Durofil et al., 2021). Por outro lado, componentes minoritários do Oepa apresentam também propriedades de inibição enzimática quando avaliados de forma isolada, tais como: limoneno (monooxigenase P450 e acetilcolinesterase); miristicina (acetilcolinesterase, carboxilesterases, glutatona S-transferase); α -pineno (monooxigenase P450); β -pineno e *p*-cimeno (esterases); e óxido de cariofileno (acetilcolinesterases). Outra vantagem do Oepa é seu *shelf-life* de no mínimo 4 anos de estabilidade em diferentes condições de armazenamento (Fazolin et al., 2022), o que pode viabilizar sua estocagem em propriedades rurais quando formulado como inseticida comercial.

A maioria das formulações comerciais à base de óleos essenciais na União Europeia e Estados Unidos é elaborada a partir de terpenoides (Fazolin et al., 2023). Os compostos importantes como os fenilpropanoides, presentes em vários óleos essenciais, não possuem avaliações de efeito comparativo tanto dentro desse grupo químico como em relação aos terpenoides o que pode limitar a disponibilidade de compostos para formulações inseticidas de interesse econômico.

Este trabalho tem por objetivo avaliar o efeito inseticida para larvas de *Spodoptera frugiperda* (Smith, 1797) de compostos presentes em óleos essenciais de piperáceas pertencentes ao grupo dos terpenoides e fenilpropanoides, com vistas à geração de conhecimento para a produção de bioinseticidas comerciais. Além disso, está de acordo com o Objetivo de Desenvolvimento Sustentável 2 (Fome Zero e Agricultura Sustentável). Os Objetivos de Desenvolvimento Sustentável (ODS) são uma coleção de 17 metas globais estabelecidas pela Assembleia Geral das Nações Unidas e contam com o apoio da Embrapa para que sejam atingidas.

Material e métodos

Produtos químicos

Os compostos puros foram adquiridos da Sigma-Aldrich (Saint Louis, MO, EUA): monoterpenos (α -pineno 97,7%, β -pineno 98,8%, limoneno 96,2%, linalol 99,5% e 1,8-cineol 99,9%); sesquiterpenos (ocimeno 94,5%, β -cariofileno 99,2%, aromadendreno 97,0% e humuleno 96,1%); arilpropanoides (miristicina 97,0% e eugenol 99,6%).

O dilapiol 99,8%, sarisan 99,7% e safrol 99,9% foram obtidos de folhas e talos finos de plantas selecionadas e coletadas do Banco Ativo de Germoplasma da Embrapa Acre (autorização Ibama

nº 02001.050950/2011-61 para fins científicos de pesquisa e 02000.000460/2013-96 para bioprospecção). Esses compostos foram obtidos pelo método de coação ou de recirculação de água condensada conforme Santos et al. (2004). Para a quantificação dos compostos majoritários, foi utilizado cromatógrafo gasoso (HP, modelo 6890, Palo Alto, US), com coluna (Agilent J&W DB-5ht modelo 123-5731) de 3,2 mm de diâmetro por 30,0 m de comprimento e detector de ionização de chama. A temperatura do injetor foi de 300 °C e velocidade do gás de arraste (hélio) de 5,0 mm min⁻¹. Os óleos foram solubilizados em metanol (100,00 µL de óleo/900,00 µL de solvente) e injetado 1,00 µL de solução; *Split* 1:20. A temperatura inicial foi de 80 °C, subindo a 250 °C nos primeiros 17 minutos, finalizando aos 20 minutos. Os padrões dos tempos de retenção foram: safrol 7'09", sarisan 12'52" e dilapiol 15'60".

Avaliação dos efeitos toxicológicos dos compostos in vitro

Cada um dos compostos foi submetido a bioensaios para avaliar o efeito inseticida por contato tóxico. Para isso, foram utilizadas em todos os bioensaios larvas de *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith, 1797) no terceiro instar, conforme definição de Machado et al. (2022). As larvas foram obtidas a partir de uma criação artificial instalada no Laboratório de Entomologia da Embrapa Acre, seguindo a metodologia proposta por Shmidt et al. (2001) (autorização de reprodução pela licença Sisbio nº 13464-2). As avaliações toxicológicas foram realizadas no Laboratório de Entomologia da Embrapa Acre e seguiram a metodologia de Estrela et al. (2006).

Na definição dos parâmetros experimentais para os bioensaios foram realizados testes preliminares seguindo a metodologia de Robertson et al. (2016), dentro do delineamento experimental inteiramente casualizado com quatro repetições por tratamento. Cada repetição consistiu de dez larvas de insetos individualizadas em placas de Petri (6,0 x 1,5 cm). Para todos os compostos, 1,00 µL de cada tratamento foi aplicado na face dorsal do pronoto da larva com o auxílio de uma microsseringa graduada (Al-Sarar et al., 2006). As larvas permaneceram por 24 horas sem alimentação. Depois de definir o intervalo de resposta geral de concentrações que causaram quase zero a quase 100% de mortalidade de larvas, foram determinados intervalos de resposta mais estreitos, seguindo a metodologia descrita por Finney (1971). Sete concentrações foram selecionadas por meio dessa metodologia para os bioensaios finais de contato tóxico.

Em todos os bioensaios os compostos foram diluídos em solvente acetona, também utilizado como controle negativo. Após a aplicação as placas contendo as larvas foram colocadas e mantidas em incubadora termoeletrica refrigerada a 25 ± 2 °C, 70,0 ± 5,0% de umidade relativa e fotofase de 12 horas. Decorridas 24 horas de confinamento, a mortalidade larval foi avaliada e corrigida pela mortalidade natural usando o ajuste matemático de Abbott (1925).

Foram determinadas as doses letais com maior probabilidade de resultar 50,0% de mortalidade das larvas (DL₅₀), por meio das curvas de concentração-mortalidade e intervalos de confiança (95,0% CI) determinados pela análise de Probit utilizando o programa SAS (SAS Institute, 2001). Para avaliar a qualidade do ajuste, foi utilizado o teste qui-quadrado de Pearson (χ^2) com nível de significância de 5,0%.

Para a diferenciação dos tratamentos com relação ao efeito inseticida foi considerada como diferença significativa a ausência da sobreposição dos valores dos intervalos de confiança a 95,0% das DL₅₀ de cada composto avaliado (Van Frankenhuyzen, 2009), e conseqüentemente a sobreposição desses valores indica a ausência de diferença significativa entre os tratamentos comparados.

Resultados e discussão

Na avaliação do efeito inseticida de cada composto, o menor valor da DL₅₀ 0,35 parte por milhão (µg/L) (Tabela 1) indica que o efeito tóxico do dilapiol para as larvas de *S. frugiperda* foi superior a todos os compostos avaliados.

O dilapiol foi até 6,9 vezes superior aos fenilpropanoides submetidos à comparação; até 18,5 vezes em relação aos sesquiterpenos hidrocarbonados; 40,5 vezes quando comparado aos monoterpenos hidrocarbonados e 18,3 a 36,6% mais tóxico que os monoterpenos oxigenados (Figura 1).

O maior valor da DL₅₀ foi obtido com o ocimeno que diferiu significativamente dos demais compostos avaliados (Figura 1), indicando baixa toxicidade para as larvas de *S. frugiperda* (Tabela 1).

O ocimeno é um volátil encontrado em plantas superiores, sendo apontado como um dos mais importantes metabólitos secundários envolvidos na defesa da planta contra ataques de herbívoros, provocando respostas de defesa específicas. A resposta das plantas ao ocimeno e a sua eficácia como eliciador interespecífico de defesa vegetal podem variar entre diferentes espécies de plantas, bem como em função do contexto ambiental e das interações específicas com outros organismos.

No entanto, estudos têm demonstrado que o ocimeno pode desempenhar um papel importante na comunicação química entre as plantas e contribuir para a resistência geral do ecossistema vegetal contra os ataques de herbívoros e patógenos (Cascone et al., 2015). Portanto, a baixa mortalidade apresentada por esse composto como inseticida pode estar relacionada a essas características de interação, que pressupõem baixa letalidade.

Assim, observou-se ausência de diferença significativa entre os valores das DL_{50} e os demais monoterpenos hidrocarbonados, além do β -cariofileno (Figura 1).

A ausência de significância entre a toxicidade do α -pineno e β -pineno, para larvas de *S. frugiperda*, de 8,21 e 8,52 μL , respectivamente, refletiu a alta toxicidade desses compostos para esse alvo obtida

em experimentos desenvolvidos anteriormente por Pavela (2014), quando foram observados valores da DL_{50} entre 8,70 e 8,50 μL , respectivamente.

As ligações duplas são importantes na atividade pesticida das moléculas naturais, pois a hidrogenação dessas ligações diminui o caráter lipofílico desses compostos, restringindo sua passagem através da cutícula das larvas (Lomonaco et al., 2009). O α -pineno, que possui uma dupla ligação exocíclica, é mais tóxico para as larvas de *Aedes aegypti* (L., 1762) (Diptera: Culicidae) do que o β -pineno que possui uma dupla ligação endocíclica (Perumalsamy et al., 2009; Lucia et al., 2020). Tal diferença toxicológica ligada à estrutura química não pode ser observada entre esses compostos quando aplicados em larvas de *S. frugiperda*.

Tabela 1. Doses letais (DL_{50}) com intervalos de confiança dos compostos avaliados como inseticida para larvas de terceiro instar de *Spodoptera frugiperda*.

Grupo químico ⁽¹⁾	Composto	DL_{50} (IC 95,0%) ($\mu\text{L/L}$) ⁽²⁾	GL ⁽³⁾	Prob. χ^2 ⁽⁴⁾	Pearson χ^2	$R^{2(5)}$	Coefficiente angular \pm EPM ⁽⁶⁾
F	dilapiol	0,35 (0,29–0,40)	22	0,7040	18,0332	0,72	1,17 \pm 0,15
F	miristicina	0,62 (0,58–0,66)	18	0,8764	11,0530	0,88	1,84 \pm 0,16
F	sarisan	0,95 (0,55–1,41)	26	0,3946	24,7780	0,76	0,33 \pm 0,05
F	safrol	2,02 (1,89–2,15)	26	0,5895	23,6260	0,81	2,05 \pm 0,20
F	metil eugenol	2,28 (2,00–2,68)	22	0,3867	23,6790	0,82	1,03 \pm 0,10
MOO	linalol	2,71 (2,43–2,98)	38	0,1225	48,4140	0,85	0,90 \pm 0,06
MOO	1,8-cineol	3,91 (3,44–4,39)	34	0,9993	1,6763	0,88	0,94 \pm 0,06
SH	aromadendreno	4,24 (3,45–5,39)	18	0,2576	21,4431	0,75	0,64 \pm 0,09
SH	humuleno	4,94 (4,12–5,67)	20	0,1034	28,2604	0,75	0,83 \pm 0,11
SH	β -cariofileno	6,24 (4,49–8,93)	16	0,6323	13,5492	0,80	0,49 \pm 0,06
MH	limoneno	6,41 (5,95–6,92)	46	0,9988	16,6017	0,86	1,33 \pm 0,08
MH	α -pineno	8,21 (6,69–10,65)	17	0,4060	17,7305	0,90	0,68 \pm 0,05
MH	β -pineno	8,52 (6,61–9,76)	18	0,0661	27,7428	0,76	0,90 \pm 0,15
MH	ocimeno	12,81 (11,84–13,72)	22	0,9044	13,9184	0,85	1,61 \pm 0,14

⁽¹⁾ Fenilpropanoide (F), monoterpeno oxigenado (MOO), sesquiterpeno hidrocarbonado (SH) e monoterpeno hidrocarbonado (MH).

⁽²⁾ Doses letais que causam 50,0% de mortalidade dos insetos (DL_{50}) e intervalo de confiança a 95,0% de probabilidade (IC 95,0%).

⁽³⁾ Grau de liberdade (GL). ⁽⁴⁾ Probabilidade (Prob.) e qui-quadrado (χ^2). ⁽⁵⁾ Coeficiente de determinação (R^2). ⁽⁶⁾ Erro padrão da média (EPM).

Com relação ao limoneno não foram observadas diferenças significativas entre a sua DL_{50} e a dos compostos relatados anteriormente. Trata-se de um importante monoterpenoide presente no óleo essencial de laranja, utilizado em formulações inseticidas comerciais (Nollet; Rathore, 2017). Os valores da DL_{50} obtidos para larvas de terceiro instar

de *Spodoptera exigua* (Hübner, 1808) (Lepidoptera: Noctuidae) estiveram ao redor de 6,76 $\mu\text{L/L}$ (Chen et al., 2021), semelhantes aos obtidos para larvas de *S. frugiperda* (6,41 $\mu\text{L/L}$) neste experimento (Tabela 1). No entanto, podem ocorrer variações de toxicidade para uma mesma espécie-alvo, como aponta Perumalsamy et al. (2009), quando

a DL_{50} para larvas de *Culex pipiens pallens* Coquillett, 1898 (Diptera: Culicidae) variou de 13,26 a 64,13 $\mu\text{L/L}$ para esse composto, nas mesmas condições experimentais.

Para o sesquiterpeno hidrocarbonado β -cariofileno a toxicidade observada para larvas de *S. frugiperda* foi maior que para larvas de *S. exigua* (Chen et al., 2021), 6,24 e 13,48 $\mu\text{L/L}$, respectivamente. Valores de toxicidade também significativamente

superiores aos obtidos nessa experimentação foram estabelecidos para alvos de diferentes espécies e fases de desenvolvimento, tais como: larvas aquáticas de *A. aegypti* (54,95 $\mu\text{L/L}$) e *Culex p. palens* (44,99 $\mu\text{L/L}$) (Wang et al., 2015), indicando que a variação do tipo de inseto-alvo pode alterar a ação tóxica desse composto, considerando-se as nítidas diferenças entre os tipos e estágios de desenvolvimento dos artrópodes comparados.

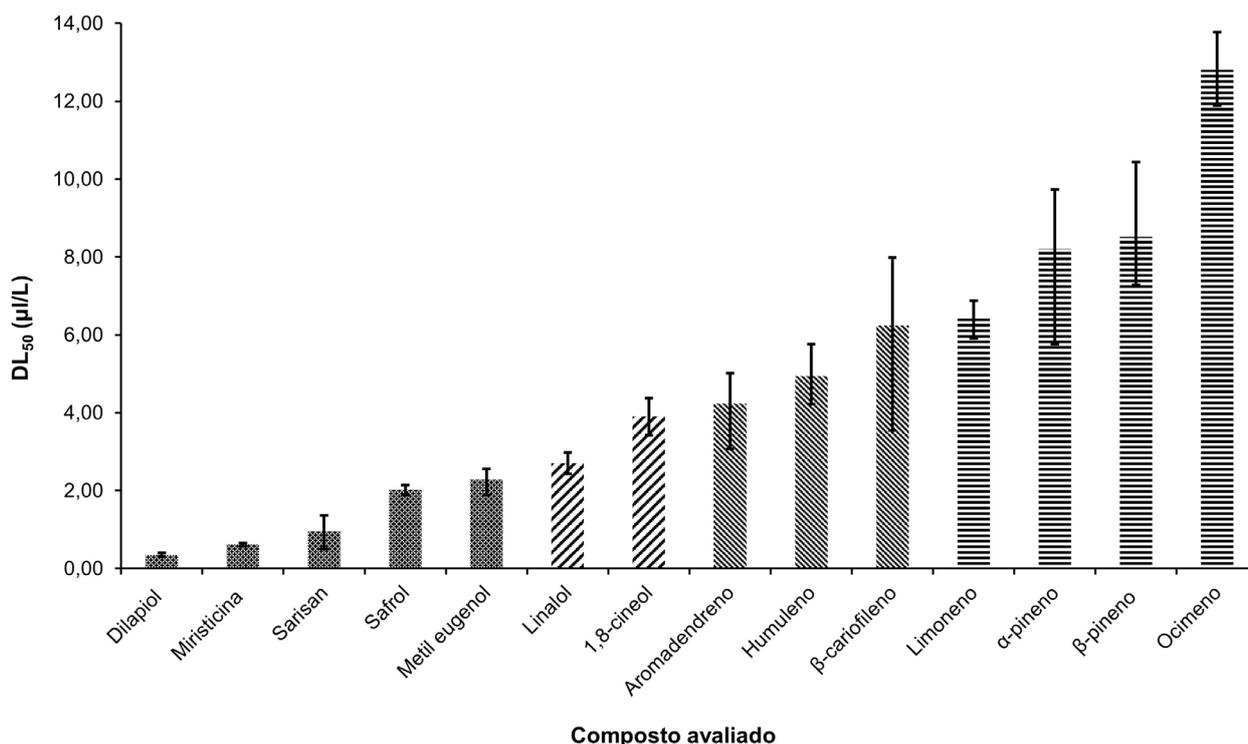


Figura 1. Significância entre as diferenças das doses letais (DL_{50}) dos compostos avaliados como inseticida para larvas de terceiro instar de *Spodoptera frugiperda*.

Barras (valores dos intervalos de confiança) que se sobrepõem não diferem significativamente entre si com 95,0% de probabilidade.

Resultados semelhantes confirmam essa hipótese comparando-se as DL_{50} do efeito tóxico do humuleno, outro sesquiterpeno hidrocarbonado, quando em contato com diferentes alvos de espécies distintas e suas respectivas fases de desenvolvimento. As DL_{50} para adultos de *Sitophilus zeamais* (Motschulsky, 1855) (Coleoptera: Curculionidae) e *Tribolium castaneum* (Herbst, 1797) (Coleoptera: Tenebrionidae) foram de 40,00 e 45,00 $\mu\text{L/L}$, respectivamente (Kim; Lee, 2014); e para larvas aquáticas de *Anopheles subpictus* (Grassi, 1899), *Aedes albopictus* Skuse, 1894 e *Culex tritaeniorhynchus* Giles, 1901 (Diptera: Culicidae) foram de 41,66, 44,77 e 48,17 $\mu\text{L/L}$, respectivamente (Govindarajan; Benelli, 2016). Todos esses valores indicam menor toxicidade quando comparados à

DL_{50} de 4,90 $\mu\text{L/L}$ obtida por contato para larvas de *S. frugiperda* (Tabela 1).

Um terceiro grupo de compostos, considerado mais tóxico que os referidos anteriormente, compreende o aromadendreno e o 1,8-cineol que apresentaram valores de DL_{50} de 4,24 e 3,91 $\mu\text{L/L}$, respectivamente, não diferindo significativamente entre si (Figura 1), assim como com relação à DL_{50} do humuleno (4,94 $\mu\text{L/L}$) e do β -cariofileno (6,24 $\mu\text{L/L}$).

Esse grupo de compostos, pertencente a grupos químicos diferentes, apresenta respostas diferenciadas em relação aos anteriormente citados quando se comparam as respectivas toxicidades após as aplicações realizadas em diferentes tipos de alvo.

O aromadendreno, um sesquiterpeno oxigenado, apresentou uma DL_{50} de 29,61 $\mu\text{L/L}$ (Moraes

et al., 2017) menos tóxica para *Tetranychus urticae* C. L. Koch, 1836 (Trombidiformes: Tetranychidae) quando comparada à DL₅₀ obtida para *S. frugiperda* (4,24 µl/L) (Tabela 1).

Embora não seja tão conhecido quanto outros compostos naturais com propriedades inseticidas, o aromadendreno apresenta propriedades repelentes contra insetos. Além disso, por possuir um grupo metileno exocíclico reativo e um anel de ciclopropano, apresenta a possibilidade de alquilar proteínas, causando distúrbios na sua conformação. Trata-se de um composto altamente lipofílico, que possibilita a ruptura de biomembranas celulares (Sikkema et al., 1994; Wink, 2007, 2008) o que pode facilitar sua penetração quando em contato com o tegumento do inseto, aumentando seu potencial de uso como inseticida.

O monoterpeneo oxigenado 1,8-cineol também apresenta essa propriedade na interação por contato com insetos, uma vez que proporcionou um aumento da penetração de terpenoides, de uma maneira geral, na cutícula de larvas de *Trichoplusia ni* (Hübner, 1803) (Lepidoptera: Noctuidae), quando combinado com compostos desse grupo químico. Adicionalmente, ficou constatado que 1,8-cineol não apenas interagiu com a camada de cera do tegumento do inseto como também aumentou a solubilidade do terpenoide associado a ele (Tak; Isman, 2015).

Pode ser constatada diferença de resposta toxicológica de 1,8-cineol em relação a larvas de terceiro instar de insetos pertencentes à família Noctuidae, importante grupo taxonômico de insetos-pragas. Enquanto a DL₅₀ para *S. exigua* foi de 10,42 µl/L (Chen et al., 2021), menores valores foram observados para *S. frugiperda*, 5,62 µl/L (Pavela, 2014), este correspondendo a um valor maior que o obtido no presente estudo (3,91 µl/L) (Tabela 1), demonstrando que, de uma forma geral, essa espécie pode apresentar resposta discretamente diferenciada à ação tóxica desse composto dentro de uma mesma família de insetos.

Adotou-se, no presente estudo, para a classificação dos compostos avaliados como de alta interferência toxicológica para larvas de *S. frugiperda*, aqueles cujos valores da DL₅₀ se encontram abaixo de 3,50 µl/L. Esse valor foi tomado como uma média dos valores da DL₅₀ para diferentes alvos de todos os compostos relatados na literatura consultada, além da revisão realizada por Durofil et al. (2021). Isso permitiu eleger um grupo de seis compostos como os mais tóxicos para larvas de *S. frugiperda*.

O linalol, monoterpeneo oxigenado, embora tendo sua utilização predominantemente voltada à

elaboração de fragrâncias e produtos de cuidados pessoais (Bizzo; Rezende, 2022), pode apresentar também atividade inseticida. O valor da DL₅₀ de 2,71 µl/L diferiu significativamente dos compostos com menor toxicidade ao inseto-alvo relatados até aqui, assim como dos compostos que apresentaram maior toxicidade que serão relatados na sequência, à exceção do metil eugenol (Figura 1). A DL₅₀ de 2,75 µl/L para larvas de *S. frugiperda* (Pavela, 2014) foi muito próxima à obtida no presente estudo (DL₅₀ = 2,71 µl/L) (Tabela 1). Adicionalmente, ficou demonstrado que esse composto age sobre o sistema nervoso dos insetos afetando o transporte de íons e a liberação de acetilcolinesterase (Re et al., 2000).

Dessa forma, outros cinco compostos pertencentes ao grupo dos arilpropanoides apresentaram alta toxicidade pelo critério adotado.

O metil eugenol apresentou uma DL₅₀ de 2,28 µl/L, não diferindo significativamente da DL₅₀ do safrol (2,02 µl/L) (Figura 1). Sua DL₅₀ variou entre 24,45 e 30,80 µl/L para anofelídeos (Govindarajan; Benelli, 2016), sendo, portanto, menos tóxico quando comparado ao obtido neste estudo para larvas de *S. frugiperda*. No entanto, a DL₅₀ de 4,00 µl/L para larvas de *S. frugiperda* (Pavela, 2014) foi duas vezes superior à obtida nas condições do presente trabalho.

Foi relatado valor elevado da DL₅₀ do safrol (361,38 µl/L) para lagartas de *S. frugiperda* (Lima et al., 2009) em condições semelhantes à executada neste experimento, cujo valor foi de 2,02 µl/L, portanto com elevada toxicidade comparativa.

Assim como o metil eugenol, o safrol pode atuar como um disruptor do sistema nervoso dos insetos, causando sua morte ou repelindo-os. A utilização dos dois compostos como inseticida está sujeita a regulamentações e restrições em muitos países devido aos seus possíveis efeitos tóxicos com impacto na saúde humana e ao meio ambiente (Kempri et al., 2020). Deve ser notada a estreita relação das reações bioquímicas durante o processo metabólico de insetos para esses compostos, uma vez que foi constatada a biotransformação do safrol em metil eugenol e eugenol por lagartas de *Heraclydes thoas brasiliensis* (Rothschild; Jordan, 1906) (Lepidoptera: Papilionidae), após a ingestão de alimento contaminado por safrol composto. A clivagem do grupo metilendioxi do safrol é uma das principais vias de metabolismo do butóxido de piperonila, derivado semissintético do safrol, constituindo um potente inibidor do citocromo P450 (Ramos; Barbosa, 2014).

Pelos menores valores de DL₅₀ observados, os compostos mais tóxicos comparados ao dilapiol foram a miristicina (DL₅₀ = 0,62 µl/L) e sarisan

(0,95 µl/L) que não diferiram significativamente entre si (Figura 1).

O sarisan (1-alil-2-metoxi-4,5-metilenodioxibenzeno) apresenta espectro de massa muito semelhante ao da miristicina, embora seus índices de retenção sejam diferentes (Bizzo et al., 2001). Sua atividade inseticida é pouco relatada, sendo a toxicidade para adultos de *Ceratomyia arcuata tingomariana* Bechyné ($DL_{50} = 3,20 \mu\text{l/L}$) e *S. zeamais* ($DL_{50} = 4,20 \mu\text{l/L}$) observada por Fazolin et al. (2011). Esses resultados estão de acordo com os obtidos anteriormente para adultos de *Musca domestica* L., 1758 (Diptera: Muscidae) (3,45 µl/L) (Jing et al., 2005). Em todos os casos a toxicidade para larvas de *S. frugiperda* foi maior na presente avaliação.

A miristicina, quando aplicada topicamente, causou mortalidade expressiva para larvas de *T. ni*, apresentando uma DL_{50} de 6,15 µl/L (Afshar et al., 2017). Mesmo considerando tratar-se de um lepidóptero, esse composto foi mais tóxico para larvas de *S. frugiperda* (0,62 µl/L) (Tabela 1) nas observações deste trabalho.

A aplicação tópica de miristicina em relação à ingestão da mesma dose é considerada mais eficaz devido ao acesso rápido do composto à hemolinfa do inseto, desde que seja uma dose única e aplicada de uma só vez. Quando administrada via oral, por meio da alimentação, considera-se a disponibilidade de forma gradual e em pequenas quantidades de cada vez, o que pode se estender por um longo período. Com isso, o acesso à hemolinfa via trato digestivo proporciona tempo suficiente para intervenção do sistema enzimático de metabolização e/ou excreção do produto químico, o que auxilia na eliminação desse composto (Srivastava et al., 2001).

O dilapiol foi o que apresentou a maior toxicidade para larvas de *S. frugiperda* dentre os compostos avaliados (0,35 µl/L) (Tabela 1), a qual diferiu significativamente de todos eles (Figura 1). Esse valor é comparável com os relatados para larvas dessa espécie (Estrela et al., 2006; Fazolin et al., 2007) e aos valores descritos em uma extensa revisão bibliográfica publicada por Durofil et al. (2021), quando evidenciaram a toxicidade desse arilpropanoide para dezenas de alvos artrópodes com o uso de óleo essencial rico em dilapiol, ou mesmo dilapiol purificado.

A eficácia toxicológica do dilapiol para insetos está relacionada com a capacidade de inibir grupos de importantes enzimas destoxicativas dos insetos: as monooxigenases dependentes do citocromo P450, esterases e a glutathione S-transferases (Shankarganesh et al., 2009; Waliwitiya et al., 2012; Liu et al., 2014; Lima et al., 2015; Liu, 2015).

Com isso o óleo rico em dilapiol, formulado por meio de *blends* enriquecidos com compostos que lhe conferem sinergia, poderá ser utilizado como ferramenta alternativa aos inseticidas químicos no manejo integrado de *S. frugiperda*, uma vez que a evolução da resistência desse inseto para diversos princípios ativos inseticidas, incluindo-se diferentes proteínas Bt (Arthropod [...], 2023), é uma realidade. Deve ser evidenciado ainda que, em geral, uma das principais características dos óleos essenciais está relacionada à complexidade das misturas de compostos ativos com diferentes mecanismos de ação que impedem ou retardam o processo de evolução da resistência (Rattan, 2010; Sutthanont et al., 2010; Regnault-Roger et al., 2012).

Considerações sobre a aplicação prática dos resultados da pesquisa

Como os óleos essenciais são considerados misturas complexas de compostos, o conhecimento do efeito inseticida de forma individualizada de alguns deles pode auxiliar no entendimento da toxicidade total do óleo, ou mesmo de um *blend* artificial que pode vir a ser utilizado como inseticida botânico.

No Brasil, apesar da riqueza em biodiversidade, estímulo à exploração racional e sustentável de bioeconomia e recente legislação que incentiva a descoberta e geração de novos bioinsumos, uma discreta ou quase nula disponibilidade de produtos à base de princípios ativos botânicos se encontra disponível no mercado nacional. Nos Estados Unidos, por exemplo, a empresa EcoSmart utiliza o princípio da combinação sinérgica de compostos ou mesmo OEs na geração de inseticidas considerados *ecofriends*, cujo mercado é garantido e ascendente (Fazolin et al., 2023).

Tais produtos seguem o princípio de que os componentes majoritários dos OEs geralmente refletem suas características biofísicas e biológicas (Ipek et al., 2005), sendo a amplitude dos seus efeitos biológicos em um organismo-alvo dependente apenas das suas respectivas concentrações, quando esses componentes são avaliados de forma isolada ou como combinação com outros compostos presentes no óleo. Óleos essenciais são muitas vezes consideravelmente mais eficazes do que os seus compostos purificados e/ou isolados e há evidências de que constituintes menores podem atuar como sinérgistas, aumentando o efeito dos constituintes principais por meio de uma variedade de mecanismos (Akhtar; Isman, 2013).

Considerando-se a utilização do Oepa como inseticida de forma individual ou em combinação com outros óleos essenciais, os resultados obtidos

no presente estudo remetem à necessidade de que seja investigada a combinação binária dos compostos avaliados com o dilapiol, componente majoritário desse óleo essencial, para que sejam conhecidas as interações entre eles a fim de permitir a exploração daquelas em que o aditivismo ou mesmo sinergismo se manifeste na maior eficácia quanto à mortalidade do alvo que se pretende controlar.

Como demonstra a experiência da empresa americana EcoSmart, a combinação de óleos essenciais para a geração de inseticidas parece a alternativa que deve ser considerada em função da maior disponibilidade de opções de matéria-prima. Assim, após a comprovação e seleção das combinações aditivas e sinérgicas com o dilapiol, *blends* de óleos essenciais produzidos no Brasil poderiam ser igualmente usados para a elaboração desses bioinsumos, uma vez que a utilização de compostos purificados, com certeza, não apresenta viabilidade econômica.

Como exemplo dessa potencialidade de uso, pode ser registado que o Brasil é o maior produtor mundial e exportador de suco de laranja e, em consequência, o maior produtor e exportador do óleo essencial de laranja, principalmente *Citrus sinensis*, além de outras espécies (Trade Map, 2022). Em 2018 foram produzidas 154,6 mil toneladas de OEs de laranja, equivalentes a US\$ 418 milhões (IBGE, 2022). No período até 2020 esse OE, rico em limoneno, passou de US\$ 2,7 por quilograma para US\$ 4,6 por quilograma (Bizzo; Rezende, 2022).

Outro OE de importância comercial brasileira é o de eucalipto (rico em 1,8-cineol). Estima-se que 85,0% do total produzido foi exportado (Destilaria Meneghetti, 2022) em volumes crescentes no período de 2011–2020. O preço médio do produto variou pouco, indo de US\$ 17 por quilograma em 2011 para US\$ 14 por quilograma em 2020 (Comex Stat, 2022).

Na Amazônia, plantas produtoras de OEs apresentam potencial de fornecimento de compostos de importância inseticida: sacaca, *Croton cajuca-ra Benth* (Euphorbiaceae), e catinga-de-mulata, *Aellanthus suaveolens* Matt. ex Spreng (Lamiaceae), são fontes importantes de linalol (32,0 e 50,0% dos teores totais, respectivamente); pataqueira, *Conochea scoparioides* Cham. & Schltld (Scrophulariaceae), e envira-de-macaco, *Xylopiia aromatica* (Lam.) Mart. (Annonaceae), em relação à produção dos compostos timol e limoneno, nos teores de 52,0 e 45,0%, respectivamente. Outras espécies, como a casca-preciosa, *Aniba canelilla* (Kunth) (Lauraceae), e a salva-de-marajó, *Hyptis crenata* Pohl ex Benth (Lamiaceae), são produtoras de óleos essenciais,

sendo seus compostos majoritários metil eugenol e 1,8-cineol (Fazolin et al., 2023).

Outras espécies de plantas, com potencial de utilização como inseticida ou fonte de compostos para combinações, são as pertencentes ao gênero *Copaifera* L., 1762, que podem apresentar em seu oleorresina teores de β -cariofileno acima de 50,0% (Galúcio et al., 2016).

Um entrave para a utilização dos OEs na composição inseticida, citados anteriormente, é o fato de que somente a catinga-de-mulata apresenta produção de óleo essencial a partir de cultivo da biomassa, sendo as demais espécies produtoras de óleo por extrativismo (Fazolin et al., 2023).

Tais OEs, citados como exemplo, têm potencial para serem utilizados em composições inseticidas juntamente com o Oepa, logicamente após a análise da compatibilidade e viabilidade comercial em função dos custos de produção da formulação e disponibilidade da matéria-prima.

Conclusões

Os grupos químicos que apresentaram maior toxicidade para larvas de *S. frugiperda* foram, em ordem decrescente: fenilpropanoides, seguidos dos monoterpenos oxigenados, sesquiterpenos hidrocarbonados e finalmente os monoterpenos hidrocarbonados. Pelo critério adotado os compostos com maior toxicidade foram em ordem decrescente: dilapiol, miristicina, sarisan, safrol, metil eugenol e linalol.

Agradecimentos

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) pelas bolsas concedidas; ao assistente do Laboratório de Entomologia, Pedro Pereira da Silva, pela dedicação na criação de insetos-alvo e auxílio na montagem de experimentos.

Referências

- ABBOTT, W. S. A method of computing the effectiveness of an insecticide. **Journal of Economic Entomology**, v. 18, n. 2, p. 265-267, Apr. 1925. DOI: <https://doi.org/10.1093/jee/18.2.265a>.
- AFSHAR, F. H.; MAGGI, F.; IANNARELLI, R.; CIANFAGLIONE, K.; ISMAN, M. B. Comparative toxicity of *Helosciadium nodiflorum* essential oils and combinations of their main constituents against the cabbage looper, *Trichoplusia ni* (Lepidoptera). **Industrial Crops**

and Products, v. 98, p. 46-52, Apr. 2017. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2017.01.004>.

AKHTAR, Y.; ISMAN, M. B. Plant natural products for pest management: the magic of mixtures. In: ISHAAYA, I.; PALLI, S. R.; HOROWITZ, A. R. (ed.). **Advanced technologies for managing insect pests**. Dordrecht: Springer, 2013. p. 231-247. DOI: https://doi.org/10.1007/978-94-007-4497-4_11.

AL-SARAR, A.; HALL, F. R.; DOWNER, R. A. Impact of spray application methodology on the development of resistance to cypermethrin and spinosad by fall armyworm *Spodoptera frugiperda* (JE Smith). **Pest Management Science**, v. 62, n. 1, p. 1023-1031, Nov. 2006. DOI: <https://doi.org/10.1002/ps.1241>.

ARTHROPOD pesticide resistance database. Michigan: Michigan State University, 2023. Disponível em: <https://www.pesticideresistance.org/search.php>. Acesso em: 30 out. 2023.

BIZZO, H. R.; LOPES, D.; ABDALA, R. V.; PIMENTEL, F. A.; DE SOUZA, J. A.; PEREIRA, M. V.; GUIMARAES, E. F. Sarisan from leaves of *Piper affinis hispidinervum* C. DC (long pepper). **Flavour and Fragrance Journal**, v. 16, n. 2, 113-115, Mar./Apr. 2001. DOI: <https://doi.org/10.1002/ffj.957>.

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. DOI: <https://doi.org/10.21577/0100-4042.20170889>.

CASCONE, P.; IODICE, L.; MAFFEI, M. E.; BOSSI, S.; ARIMURA, G. I.; GUERRIERI, E. Tobacco overexpressing β -ocimene induces direct and indirect responses against aphids in receiver tomato plants. **Journal of Plant Physiology**, v. 173, p. 28-32, Jan. 2015. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jplph.2014.08.011>.

CHEN, Y.; LUO, J.; ZHANG, N.; YU, W.; JIANG, J.; DAI, G. Insecticidal activities of *Salvia hispanica* L. essential oil and combinations of their main compounds against the beet armyworm *Spodoptera exigua*. **Industrial Crops and Products**, v. 162, 113271, Apr. 2021. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2021.113271>.

COMEX STAT. Brasília, DF: Brasil. Ministério da Indústria, Comércio Exterior e Serviços, 2022. Disponível em: <http://comexstat.mdic.gov.br/pt/home>. Acesso em: 12 mar. 2022.

DESTILARIA MENEGHETTI. [Website]. São João do Paraíso, MG, 2022. Disponível em: <http://www.destilariameneghetti.com.br/>. Acesso em: 2 abr. 2022.

DUROFIL, A.; RADICE, M.; BLANCO-SALAS, J.; RUIZ-TÉLLEZ, T. *Piper aduncum* essential oil: a promising insecticide, acaricide and antiparasitic: a review.

Parasite, v. 28, e42, 2021. DOI: <https://doi.org/10.1051/parasite/2021040>.

ESTRELA, J. L. V.; FAZOLIN, M.; CATANI, V.; ALÉCIO, M. R.; LIMA, M. S. D. Toxicity of essential oils of *Piper aduncum* and *Piper hispidinervum* against *Sitophilus zeamais*. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 41, n. 2, p. 217-222, fev. 2006. DOI: <https://doi.org/10.1590/S0100-204X2006000200005>.

FAZOLIN, M.; ESTRELA, J. L. V.; CATANI, V.; ALECIO, M. R.; LIMA, M. S. Propriedade inseticida dos óleos essenciais de *Piper hispidinervum* C. DC., *Piper aduncum* L. e *Tanaecium nocturnum* (Barb. Rodr.) Bur. & K. Shum sobre *Tenebrio molitor* L., 1758. **Ciência & Agrotecnologia**, v. 31, n. 1, p. 113-120, fev. 2007. DOI: <https://doi.org/10.1590/S1413-70542007000100017>.

FAZOLIN, M.; ESTRELA, J. L. V.; ALBUQUERQUE, E. S. de; COSTA, C. R. da; CATANI, V.; CAVALCANTE, A. D. S.; DAMACENO, J. D. O. Avaliação toxicológica de óleo essencial de *Piper affinis hispidinervum* para insetos pragas das culturas do milho e feijão. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE DEFENSIVOS AGRÍCOLAS NATURAIS, 5., 2011, Jaguariúna. [Anais...]. Jaguariúna: Embrapa Meio Ambiente, 2011. 4 p. 1 CD-ROM. Disponível em: <http://www.alice.cnptia.embrapa.br/alice/handle/doc/898337>. Acesso em: 2 abr. 2022.

FAZOLIN, M.; MONTEIRO, A. F. M.; BIZZO, H. R.; GAMA, P. E.; VIANA, L. de O.; LIMA, M. E. C. de. Insecticidal activity of *Piper aduncum* oil: variation in dillapiole content and chemical and toxicological stability during storage. **Acta Amazonica**, v. 52, n. 3, p. 179-188, jul./set. 2022. DOI: <https://doi.org/10.1590/1809-4392202102292>.

FAZOLIN, M.; MONTEIRO, A. F. M.; MALVAZI, F. W.; ESTRELA, J. L. V. Óleos essenciais como sinergistas de formulações inseticidas. In: RIBEIRO, L. do P.; VENDRAMIM, J. D.; BALDIN, E. L. L. (ed.). **Inseticidas botânicos no Brasil: aplicações, potencialidades e perspectivas**. Piracicaba, SP: Fealq, 2023. p. 557-615.

FINNEY, D. J. **Probit analysis**. New York: Cambridge University Press, 1971. 338 p.

GALÚCIO, C. D. S.; BENITES, C. I.; RODRIGUES, R. A.; MACIEL, M. R. W. Recuperação de sesquiterpenos do óleo-resina de copaíba a partir da destilação molecular. **Química Nova**, v. 39, n. 7, p. 795-800, ago. 2016. DOI: <https://doi.org/10.5935/0100-4042.20160096>.

GOVINDARAJAN, M.; BENELLI, G. α -Humulene and β -elemene from *Syzygium zeylanicum* (Myrtaceae) essential oil: highly effective and eco-friendly larvicides against *Anopheles subpictus*, *Aedes albopictus*, and *Culex tritaeniorhynchus* (Diptera: Culicidae).

Parasitology Research, v. 115, p. 2771-2778, July 2016. DOI: <https://doi.org/10.1007/s00436-016-5025-2>.

IBGE. Sistema IBGE de Recuperação Automática.

Tabela 6705: produção e vendas dos produtos e/ou serviços industriais, segundo as classes de atividades e os produtos - Prodlist Indústria 2016. Rio de Janeiro, 2022. Disponível em: <https://sidra.ibge.gov.br/Tabela/6705>. Acesso em: 2 abr. 2022.

IPEK, E.; ZEYTINGLU, H.; OKAY, S.; TUYLU, B. A.; KURKCUOGLU, M.; BASER, K. H. C. Genotoxicity and antigenotoxicity of *Origanum* oil and carvacrol evaluated by *Ames salmonella*/microsomal test. **Food Chemistry**, v. 93, n. 3, p. 551-556, Dec. 2005. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2004.12.034>.

JING, Z. H. A. N. G.; ZHI-QING, M. A.; JUN-TAO, F. E. N. G.; GANG, F. E. N. G.; XING, Z. H. A. N. G. Bioactivity of sarisan against *Musca domestica* L. and *Culex pipiens pallens*. **Chinese Journal of Pesticide Science**, v. 1, p. 85-87, 2005. DOI: <http://dx.doi.org/10.3969/j.issn.1008-7303.2012.01.01>.

KEMPRAI, P.; PROTIM MAHANTA, B.; SUT, D.; BARMAN, R.; BANIK, D.; LAL, M.; HALDAR, S. Review on safrole: identity shift of the 'candy shop' aroma to a carcinogen and deforester. **Flavour and Fragrance Journal**, v. 35, n. 1, p. 5-23, Jan. 2020. DOI: <https://doi.org/10.1002/ffj.3521>.

KIM, S. I.; LEE, D. W. Toxicity of basil and orange essential oils and their components against two coleopteran stored products insect pests. **Journal of Asia-Pacific Entomology**, v. 17, n. 1, p. 13-17, Mar. 2014. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.aspen.2013.09.002>.

LIMA, R. K.; CARDOSO, M. G.; MORAES, J. C.; MELO, B. A.; RODRIGUES, V. G.; GUIMARÃES, P. L. Atividade inseticida do óleo essencial de pimenta longa (*Piper hispidinervum* C. DC.) sobre lagarta-do-cartucho do milho *Spodoptera frugiperda* (JE Smith, 1797) (Lepidoptera: Noctuidae). **Acta Amazonica**, v. 39, n. 2, p. 377-382, 2009. DOI: <https://doi.org/10.1590/S0044-59672009000200016>.

LIMA, V. S.; PINTO, A. C.; RAFAEL, M. S. Effect of isodillapiole on the expression of the insecticide resistance genes GSTE7 and CYP6N12 in *Aedes aegypti* from Central Amazonia. **Genetics and Molecular Research**, v. 14, n. 4, p. 16728-16735, Dec. 2015. DOI: <https://doi.org/10.4238/2015.december.11.20>.

LIU, S. Q. **The Activity of analogs of the natural product dillapiol and sessamol as detoxification enzyme inhibitors and insecticide synergists**. 2015. 183 f. Thesis (Doctorate in Philosophy degree in Biology) – Faculty of Graduate and Postdoctoral Studies, Faculty of Science, University of Ottawa, Ottawa, Canada. Disponível em: https://dam-oclc.bac-lac.gc.ca/download?is_thesis=1&oclc_number=1293866321&id=564fc-

[1c8-e83b-4126-9451-d42750060c61&fileName=Liu_Su_Qi_2015_Thesis.pdf](https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2014.06.030). Acesso em: 2 abr. 2022.

LIU, S. Q.; SCOTT, I. M.; PELLETIER, Y.; KRAMP, K.; DURST, T.; SIMS, S. R.; ARNASON, J. T. Dillapiol: a pyrethrum synergist for control of the colorado potato beetle. **Journal of Economic Entomology**, v. 107, n. 2, p. 797-805, Apr. 2014. DOI: <https://doi.org/10.1603/ec13440>.

LOMONACO, D.; SANTIAGO, G. M. P.; FERREIRA, Y. S.; ARRIAGA, A. M. C.; MAZZETTO, S. E.; MELE, G.; VASAPOLLO, G. Study of technical CNSL and its main components as new green larvicides. **Green Chemistry**, v. 11, n. 1, p. 31-33, Jan. 2009. DOI: <https://doi.org/10.1039/B811504D>.

LUCIA, A.; GIRARD, C.; FANUCCE, M.; COVIELLA, C.; RUBIO, R. G.; ORTEGA, F.; GUZMÁN, E. Development of an environmentally friendly larvicidal formulation based on essential oil compound blend to control *Aedes aegypti* larvae: correlations between physicochemical properties and insecticidal activity. **ACS Sustainable Chemistry & Engineering**, v. 8, n. 29, p. 10995-11006, 2020. DOI: <https://doi.org/10.1021/acssuschemeng.0c03778>.

MACHADO, L. C.; SANTOS JUNIOR, H. J. G. dos; SANTOS, B. A. dos; SOARES, C. de O.; MAURI, L. V. R.; RODRIGUES, J. A. Desenvolvimento de estágio larval de *Spodoptera frugiperda* (LEPIDOPTERA: NOCTUIDAE) em temperaturas sob condição padronizada. **Revista em Agronegócio e Meio Ambiente**, v. 15, n. 4, p. 1-11, out./dez. 2022. DOI: <https://doi.org/10.17765/2176-9168.2022v15n4e9668>.

MORAES, M. M. de; CAMARA, C. A. D.; SILVA, M. Comparative toxicity of essential oil and blends of selected terpenes of *Ocotea species* from Pernambuco, Brazil, against *Tetranychus urticae* Koch. **Anais da Academia Brasileira de Ciências**, v. 89, n. 3, p. 1417-1429, jul./set. 2017. DOI: <https://doi.org/10.1590/0001-3765201720170139>.

NOLLET, L. M.; RATHORE, H. S. Essential oil mixtures for pest control. In: RATHORE, H. S.; NOLLET, L. M. (ed.). **Green pesticides handbook: essential oils for pest control**. Washington, DC: CRC Press, 2017. p. 509-520.

PAVELA, R. Acute, synergistic and antagonistic effects of some aromatic compounds on the *Spodoptera littoralis* Bois. (Lep., Noctuidae) larvae. **Industrial Crops and Products**, v. 60, p. 247-258, Sept. 2014. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2014.06.030>.

PERUMALSAMY, H.; KIM, N. J.; AHN, Y. J. Larvicidal activity of compounds isolated from *Asarum heterotropoides* against *Culex pipiens pallens*, *Aedes aegypti*, and *Ochlerotatus togoi* (Diptera: Culicidae). **Journal of Medical Entomology**, v. 46, n. 6, p. 1420-1423, Nov. 2009. DOI: <https://doi.org/10.1603/033.046.0624>.

- RAMOS, C. S.; BARBOSA, Q. P. Metabolism of safrole by *Heraclides thoas brasiliensis* (Papilionidae). **The Journal of the Lepidopterists' Society**, v. 68, n. 4, p. 283-285, 2014. Disponível em: <https://bioone.org/journals/the-journal-of-the-lepidopterists-society/volume-68/issue-4/lepi.v68i4.a6/Metabolism-of-Safrole-by-Heraclides-thoas-brasiliensis-Papilionidae/10.18473/lepi.v68i4.a6.pdf>. Acesso em: 2 abr. 2022.
- RATTAN, R. S. Mechanism of action of insecticidal secondary metabolites of plant origin. **Crop Protection**, v. 29, n. 9, p. 913-920, Sept. 2010. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.cropro.2010.05.008>.
- RE, L.; BAROCCI, S.; SONNINO, S.; MENCARELLI, A.; VIVANI, C.; PAOLUCCI, G.; MOSCA, E. Linalool modifies the nicotinic receptor-ion channel kinetics at the mouse neuromuscular junction. **Pharmacological Research**, v. 42, n. 2, p. 177-181, Aug. 2000. DOI: <https://doi.org/10.1006/phrs.2000.0671>.
- REGNAULT-ROGER, C.; VINCENT, C.; ARNASON, J. T. Essential oils in insect control: low-risk products in a high-stakes world. **Annual Review of Entomology**, v. 57, p. 405-424, Jan. 2012. DOI: <https://doi.org/10.1146/annurev-ento-120710-100554>.
- ROBERTSON, J. L.; JONES, M. M.; OLGUIN, E.; ALBERTS, B. **Bioassays with arthropods**. 3. ed. Boca Raton: CRC Press, 2016. 212 p.
- SANTOS, A. S.; ALVES, S. M.; FIGUEIRÊDO, F. J. C.; ROCHA NETO, O. G. **Descrição de sistema e de métodos de extração de óleos essenciais e determinação de umidade de biomassa em laboratório**. Belém, PA: Embrapa Amazônia Oriental, 2004. 6 p. (Embrapa Amazônia Oriental. Comunicado técnico, 99). Disponível em: <http://www.infoteca.cnptia.embrapa.br/infoteca/handle/doc/402448>. Acesso em: 2 abr. 2022.
- SAS INSTITUTE. **User's guide**: statistics, version 8.2. 6. ed. Cary, NC, 2001.
- SHANKARGANESH, K.; SUBAHMANYAM, B.; WALIAAND S.; DHINGRA, S. Dillapiole mediated esterase inhibition in insecticide resistant *Spodoptera litura* (Fabricius). **Pesticide Research Journal**, v. 21, n. 2, p. 143-147, Dec. 2009. Disponível em: <https://www.indianjournals.com/ijor.aspx?target=ijor:prj&volume=21&issue=2&article=006>. Acesso em: 2 abr. 2022.
- SHMIDT, F. V.; MONNERAT, R. G.; BORGES, M.; CARVALHO, R. S. da. **Metodologia de criação para avaliação de agentes entomopatogênicos**. Brasília, DF: Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, 2001. 32 p. (Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia. Circular técnica, 11).
- SIKKEMA, P.; DE BONT, J. A.; POOLMAN, B. Interactions of cyclic hydrocarbons with biological membranes. **Journal of Biological Chemistry**, v. 269, n. 11, p. 8022-8028, Mar. 1994. DOI: [https://doi.org/10.1016/S0021-9258\(17\)37154-5](https://doi.org/10.1016/S0021-9258(17)37154-5).
- SRIVASTAVA, S.; GUPTA, M. M.; PRAJAPATI, V.; TRIPATHI, A. K.; KUMAR, S. Insecticidal activity of myristicin from *Piper mullesua*. **Pharmaceutical Biology**, v. 39, n. 3, p. 226-229, 2001. DOI: <https://doi.org/10.1076/phbi.39.3.226.5933>.
- SUTTHANONT, N.; CHOOCHOTE, W.; TUETUN, B.; JUNKUM, A.; JITPAKDI, A.; CHAITHONG, U.; RIYONG, D.; PITASAWA, B. Chemical composition and larvicidal activity of edible plant-derived essential oils against the pyrethroid-susceptible and -resistant strains of *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae). **Journal of Vector Ecology**, v. 35, n. 1, p. 106-115, June 2010. DOI: <https://doi.org/10.1111/j.1948-7134.2010.00066.x>.
- TAK, J. H.; ISMAN, M. B. Enhanced cuticular penetration as the mechanism for synergy of insecticidal constituents of rosemary essential oil in *Trichoplusia ni*. **Scientific Reports**, v. 5, e12690, 2015. DOI: <https://doi.org/10.1038/srep12690>.
- TRADE MAP: trade statistics for international business development. International Trade Centre, 2022. Disponível em: <https://www.trademap.org/Index.aspx>. Acesso em: 12 mar. 2022.
- VAN FRANKENHUYZEN, K. Insecticidal activity of *Bacillus thuringiensis* crystal proteins. **Journal of Invertebrate Pathology**, v. 101, n. 1, p. 1-16, Apr. 2009. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jip.2009.02.009>.
- WALIWIWIYA, R.; NICHOLSON, R. A.; KENNEDY, C. J.; LOWENBERGER, C. A. The synergistic effects of insecticidal essential oils and piperonyl butoxide on biotransformational enzyme activities in *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae). **Journal of Medical Entomology**, v. 49, n. 3, p. 614-623, May 2012. DOI: <https://doi.org/10.1603/ME10272>.
- WANG, X.; HAO, Q.; CHEN, Y.; JIANG, S.; YANG, Q.; LI, Q. The effect of chemical composition and bioactivity of several essential oils on *Tenebrio molitor* (Coleoptera: Tenebrionidae). **Journal of Insect Science**, v. 15, n. 1, e116, Aug. 2015. DOI: <https://doi.org/10.1093/jisesa/iev093>.
- WINK, M. Bioprospecting: the search for bioactive lead structures from nature. In: KAYSER, O.; QUAX, W. (ed.). **Medicinal plant biotechnology**: from basic research to industrial applications. Weinheim: Wiley-VCH, 2007. p. 9-116.
- WINK, M. Evolutionary advantage and molecular modes of action of multi-component mixtures used in phytomedicine. **Current Drug Metabolism**, v. 9, n. 10, p. 996-1009, 2008. DOI: <https://doi.org/10.2174/138920008786927794>.



*Ministério da
Agricultura e Pecuária*