



1 **UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DE PERNAMBUCO**

2 **DEPARTAMENTO DE BIOLOGIA**

3 **CURSO DE LICENCIATURA EM CIÊNCIAS BIOLÓGICAS**

4

5

6

7

8

9

10 **EFEITO COMPARATIVO DE INSETICIDAS NATURAIS E SINTÉTICO NO**
11 **APARELHO DIGESTIVO, GÔNADAS E NUTRIÇÃO DO BICUDO-DO-**
12 **ALGODOEIRO *ANTHONOMUS GRANDIS* BOHEMAN (COLEOPTERA:**
13 **CURCULIONIDAE)**

14

15

16

17

MARIA CLARA DA NÓBREGA FERREIRA

18

19

20

21

22

RECIFE

23

2021

24
25
26
27
28
29
30
31
32
33
34
35
36
37
38
39
40
41
42
43
44
45
46
47
48
49

MARIA CLARA DA NÓBREGA FERREIRA

**EFEITO COMPARATIVO DE INSETICIDAS NATURAIS E SINTÉTICO NO
APARELHO DIGESTIVO, GÔNADAS E NUTRIÇÃO DO BICUDO-DO-
ALGODOEIRO *ANTHONOMUS GRANDIS* BOHEMAN (COLEOPTERA:
CURCULIONIDAE)**

Monografia apresentada ao Curso de Licenciatura Plena em Ciências Biológicas/UFRPE como requisito parcial para obtenção do grau de Licenciado em Ciências Biológicas.

Orientadora: Glaucilane dos Santos Cruz.

Co-orientadora: Valéria Wanderley Teixeira.

RECIFE

2021

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação
Universidade Federal Rural de Pernambuco
Sistema Integrado de Bibliotecas
Gerada automaticamente, mediante os dados fornecidos pelo(a) autor(a)

F383e Ferreira, Maria Clara da Nóbrega
EFEITO COMPARATIVO DE INSETICIDAS NATURAIS E SINTÉTICO NO APARELHO DIGESTIVO,
GÔNADAS E NUTRIÇÃO DO BICUDO-DO-ALGODOEIRO ANTHONOMUS GRANDIS BOHEMAN
(COLEOPTERA: CURCULIONIDAE): Estudo exploratório / Maria Clara da Nóbrega Ferreira. - 2021.
43 f. : il.

Orientadora: Glaucilane dos Santos Cruz.
Coorientador: Valeria Wanderley Teixeira.
Inclui referências.

Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação) - Universidade Federal Rural de Pernambuco,
Licenciatura em Ciências Biológicas, Recife, 2022.

1. Algodão. 2. Histologia. 3. Pragas. 4. Óleos essenciais. 5. Toxicidade. I. Cruz, Glaucilane dos Santos,
orient. II. Teixeira, Valeria Wanderley, coorient. III. Título

50
51
52
53
54
55
56
57
58
59
60
61
62
63
64
65
66
67
68
69
70
71
72
73
74
75
76
77
78
79
80
81
82

MARIA CLARA DA NÓBREGA FERREIRA

**EFEITO COMPARATIVO DE INSETICIDAS NATURAIS E SINTÉTICO NO
APARELHO DIGESTIVO, GÔNADAS E NUTRIÇÃO DO BICUDO-DO-
ALGODOEIRO *ANTHONOMUS GRANDIS* BOHEMAN (COLEOPTERA:
CURCULIONIDAE)**

Comissão Avaliadora:

Dr^a Glaucilane dos Santos Cruz – UFRPE
Orientadora

Dr^a Carolina Arruda Guedes – UFRPE
Titular

Prof^o Dr^o Álvaro Aguiar Coelho Teixeira – UFRPE
Titular

Prof^a Dr^a Cristiane Thalita dos Santos Silva – UFPE
Suplente

RECIFE
2021

83

AGRADECIMENTOS

84

85

86 Sobretudo a Deus, por ter me concedido a graça de alcançar meus objetivos,
87 durante todos os meus anos de estudo.

88

89 Aos meus pais por todo apoio, conselhos e incentivo durante os momentos
90 difíceis, por terem vibrado junto a mim a cada conquista e nunca terem medido
91 esforços para me proporcionar um ensino de qualidade, tornando possível a
92 conclusão deste ciclo.

93

94 Aos meus irmãos pelo carinho e estímulo. Especialmente a Hugo, por ter sido
95 meu exemplo de vida para o meio acadêmico.

96

97 Ao meu noivo Lucas que jamais negou apoio e carinho, por ter sido meu
98 companheiro e me encorajado a encarar os desafios que surgiram ao longo desta
99 caminhada. Assim como a minha sogra Geane, que me recebeu no seu âmbito
100 familiar de forma amorosa, prestando todo apoio e cuidado necessário.

101

102 Aos meus amigos de laboratório que disponibilizaram do seu tempo para me
103 ajudar e ensinar ao longo do período de estágio, tornando-se também parte da minha
104 família. Especialmente a Nane e Hilton, por terem me estimulado a ser melhor a cada
105 dia, não apenas como profissional, mas também como ser humano e por todas as
106 felicidades compartilhadas.

107

108 A minha professora orientadora Valéria Wanderley Teixeira e ao professor
109 Álvaro Aguiar Coelho, por terem acreditado no meu potencial desde o início, pelos
110 seus conselhos, ensinamentos e paciência com a qual guiaram meu aprendizado.

111

112 A todos os professores que tive o prazer de conhecer e que se dispuseram a
113 contribuir para o meu conhecimento, agregando de forma positiva na profissional que
114 venho a me tornar.

115

116 Aos meus amigos Marcelle Sales, Maria Clara Lopes e Jefferson de Souza,
117 pela amizade que construímos e por todo apoio que demos uns aos outros durante
118 esta etapa.

119

120

121

122

123

124

125

126

SUMÁRIO

127

128 **1 INTRODUÇÃO..... 9**

129 **2 FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA 11**

130 2.1 A IMPORTÂNCIA DO ALGODÃO..... 11

131 2.2 *ANTHONOMUS GRANDIS*..... 12

132 2.3 PIRETRÓIDES 12

133 2.4 ÓLEOS ESSENCIAIS..... 13

134 **3 MATERIAL E MÉTODOS 15**

135 3.1 OBTENÇÃO E CRIAÇÃO DE *A. GRANDIS*:..... 15

136 3.2 OBTENÇÃO DOS ÓLEOS ESSENCIAIS E INSETICIDA SINTÉTICO 15

137 3.3 ANÁLISES CROMATOGRÁFICAS EM FASE GASOSA 16

138 3.4 IDENTIFICAÇÃO QUÍMICA DOS ÓLEOS ESSENCIAIS 16

139 3.5 BIOENSAIO DE TOXICIDADE DOS ÓLEOS ESSENCIAIS (CONTATO TÓPICO) E DO
140 INSETICIDA SINTÉTICO BULLDOCK 125 SC (INGESTÃO) 17

141 3.6 ENSAIOS BIOQUÍMICOS EM ADULTOS DE *A. GRANDIS*: 18

142 3.7 EXTRAÇÃO E QUANTIFICAÇÃO DAS PROTEÍNAS SOLÚVEIS TOTAIS DO ÓLEO
143 ESSENCIAL DE *M. ALTERNIFOLIA*, *J. VIRGINIANA* E DO INSETICIDA SINTÉTICO
144 BULLDOCK 125 SC 18

145 3.8 EXTRAÇÃO E QUANTIFICAÇÃO DE LIPÍDIO, AÇÚCAR TOTAL E GLICOGÊNIO DOS
146 ÓLEOS ESSENCIAIS DE *M. ALTERNIFOLIA* E *J. VIRGINIANA* E DO INSETICIDA
147 SINTÉTICO BULLDOCK 125 SC 19

148 3.9 HISTOLOGIA DO INTESTINO MÉDIO E GÔNADAS DE ADULTOS DE *A. GRANDIS*
149 19

150 **4 RESULTADOS 20**

151 4.1 ANÁLISES CROMATOGRÁFICAS EM FASE GASOSA E IDENTIFICAÇÃO QUÍMICA
152 DOS ÓLEOS ESSENCIAIS 20

153 4.2 BIOENSAIO DE TOXICIDADE DOS ÓLEOS ESSENCIAIS (CONTATO TÓPICO) E DO
154 INSETICIDA SINTÉTICO BULLDOCK 125 SC (INGESTÃO) 20

155 4.3 ANÁLISE DE PROTEÍNA, LIPÍDIO, AÇÚCAR TOTAL E GLICOGÊNIO 20

156 4.4 ANÁLISE DE HISTOLÓGICA DO INTESTINO MÉDIO E GÔNADAS 21

157 **5 DISCUSSÃO..... 34**

158 **6 CONCLUSÃO..... 37**

159 **REFERÊNCIAS 37**

160

161

162

163

LISTA DE TABELAS

164	
165	Tabela 1. Composição química dos óleos essenciais de <i>Melaleuca alternifolia</i> e
166	<i>Juniperus virginiana</i> 23
167	
168	Tabela 2. Toxicidade dos óleos essenciais de <i>Melaleuca alternifolia</i> e <i>Juniperus</i>
169	<i>virginiana</i> em adultos de <i>Anthonomus grandis</i> por contato tópico 26
170	
171	
172	
173	
174	
175	
176	
177	
178	
179	
180	
181	
182	
183	
184	
185	
186	
187	
188	
189	
190	
191	
192	
193	
194	
195	
196	
197	
198	
199	
200	
201	
202	
203	
204	
205	

208 **Figura 1.** Quantidade de proteínas totais em adultos de *A. grandis* após 24h,
 209 submetidos as DL₅₀ e DL₇₀, por contato tópico, do óleo de *Melaleuca alternifolia* e
 210 *Juniperus virginiana*, e por ingestão do inseticida sintético Bulldock 125 SC na dose
 211 de campo. Os dados foram transformados em Log para assumir normalidade e
 212 homogeneidade, sendo posteriormente submetidos à anova pelo teste de Tukey a 5%
 213 de probabilidade..... 27

215 **Figura 2.** Quantidade de lipídios em adultos de *A. grandis* após 24h, submetidos as
 216 DL₅₀ e DL₇₀, por contato tópico, do óleo de *Melaleuca alternifolia* e *Juniperus*
 217 *virginiana*, e por ingestão do inseticida sintético Bulldock 125 SC na dose de campo.
 218 Os dados não apresentaram normalidade e homogeneidade, sendo submetidos a o
 219 teste não paramétrico de Wilcoxon a 5% de probabilidade..... 28

221 **Figura 3.** Quantidade de açúcar total em adultos de *A. grandis* após 24h, submetidos
 222 as DL₅₀ e DL₇₀, por contato tópico, do óleo de *Melaleuca alternifolia* e *Juniperus*
 223 *virginiana*, e por ingestão do inseticida sintético Bulldock 125 SC na dose de campo.
 224 Os dados não apresentaram normalidade e homogeneidade, sendo submetidos a o
 225 teste não paramétrico de Wilcoxon a 5% de probabilidade..... 29

227 **Figura 4.** Quantidade de glicogênio em adultos de *A. grandis* após 24h, submetidos
 228 as DL₅₀ e DL₇₀, por contato tópico, do óleo de *Melaleuca alternifolia* e *Juniperus*
 229 *virginiana*, e por ingestão do inseticida sintético Bulldock 125 SC na dose de campo.
 230 Os dados não apresentaram normalidade e homogeneidade, sendo submetidos a o
 231 teste não paramétrico de Wilcoxon a 5% de probabilidade..... 30

233 **Figura 5.** Seção transversal do intestino médio de adultos de *Anthonomus grandis*.
 234 Coloração Azul de Toluidina. (A) controle; com membrana peritrófica (seta vermelha)
 235 no lúmen (L) com grãos de pólen (Pg), com células colunares (Cc) com núcleos
 236 centrais (seta) e borda em escova de microvilosidades no ápice (mv) e ninhos de
 237 células regenerativas (**) na base do epitélio (Ep), além de músculos circulares (Mc)
 238 e músculos longitudinais (MI) revestindo externamente. (B) Bulldock; observar
 239 protusões (Pt) das células colunares, numerosos vacúolos (seta branca), presença
 240 de ninhos de células regenerativas (**) e camada muscular espessa (seta tracejada)
 241 (C) DL₅₀ do óleo essencial de *Juniperus virginiana* e (D) DL₇₀ do óleo essencial de
 242 *Juniperus virginiana*; evidenciar protusões (Pt) das células colunares, numerosos
 243 vacúolos (seta branca), desorganização do epitélio (Epd), numerosos ninhos de
 244 células regenerativas (**) e camada muscular delgada (seta tracejada vermelha). (E)
 245 DL₅₀ do óleo essencial de *Melaleuca alternifolia*, (F) DL₇₀ do óleo essencial de
 246 *Melaleuca alternifolia*. Identificar protusões (Pt) das células colunares, numerosos
 247 vacúolos (seta branca), desorganização do epitélio (Epd), presença de ninhos de

248 células regenerativas (**), camada muscular espessa (seta tracejada) e ejeção de
249 núcleos para o lúmen (L)..... 31

250

251 **Figura 6.** Testículo de adultos de *Anthonomus grandis*. Coloração Azul de Toluidina.
252 (A) controle; visualizar folículos testiculares separados pelos septos peritoneais (seta)
253 com grande quantidade de espermatozoides (Es) e de cistos (Asterisco). (B) Bulldock,
254 observar poucos feixes de espermatozoides (Es) e maior quantidade de cistos. (C)
255 DL₅₀ do óleo essencial de *Juniperus virginiana* e (D) DL₇₀ do óleo essencial de
256 *Juniperus virginiana*, analisar poucos feixes de espermatozoides (Es) e maior
257 quantidade de cistos e espessamento do septo peritoneal (seta tracejada). (E) DL₅₀
258 do óleo essencial de *Melaleuca alternifolia* e (F) DL₇₀ do óleo essencial de *Melaleuca*
259 *alternifolia*, identificar poucos feixes de espermatozoides (Es), aumento de cistos,
260 espessamento do canal deferente (seta vermelha) e vacuolização no folículo e nos
261 septos peritoneais (seta vermelha). 32

262

263 **Figura 7.** Ovariolos de adultos de *Anthonomus grandis*. Coloração Azul de Toluidina.
264 (A) controle; observar oócito com região de gema bem desenvolvida e com grande
265 quantidade de vitelo (Vi). (B) Bulldock, identificar oócito com pouco vitelo (Vi). (C) DL₅₀
266 do óleo essencial de *Juniperus virginiana* e (D) DL₇₀ do óleo essencial de *Juniperus*
267 *virginiana*, analisar oócitos com pouco vitelo (Vi). (E) DL₅₀ do óleo essencial de
268 *Melaleuca alternifolia* e (F) DL₇₀ do óleo essencial de *Melaleuca alternifolia* visualizar
269 oócitos com pouco vitelo (Vi) e oócitos sem a formação da região de gema. Seta,
270 bainha de tecido conjuntivo; Cf, células foliculares. 33

271

272

273

274

275

276

277

278

279

280

281

282

283

284

285

286

287

288

289

290

RESUMO

291
292
293
294
295
296
297
298
299
300
301
302
303
304
305
306
307
308
309
310
311
312
313
314
315
316
317
318
319
320
321
322
323
324
325
326
327
328
329
330

A cotonicultura é uma das principais atividades econômicas do Brasil, sendo o país o quarto maior produtor mundial da fibra. Dentre as maiores regiões produtoras, destacam-se o Mato Grosso e a Bahia. Todavia, o ataque de diversos insetos-pragas põe em risco as possibilidades de expansão da produção brasileira. Tais organismos são responsáveis por danos diretos e indiretos à lavoura. Dentre eles, o *Anthonomus grandis* recebe destaque por ser considerado, atualmente, a praga-chave da cotonicultura e uma ameaça em especial para o Nordeste brasileiro, devido ao impacto econômico que exerce sobre a oferta de matéria-prima para a indústria têxtil e oleaginosa. Este besouro possui alto poder destrutivo, capaz de ocasionar perdas de 75% a 100% da produção. Desta forma, objetivando reduzir os efeitos negativos desta praga, faz-se o uso de inseticidas químicos capazes de provocar danos fisiológicos no organismo. Em contrapartida, o uso indiscriminado resulta em prejuízos ambientais, além de favorecer o surgimento de populações resistentes. Sendo assim, é necessária a busca por medidas de controle menos danosas ao meio, porém com eficácia garantida. Neste contexto, a presente pesquisa objetivou avaliar os efeitos dos óleos essenciais de *Melaleuca alternifolia* e *Juniperus virginiana* nas DL₅₀ e DL₇₀, em comparação ao princípio ativo beta-ciflutrina (dose de campo) na histologia e nutrição de adultos de *A. grandis*, sendo estes parâmetros indispensáveis à sobrevivência de qualquer organismo. Os resultados obtidos na análise cromatográfica do óleo de *M. alternifolia* mostraram a presença de compostos classificados em monoterpenos e sesquiterpenos. Já o óleo de *J. virginiana* apresentou apenas compostos classificados em sesquiterpenos. Em relação à toxicidade, o óleo essencial de *M. alternifolia* demonstrou uma maior eficácia em concentrações menores. Os ensaios bioquímicos demonstraram que todos os parâmetros avaliados foram alterados, tanto pelos óleos quanto pelo inseticida, porém o *M. alternifolia* demonstrou maior expressividade entre eles. As análises histológicas do intestino médio apresentaram alterações no epitélio em todos os tratamentos. Nos testículos foi possível observar a redução no número de espermatozoides em todos os grupos e apenas na DL₇₀ de *M. alternifolia* ocorreu a vacuolização folicular intensa. Já os ovários, apresentaram nos grupos submetidos a beta-ciflutrina e ao óleo de *M. alternifolia* redução na região do vitelo. Sendo assim, os resultados desta pesquisa evidenciam que, assim como o princípio ativo beta-ciflutrina, os óleos essenciais de *M. alternifolia* e *J. virginiana* são capazes de provocar alterações morfológicas no intestino médio que se estendem às suas estruturas reprodutivas, promovendo a diminuição da absorção de nutrientes e do potencial reprodutivo dos adultos de *A. grandis*.

Palavras-chave: algodão, pragas, histologia, óleos essenciais, toxicidade

331

332 1 INTRODUÇÃO

333 O Brasil ocupa atualmente a quarta posição no ranking dos maiores produtores
334 de algodão no mundo (OLIVEIRA, 2021), sendo superado pela Índia, China e Estados
335 Unidos (ETENE, 2021). No Nordeste, o estado da Bahia recebe destaque, com cerca
336 de 24% da produção nacional, gerando 5,5 bilhões de reais no ano de 2021,
337 representando um aumento de 7% em relação ao ano anterior. Em Pernambuco, o
338 cultivo do chamado ouro branco (algodão) no Agreste pelos pequenos produtores tem
339 sido incentivado pelo Governo do Estado e pelo Instituto Agrônomo de Pernambuco
340 (IPA) com a distribuição de 8 mil quilos de sementes de algodão herbáceo melhorado
341 geneticamente e o preparo do solo de 700 mil hectares, beneficiando 980 agricultores
342 de 16 municípios. Já as regiões semi-áridas têm sido foco para o cultivo orgânico da
343 fibra, tendo em vista a redução de 46% na emissão de gases do efeito estufa, 91% no
344 consumo de água e 62% no consumo de energia primária. Segundo a Cartaxo *et al.*
345 (2008) os estados do Ceará, Pernambuco, Paraíba, Rio Grande do Norte e Piauí são
346 regiões de potencial crescimento deste meio de cultivo, devido ao clima seco. Todavia,
347 a suscetibilidade do algodoeiro ao ataque de patógenos é um fator restritivo para a
348 expansividade comercial da fibra no país, devido, principalmente, ao bicudo-do-
349 algodoeiro.

350 *Anthonomus grandis* é um inseto-praga originário do México (AZAMBUJA;
351 DEGRANDE, 2014), pertencente à ordem Coleoptera e família Curculionidae que
352 apresenta distribuição cosmopolita e é capaz de provocar danos de 75 a 100% da
353 produção (COSTA *et al.*, 2017). Sua chegada ao Brasil na região de Campinas durante
354 a década de 80, provocou uma taxa de infestação de aproximadamente 90% e
355 rapidamente o inseto se alastrou pelo país, sendo relatado pela primeira vez no
356 Nordeste em julho do mesmo ano. Fatores climáticos e ecológicos favorecem ao longo
357 desses 38 anos a sobrevivência, multiplicação, adaptação, dispersão e migração para
358 diversos ambientes desta praga (AZAMBUJA; DEGRANDE, 2014).

359 Os insetos adultos medem em torno de 3,8 mm a 8,0 mm de comprimento e
360 podem apresentar coloração que vai do marrom-avermelhado ao cinza-escuro,
361 variando de acordo com a idade/dias após emergência (OLIVEIRA, 2021). O par de
362 espinhos em cada fêmur do primeiro par de pernas dos adultos é característica
363 fundamental para identificar a espécie, suas antenas genículo-clavadas estão

364 inseridas na metade do rosto e as peças bucais no extremo distal desta área (BELÓT
365 *et al.*, 2016). As fêmeas ovipositam em média 200 ovos num período de 10 a 12 dias
366 e as fases de ovo, larva e pupa duram aproximadamente 20 dias à temperatura média
367 de 27°C (GREENBERG *et al.*, 2003; SILVA *et al.*, 2015), ocorrendo protegidas no
368 interior das estruturas reprodutivas da planta.

369 Tal característica de desenvolvimento é o ponto chave para o seu controle.
370 Embora as diversas táticas aplicadas no Manejo Integrado de Pragas (MIP), a
371 ausência de informações sobre o comportamento a ser adotado inicialmente, é crucial
372 para a evolução da infestação em campo (OLIVEIRA, 2021). O MIP é o método de
373 controle que visa garantir a sanidade das lavouras, assim como uma boa
374 produtividade, através da conciliação dos manejos cultural, químico, biológico e
375 comportamental (NEVES, 2021).

376 Entretanto, discussões acerca dos efeitos a longo prazo provocados pelas
377 substâncias químicas começaram a surgir no ano de 1962 com a publicação do livro
378 “Primavera Silenciosa” da autora Rachel Carson (CARSON, 1962). A obra expôs que
379 os agrotóxicos penetravam na cadeia alimentar e acumulavam-se nos tecidos
380 gordurosos dos animais, inclusive do homem, aumentando o risco de câncer e danos
381 genéticos, os resquícios permanecem no meio mesmo após a diluição pela chuva e
382 atingem não apenas as pragas, mas um número incontável de outros exemplares, até
383 mesmo pelo processo migratório de organismos contaminados, que levam resíduos
384 para alvos fora do seu local de origem.

385 Diante do exposto, pesquisas na área buscam encontrar formas de manejo
386 menos danosas ao meio, dentre elas estudos sobre a utilização de óleos essenciais
387 em insetos pragas têm se mostrado promissores por atingir diretamente o alvo,
388 ocasionando danos letais e/ou comprometedores para o seu estabelecimento no
389 campo.

390 Albiero *et al.* (2019) relatou em seu estudo que os óleos de endro (*Anethum*
391 *graveolens*) e nim (*Azadirachta indica*) apresentaram efeito toxicológico sob insetos
392 de *Sitophilus zeamais* (Coleoptera: Curculionidae), provocando a sua morte, sendo a
393 *A. graveolens* mais tóxico em concentrações menores. Guerra *et al.* (2019) observou
394 que insetos de *Callosobruchus maculatus* (Coleoptera: Chrysomelidae) tratados com
395 os óleos de Capim-santo (*Cymbopogon citratus*) e Erva cidreira brasileira (*Lippia alba*)

396 e o extrato etanólico de Malvão (*Plectranthus amboinicus*) demonstraram taxa de
397 repelência e mortalidade de aproximadamente 100% e 50%, respectivamente.

398 Sendo assim, motivada pela busca ao conhecimento a presente pesquisa se
399 propôs a avaliar os efeitos dos óleos essenciais de *M. alternifolia* e *J. virginiana* em
400 comparação ao princípio ativo beta-ciflutrina presente no inseticida químico
401 amplamente comercializado Bulldock 125 SC, sob o intestino médio, estruturas
402 reprodutivas e nutrição do bicudo-do-algodoeiro, ambicionando reduzir a sua taxa de
403 incidência nos campos de algodão.

404

405 **2 FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA**

406 **2.1 A IMPORTÂNCIA DO ALGODÃO**

407

408 A produção do algodão é uma atividade econômica de grande relevância para
409 o Brasil, sendo um importante commodity de exportação, consolidando o país como
410 segundo colocado no ranking de exportações mundial e o quarto maior produtor da
411 fibra no mundo (ABRAPA, 2020). A safra de 2020/21 foi responsável por uma
412 exportação de 2,4 milhões de toneladas, superando em 23% o ano anterior e tendo a
413 China como o principal destino. A expectativa para a temporada de 2021/22 é de
414 aumento em 3% na produção, devendo atingir cerca de 25 milhões de toneladas
415 (ABRAPA, 2021).

416 A região centro-oeste encontra-se como a maior produtora, cerca de 74% do
417 total nacional, o Mato-Grosso e Bahia são os principais estados de produção, com
418 aproximadamente 90% (ETENE, 2021). Apesar do predomínio desses dois locais, há
419 cultivo da fibra no semiárido nordestino, nos estados do Ceará com produção de
420 algodão convencional e transgênico e no Piauí, Ceará, Rio Grande do Norte, Paraíba
421 e Pernambuco de forma orgânica e agroecológica, sendo estes campos fontes
422 importantes para o desenvolvimento e aplicação de pesquisas nacionais e estaduais,
423 assim como de ONGs e projetos governamentais (ETENE, 2021).

424 A fibra do algodão é o produto primordial para a indústria têxtil mundial.
425 Entretanto, a cotonicultura gera outros produtos secundários como: o línter que pode
426 ser utilizado para a fabricação de gazes e tecido cirúrgico; o óleo bruto, a torta e o
427 caroço aproveitados para a alimentação animal (COSTA *et al.*, 2017).

428

429

430 2.2 ANTHONOMUS GRANDIS

431 O *Anthonomus grandis* (Coleoptera: Curculionidae), conhecido popularmente
432 como bicudo-do-algodoeiro, é considerado atualmente a praga-chave do algodão. Seu
433 desenvolvimento endofítico atrelado ao alto poder destrutivo de até 100% da
434 produção, são fatores que comprometem a expansividade da cotonicultura no Brasil
435 (ABRAPA, 2020).

436 Este besouro holometábolo e de reprodução sexuada alimenta-se
437 preferencialmente dos botões florais, mas pode atacar outras partes da planta como
438 as folhas, maçã e o pecíolo. As fêmeas ovipositam, preferencialmente, no botão floral,
439 em regiões próximas as brácteas que protegem a estrutura, mas também podem
440 ovipositar nas flores e maçãs (MAPA, 2020). Os orifícios de oviposição são facilmente
441 reconhecidos por serem cobertos por uma secreção serosa, que elas mesmas
442 produzem, como um mecanismo de defesa contra o ataque de predadores e da
443 dessecação provocada pela mudança de temperatura (INSTITUTO BIOLÓGICO,
444 2016).

445 Objetivando controlar a infestação da praga, há um uso excessivo de
446 inseticidas químicos de amplo espectro, dentre eles os: neonicotinóides, piretróides e
447 organofosforados, que são capazes de causar transtornos morfológicos, bioquímicos
448 e fisiológicos ao organismo do inseto (SANTOS, 2019). Entretanto, estas substâncias
449 apresentam baixa volatilidade e seletividade no ambiente, acometendo também
450 organismos benéficos ao ecossistema (COSTA *et al.* 2017).

451 No Brasil existem, atualmente, 29 ingredientes ativos registrados para
452 pulverizar os campos de algodão contra o *A. grandis*, sendo os piretróides os mais
453 comercializados devido ao seu baixo custo, fácil manejo e aplicação (AGROFIT,
454 2020). Contudo, relatos de resistência a esta substância neste grupo de insetos já
455 estão surgindo. Netto *et al.* (2017) obteve taxa de mortalidade abaixo de 80% em
456 populações de bicudo de Mato Grosso tratados com bifentrina, lambda-cialotrina e
457 beta-ciflutrina.

458

459 2.3 PIRETRÓIDES

460 Os piretróides são uma classe de inseticidas químicos, oriundos das piretrinas,
461 ésteres isolados das flores da espécie *Chrysanthemum cinerariaefolium* e espécies

462 relacionadas (SANTOS *et al.*, 2007). Apresentam modo de ação neurotóxica, agindo
463 de forma modulada sob os canais de sódio, fazendo com que estes fiquem abertos
464 por mais tempo, provocando a morte do inseto por hiperexcitabilidade do sistema
465 nervoso (IRAC, 2020).

466 Os piretróides beta-ciflutrina e a zeta-cipermetrina são os ingredientes ativos
467 mais comercializados para o controle deste patógeno. Entretanto, Miranda *et al.*
468 (2017) ao analisar a toxicidade de populações de *A. grandis* do estado de Goiás
469 submetidos a tratamentos com piretróides, observou em seus resultados valores 20
470 vezes superiores à concentração de campo recomendada para a CL₉₀ do lambda-
471 cialotrina.

472 Um levantamento recente demonstrou a necessidade de serem realizadas de
473 18 a 23 pulverizações de inseticidas químicos para o controle do bicudo no Cerrado
474 brasileiro, elevando, significativamente, os custos da produção (MIRANDA;
475 RODRIGUES, 2018).

476 A beta-ciflutrina é outro exemplo de princípio ativo recomendado para o controle
477 desta praga, sendo ministrado na dosagem de 80 a 100 mL p.c./ha. Esta substância
478 possui rápido efeito inicial e prolongada ação residual (AGRO, 2019) e está
479 classificado pelo IRAC (Insecticide Resistance Action Committee) no grupo 3A -
480 altamente tóxico - baseado no seu mecanismo de ação.

481

482 2.4 ÓLEOS ESSENCIAIS

483 Pesquisas objetivando comprovar a eficácia dos óleos essenciais têm sido
484 cada vez mais frequentes, devido às suas propriedades toxicológicas, visto que são,
485 em geral, produtos de baixo risco e contaminação ambiental, baixa toxicidade aos
486 mamíferos e biodegradáveis (PREEDY, 2015).

487 Estes ingredientes orgânicos são classificados em dois grandes grupos. O
488 primeiro são os terpenos, biossintetizados a partir das rotas metabólicas do
489 metileritritol fosfato e da rota do ácido mevalônico. Já o segundo são os
490 fenilpropanóides, substâncias aromáticas, biossintetizadas a partir da rota do ácido
491 chiquímico (BERNARDS, 2010; SANTOS, 2019), são responsáveis por atuar na
492 comunicação com polinizadores e na defesa contra o ataque de patógenos e
493 herbívoros (NEGRINI *et al.*, 2019).

494 Os mecanismos de atuação dos óleos essenciais provocam desequilíbrio
495 homeostático no organismo do inseto, interferindo diretamente no seu sistema
496 nervoso e neuroendócrino. Além disso, possuem efeito toxicológico e repelente que
497 apresentam consequências sob a sua nutrição e posteriormente reprodução (CRUZ
498 *et al.*, 2016; SANTOS, 2019).

499 Dentre os diversos óleos já estudados, o de *M. alternifolia* apresenta resultados
500 cada vez mais promissores, pois além de exibir atividade inseticida é indicado também
501 como um agente antimicrobiano, anti-inflamatório e anticâncer. Além disso, está
502 amplamente disponível no ambiente (HAMMERA *et al.*, 2006). Torres *et al.* (2014)
503 observou mortalidade de larvas de *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae) submetidas aos
504 óleos essenciais de *Azadirachta indica*, *Melaleuca alternifolia*, *Carapa guianensis* e
505 extrato fermentado de *Carica papaya*. O óleo de *M. alternifolia* também apresentou
506 atividade inseticida sob *Stomoxys calcitrans* (Diptera: Muscidae) (DILLMANN *et al.*
507 2020). Liao *et al.* (2017) relatou em seu estudo que além da toxicidade, o respectivo
508 óleo também inibiu a atividade da acetilcolinesterase e glutathione S-transferase em
509 *Helicoverpa armigera* (Lepidoptera: Noctuidae).

510 Já o *J. virginiana*, conhecido como cedro, também merece visibilidade, pois
511 além da ação inseticida, pode ser empregado para a diminuição da pressão arterial e
512 das frequências cardíacas e respiratórias em humanos (ZHANG; YAO, 2018), também
513 possuindo ação anti-inflamatória (TUMEN *et al.*, 2013). Amer e Mehlhorn (2006)
514 trataram larvas de terceiro instar de *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae) na
515 concentração de 50 ppm do respectivo óleo e observaram mortalidade de 100%, em
516 12h após a instalação do experimento. A eficiência de suas propriedades também tem
517 sido constatada sob insetos da espécie *Resseliella oculiperda* (Diptera:
518 Cecidomyiidae) (TOL *et al.*, 2007), *Anopheles stephensi* (Diptera: Culicidae)
519 (TAHGHIGHI *et al.*, 2019), formigas e cupins (ELLER *et al.*, 2010; ELLER *et al.*, 2014).

520 Vale salientar que além da mortalidade, tais substâncias podem ocasionar
521 efeitos subletais na biologia, comportamento, reprodução, desenvolvimento,
522 alimentação, além de repelência e deterrência (MITIĆ *et al.*, 2019). Redução do peso
523 larval e pupal de *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae) foram observados
524 por Cruz *et al.* (2016) ao expor esta espécie aos óleos de *Eucalyptus staigeriana*,
525 *Ocimum gratissimum* e *Foeniculum vulgare*. Silva *et al.* (2016) observou que o óleo de
526 *Cymbopogon winterianus* alterou a histofisiologia digestiva e reprodutiva de *S.*

527 *frugiperda*, além da diminuição nos níveis de proteínas, lipídios e açúcares totais.
528 Tomé *et al.* (2017) obteve resultados satisfatórios de toxicidade em *A. grandis* tratados
529 com o inseticida botânico Nim I-Go®.

530

531 **3 MATERIAL E MÉTODOS**

532 3.1 OBTENÇÃO E CRIAÇÃO DE *A. GRANDIS*:

533 Foi estabelecida a partir da coleta dos botões florais de plantas de algodoeiro
534 cultivadas no Departamento de Agronomia da Universidade Federal Rural de
535 Pernambuco (UFRPE). Os botões caídos no solo e infestados com larvas e pupas
536 foram coletados e transferidos para o Laboratório de Fisiologia de Insetos do
537 Departamento de Morfologia e Fisiologia Animal (DMFA) da UFRPE e mantidos em
538 bandejas plásticas no interior de gaiolas de emergência. Folhas de papel toalha
539 umedecidas diariamente foram postas sobre os botões para evitar o ressecamento
540 destes, favorecendo ainda o desenvolvimento e emergência dos bicudos. Os adultos
541 foram mantidos individualizados em recipientes plásticos de 80 mL e alimentados com
542 folhas cotiledonares de algodão até a instalação dos experimentos.

543

544 3.2 OBTENÇÃO DOS ÓLEOS ESSENCIAIS E INSETICIDA SINTÉTICO

545 Os óleos essenciais de *M. alternifolia* e *J. virginiana* foram obtidos da Empresa
546 Ferquima Ind. e Com. Ltda. (Vargem Grande Paulista, São Paulo, Brasil). *M.*
547 *alternifolia* foi extraída a partir de folhas e *J. virginiana* da madeira. O método de
548 extração utilizado foi de arraste a vapor para todos os óleos. As informações técnicas
549 desses produtos e seus parâmetros de qualidade (coloração, pureza, odor, densidade
550 a 20 °C e índice de refração a 20 °C) são descritos em relatório técnico fornecido pela
551 empresa, conforme site <1461 <http://www.ferquima.com.br>>. O inseticida sintético
552 Bulldock 125 SC foi obtido de casas comerciais do centro do Recife.

553

554 3.3 ANÁLISES CROMATOGRÁFICAS EM FASE GASOSA

555 *M. alternifolia* e *J. virginiana* foram analisados qualitativamente por
556 cromatografia a gás acoplada à espectrometria de massas CG/EM em um sistema
557 quadrupolo Agilent 5975C Séries CG/EM 1 (Agilent Technologies, Palo Alto, EUA),
558 equipado com uma coluna apolar DB-5 (Agilent J&W; 60 m x 0,25 mm d.i., 0,25 µm
559 espessura da película). 1 µL da solução (2000 µg/mL) de cada óleo essencial
560 preparada em hexano foi injetada em split 1:50, assim como uma solução hexânica
561 da mistura de padrões de hidrocarbonetos: C8-C30 (Sigma-Aldrich® 1484). A
562 temperatura do cromatógrafo gasoso foi ajustada em 60°C por 3 min, sendo então
563 elevada em 2,5 °C min⁻¹ até alcançar 240 °C e mantida nesta temperatura por 10 min.
564 O fluxo de hélio foi mantido em pressão constante de 100 kPa. A interface da
565 espectrometria de massas foi definida em 200°C e os espectros de massa registrados
566 em 70 eV (em modo EI) com uma velocidade de escaneamento de 0,5 scan-s de m/z
567 20-350 (SANTOS *et al.*, 2014; SILVA *et al.*, 2016). Os constituintes do óleo essencial
568 foram quantificados através da Cromatografia Gasosa (CG) em um sistema Thermo
569 Fisher Scientific (Waltham, MA, USA) Trace CG Ultra gás equipado com um detector
570 de ionização por chama (DIC), com uma coluna HB-5 (30 m x 0,25 mm d.i., 0,25
571 µm de espessura da película). A temperatura do forno foi mantida a 40°C durante 2
572 min e depois aumentada a 4°C min⁻¹ para 230°C. O injetor e o detector foram
573 mantidos a 250°C. Para realizar a quantificação, 1 µL da solução (2000 µg/mL) de
574 cada óleo essencial preparado em hexano foi injetada em splitless. A composição de
575 cada componente foi expressa na forma de porcentagens da área total do pico
576 conforme registrado por GC-FID.

577

578 3.4 IDENTIFICAÇÃO QUÍMICA DOS ÓLEOS ESSENCIAIS

579 Os Índices de Retenção (IR) de cada componente dos óleos essenciais foram
580 calculados segundo a equação de Van den Dool e Kratz (1963), de acordo com os
581 tempos de retenção dos componentes da amostra de cada óleo essencial, do padrão
582 de hidrocarboneto (C8-C30) e da combinação de cada óleo essencial com a mistura
583 deste padrão. Os componentes de cada óleo essencial foram previamente
584 identificados por similaridade dos valores dos índices de retenção (IR) e

585 posteriormente confirmados por comparação dos respectivos espectros de massa
586 com aqueles disponíveis na biblioteca do GC/EM: MassFinder 4, NIST08 e Wiley
587 Registry™ 9th Edition e com os descritos por Adams (2009).

588

589 3.5 BIOENSAIO DE TOXICIDADE DOS ÓLEOS ESSENCIAIS (CONTATO TÓPICO) 590 E DO INSETICIDA SINTÉTICO BULLDOCK 125 SC (INGESTÃO)

591 Óleo essencial: testes preliminares, através do contato tópico, foram realizados
592 visando definir as doses do óleo essencial de *M. alternifolia* e *J. virginiana* capazes de
593 promover mortalidades em torno de 5 e 95%. Para cada dose foram avaliados 30
594 adultos, sendo cada considerado uma repetição e aplicados 1,0 µL da solução da dose
595 do óleo essencial mais acetona (solvente), na região protorácica do inseto, utilizando
596 uma seringa Hamilton TM (50 µL). O teste controle foi realizado apenas com acetona.
597 Os adultos foram alimentados com botões florais e avaliados com 24h após a
598 instalação do experimento. As Doses subletais e letais (DL₅₀, DL₇₀) utilizadas nos
599 experimentos subsequentes foram determinadas através da análise de probit pelo
600 programa SAS PROC PROBIT (SAS, 2001). As Razões de Toxicidade (RT) obtidas,
601 através do quociente entre a dose letal do óleo de maior toxicidade e dose letal dos
602 demais óleos, individualmente.

603 Inseticida sintético: Foi utilizado o inseticida químico Bulldock 125 SC, pois este
604 contém o como princípio ativo a beta-ciflutrina. Utilizou-se a dose de campo
605 recomendada para o bicudo-do-algodoeiro (80-100mL do produto comercial em 100-
606 300L de água/ha). A exposição ao inseticida seguiu os métodos usados por Netto *et*
607 *al.* (2017), onde a contaminação dos adultos de bicudo-do-algodoeiro se deu via
608 resíduo seco dos inseticidas, sendo então por contato tarsal e provável ingestão. Para
609 cada repetição foi realizado o mergulho de um disco foliar e um botão floral. Estes
610 foram mantidos em temperatura ambiente até a evaporação do excesso da calda,
611 restando apenas o produto. Então os discos foliares e os botões florais foram
612 transferidos para a placa de Petri (8 cm de diâmetro x 1,5 cm de altura) e oferecidos
613 aos insetos por período de 48 horas.

614

615 3.6 ENSAIOS BIOQUÍMICOS EM ADULTOS DE *A. GRANDIS*:

616 Para extração e quantificação das proteínas solúveis totais, lipídios, açúcar
617 total e Glicogênio, adultos com 24h após a aplicação dos produtos (óleo essencial e
618 inseticida sintético) foram utilizados e cada amostra constou de dois insetos adultos
619 para cada tratamento, sendo obtidas 10 repetições, totalizando 20 insetos/tratamento.
620 O preparo das amostras (controle e tratamento) se deu com os adultos imobilizados a
621 uma temperatura de 4°C e macerados em 500 µL do tampão fosfato de sódio (pH 7,4
622 e 0,1 M). O macerado foi retirado com um pipetador automático (inseto adulto +
623 tampão) e armazenado em um microtúbulo devidamente etiquetado. Todo
624 procedimento foi efetuado em baixa temperatura para evitar a oxidação das amostras.
625 Após esta etapa ocorreu o preparo das amostras e para isso cada grupo de amostras
626 foi centrifugada por 3 minutos a 3000 rpm. Após a centrifugação foi separado 100 µL
627 de cada amostra para análise das proteínas solúveis totais e 200 µL para as análises
628 de lipídeos, açúcar total e glicogênio.

629

630 3.7 EXTRAÇÃO E QUANTIFICAÇÃO DAS PROTEÍNAS SOLÚVEIS TOTAIS DO 631 ÓLEO ESSENCIAL DE *M. ALTERNIFOLIA*, *J. VIRGINIANA* E DO INSETICIDA 632 SINTÉTICO BULLDOCK 125 SC

633 As proteínas solúveis totais foram determinadas a partir do método de Bradford
634 (1976). Os 100 µL de cada amostra de macerado foi transferida para tubos de vidro
635 de centrifugação, adicionando o corante Bradford (0,01% de Comissie Blue G-250;
636 8,5% de ácido fosfórico e 4,7% de etanol) até alcançar o volume de 5 mL. Os tubos
637 foram então homogeneizados em agitador tipo vórtex e em seguida permaneceram
638 em repouso por 2 minutos. Posteriormente, foi feita a leitura em espectrofotômetro UV
639 visível/190-1000 nm Biospectro SP-220 em comprimento de onda de 595 nm. A
640 unidade de leitura utilizada foi de µg/mL. Os resultados foram submetidos à ANOVA e
641 as médias comparadas pelo teste de tukey ao nível de 5% de probabilidade utilizando
642 o ProcGLM do SAS (SAS, 2002).

643

644 3.8 EXTRAÇÃO E QUANTIFICAÇÃO DE LIPÍDIO, AÇÚCAR TOTAL E GLICOGÊNIO
645 DOS ÓLEOS ESSENCIAIS DE *M. ALTERNIFOLIA* E *J. VIRGINIANA* E DO
646 INSETICIDA SINTÉTICO BULLDOCK 125 SC

647 O conteúdo de lipídio, açúcar total e glicogênio foram avaliados utilizando o
648 método de Van Handel (1985a, b), onde 200 µL do macerado homogeneizado foi
649 acrescido de 200 µL de sulfato de sódio e 800 µL de clorofórmio e metanol (1:1), e
650 centrifugado a 3000 rpm durante 3 min. O precipitado foi utilizado para a análise de
651 glicogênio, e o sobrenadante transferido para um microtúbulo onde foi acrescentado
652 600 µL de água destilada e centrifugado a 3000 rpm durante 3 min. O precipitado foi
653 utilizado para a análise de lipídios e o sobrenadante para análise de açúcar total. O
654 lipídio foi tratado com reagente ácido fosfórico/vanilina, enquanto que o açúcar total e
655 o glicogênio, tratados com reagente ácido sulfúrico/antrona. Posteriormente, foi feita
656 a leitura em espectrofotômetro UV visível/190-1000 nm Biospectro SP-220 em
657 comprimento de onda de 625 nm. A unidade de leitura utilizada será µg/mL. Os
658 resultados não apresentaram normalidade e homogeneidade, sendo então
659 submetidos ao teste não paramétrico Kruskal a 5% de probabilidade (SAS, 2002).

660

661 3.9 HISTOLOGIA DO INTESTINO MÉDIO E GÔNADAS DE ADULTOS DE *A.*
662 *GRANDIS*

663 Os adultos tratados com os óleos essenciais e inseticida sintético foram
664 dissecados em tampão fosfato-salino – PBS (pH 7,4 e 0,2 M) sob estereomicroscópio.
665 O intestino médio, ovariolos e testículo foram fixados em formol tamponado a 10% por
666 24h e conservados em álcool 70%. Em seguida, desidratados em banhos crescentes
667 de álcool etílico (70, 80, 90 e 100%), por 15 minutos cada, embebidos em
668 álcool+historesina (1:1) por 24h e finalmente incluído em historesina Leica©. Secções
669 de cortes de 3 µm de espessura foram obtidas em micrótomo Leica© RM 2035. Para
670 os estudos histológicos, os cortes foram submetidos à técnica de coloração pelo Azul
671 de Toluidina. As lâminas foram examinadas em microscópio de luz OLYMPUS BX-49
672 e fotografadas em fotomicroscópio Leica© DM 500 e OLYMPUS BX-51. As imagens
673 da análise histológica foram digitalizadas pelo software LAS Leica Image.

674

675 4 RESULTADOS

676 4.1 ANÁLISES CROMATOGRÁFICAS EM FASE GASOSA E IDENTIFICAÇÃO 677 QUÍMICA DOS ÓLEOS ESSENCIAIS

678 A análise cromatográfica (GC-MS) do óleo de *M. alternifolia* revelou a presença
679 de 30 compostos, classificados em monoterpenos oxigenados 53,72%; monoterpenos
680 38,98%; sesquiterpenos 5,82% e sesquiterpenos oxigenados 0,17%; dos quais o
681 Terpinen-4-ol 47,24%, lambida-terpinene 18,60%, gama-terpinene 8,77% e alfa-
682 terpineol 4,18% são os principais compostos majoritários. Já o óleo de *J. virginiana*
683 apresentou 39 compostos, classificados em sesquiterpenos 69,79% e sesquiterpenos
684 oxigenados 28,3%; dos quais o (Z)- Thujopsene 31,94%, Cedrol 25,61%, gama-
685 cedrene 18,49% e beta-cedrene 4,31 são os principais compostos majoritários (Tabela
686 1).

687

688 4.2 BIOENSAIO DE TOXICIDADE DOS ÓLEOS ESSENCIAIS (CONTATO TÓPICO) 689 E DO INSETICIDA SINTÉTICO BULLDOCK 125 SC (INGESTÃO)

690 A concentração utilizada para o inseticida químico Bulldock 125 SC foi a dose
691 de campo recomendada para o bicudo do algodoeiro (80-100 mL do produto comercial
692 em 100-300L de água/ha). Para o óleo de *M. alternifolia* foram obtidos, em testes
693 preliminares, as seguintes doses DL₅₀ 0,169 (0,096-0,274) mg/g e a DL₇₀ 0,303 (0,196-
694 0,697). Para o óleo de *J. virginiana* foram obtidos, também em testes preliminares, as
695 seguintes doses DL₅₀ 0,280 (0,139-0,543) mg/g e a DL₇₀ 0,597 (0,343-2,322) (Tabela
696 2). Na DL₅₀ o óleo de *M. alternifolia* apresentou uma razão de toxicidade 1,65 vezes e
697 na DL₇₀ 1,96 vezes maior do que o de *J. virginiana* (Tabela 2).

698

699 4.3 ANÁLISE DE PROTEÍNA, LIPÍDIO, AÇÚCAR TOTAL E GLICOGÊNIO

700 Nos bicudos os valores nutricionais em µg/mL reduziram no tratamento com a
701 DL₅₀ e DL₇₀ de *J. virgiana* e *M. alternifolia* e a dose de rótulo de bulldock sendo,

702 respectivamente: proteínas (8.72 ± 0.09 ; 8.13 ± 0.09 ; 8.81 ± 0.08 ; 8.15 ± 0.10 ; $8.05 \pm$
703 0.09) ($P < 0.0001$; $F = 661.87$); lipídeo (7.50 ± 0.08 ; 5.83 ± 0.11 ; 7.50 ± 0.08 ; 6.72 ± 0.08 ;
704 3.09 ± 0.05) ($P < 0.0001$; $F = 835.65$); açúcar (205.12 ± 6.01 ; 173.87 ± 11.66 ; $205.12 \pm$
705 6.01 ; 164.37 ± 6.74 ; 261.42 ± 1.13) ($P = 0.0004$; $X^2 = 22.4358$); glicogênio (178.75 ± 6.9 ;
706 183.90 ± 11.57 ; 7.50 ± 0.08 ; 6.72 ± 0.08 ; 118.12 ± 2.66) ($P = 0.0005$; $X^2 = 22.2295$); em
707 comparação ao grupo controle (13.74 ± 0.03 ; 9.82 ± 0.06 ; 304.50 ± 12.84 ; $430.62 \pm$
708 18.79) (Fig.1,2,3,4).

709

710 4.4 ANÁLISE DE HISTOLÓGICA DO INTESTINO MÉDIO E GÔNADAS

711 O intestino médio do controle apresentou-se revestido externamente por
712 camadas de tecido muscular circular e longitudinal e internamente por um epitélio de
713 células colunares com núcleos esféricos centrais e uma borda em escova de
714 microvilosidades em seu ápice. Além disso, identificou-se células regenerativas que
715 ocorrem individualmente ou agrupadas em ninhos que ficam em contato com a lâmina
716 basal. Na região do lúmen, observou-se a presença da membrana peritrófica
717 separando o bolo alimentar do epitélio. Os insetos tratados com o piretróide e com os
718 óleos essenciais nas DL_{50} de *J. virginiana* e *M. alternifolia* apresentaram após 24 horas
719 alterações morfológicas significativas. Em todos os tratamentos o epitélio mostrou-se
720 desorganizado, com protusões das células colunares, aumento de vacúolos e de
721 células regenerativas formando ninhos, além da ausência da matriz peritrófica. A dose
722 do bulldock e a DL_{70} de *M. alternifolia* promoveu espessamento da camada muscular
723 (Fig. 5).

724 Os adultos do controle apresentaram testículos revestidos por tecido conjuntivo
725 (ou cobertura peritoneal) em toda sua extensão, com invaginações septadas formando
726 vários folículos testiculares. Após 24 horas dos tratamentos com bulldock e os óleos
727 observou-se redução do número de espermatozoides. Os folículos apresentaram
728 numerosos cistos, e especificamente na DL_{70} de *M. alternifolia* ocorreu uma
729 vacuolização folicular intensa (Fig. 6).

730 Os grupos controles revelaram os ovários revestidos por uma bainha de
731 tecido conjuntivo, uma região de gema bem desenvolvida e uma camada de células
732 foliculares envolvendo cada oócito. Os ovários dos grupos submetidos ao bulldock

733 e ao óleo de *M. alternifolia* após 24 horas reduziram a região de vitelo, já na DL₇₀ não
734 ocorreu a formação desta região (Fig. 7).

735

736

737

738

739

740

741

742

743

744

745

746

747

748

749

750

751

752

753

754

755

756

757

758

759

760

761

762

763

Tabela 1. Composição química dos óleos essenciais de *Melaleuca alternifolia* e *Juniperus virginiana*

Nº	Compound ^a	<i>Melaleuca alternifolia</i>			<i>Juniperus virginiana</i>	
		I.R. ^b	I.R. ^c	%	I.R. ^c	%
1	α-Thujene	924	924	0.51	-	-
2	α-Pinene	932	930	1.93	-	-
3	Sabinene	969	971	0.24	-	-
4	β-Pinene	974	973	0.45	-	-
5	Myrcene	988	990	0.36	-	-
6	α-Phellandrene	100	100	0.30	-	-
		2	3			
7	α-Terpinene	101	101	8.77	-	-
		4	4			
8	p-Cymene	102	102	3.40	-	-
		0	2			
9	Limonene	102	102	1.45	-	-
		4	6			
10	1,8-Cineole	102	102	1.75	-	-
		6	8			
11	γ-Terpinene	105	105	18.60	-	-
		4	7			
12	Terpinolene	108	108	2.97	-	-
		6	7			
13	(Z)-p-Menth-2-en-1-ol	111	112	0.18	-	-
		8	0			
14	(E)-p-Menth-2-en-1-ol	113	113	0.19	-	-
		6	8			
15	Terpinen-4-ol	117	117	47.24	-	-
		4	7			
16	α-Terpineol	118	118	4.18	-	-
		6	9			
17	γ-Terpineol	119	119	0.18	-	-
		9	6			
18	2-epi-α-Funebrene	138	-	-	137	0.13
		0			9	
19	α-Duprezianene	138	-	-	138	0.34
		7			4	
20	β-Elemene	139	-	-	139	0.25
		0			2	
21	α-Chamipinene	139	-	-	139	0.07
		6			7	
22	α-Funebrene	140	-	-	140	0.11
		2			1	
23	Sesquithujene	140	-	-	140	0.11
		5			6	
24	α-Gurjunene	140	141	0.30	-	-
		9	0			

25	α-Cedrene	141 0	-	-	141 3	18.49
26	(<i>E</i>)-Caryophyllene	141 7	142 0	0.18	-	-
27	β-Cedrene	141 9	-	-	142 1	4.31
28	(Z)-Thujopsene	142 9	-	-	143 2	31.94
29	Isobazzanene	143 6	-	-	143 7	0.12
30	Aromadendrene	143 9	143 9	1.23	-	-
31	Myltayl-4(12)-ene	144 5	144 4	0.10	-	-
32	α -Himachalene	144 9	-	-	145 0	0.55
33	α -Humulene	145 2	-	-	145 4	0.09
34	allo- Aromadendrene	145 8	146 2	0.45	-	-
35	α -Acoradiene	146 4	-	-	146 5	0.61
36	β -Acoradiene	146 9	-	-	146 8	0.45
37	α -Neocallitropsene	147 4	-	-	147 2	0.20
38	<i>E</i> -Cadina-1(6),4- diene	147 5	147 4	0.24	-	-
39	β -Chamigrene	147 6	-	-	147 8	1.48
40	ar-Curcumene	147 9	-	-	148 4	0.28
41	β -Selinene	148 9	148 7	0.08	148 7	0.44
42	(Z)- β -Guaiene	149 2	148 9	0.16	-	-
43	Viridiflorene	149 6	149 6	1.86	-	-
44	β -Alaskene	149 8	-	-	149 6	0.69
45	α -Muurolene	150 0	150 1	0.12	-	-
46	β -Himachalene	150 0	-	-	150 1	2.95
47	α -Chamigrene	150 3	-	-	150 4	0.93
48	Cuparene	150 4	-	-	150 6	2.15

Continuação da Tabela 1.

49	α -Alaskene	151 2	-	-	151 4	1.31
50	δ -Cadinene	152 2	152 5	0.99	152 4	1.04
51	(E)-Cadina-1,4-diene	153 3	153 4	0.11	-	-
52	γ -Cuprenene	153 3	-	-	153 3	0.48
53	δ -Cuprenene	154 2	-	-	154 4	0.24
54	Allocedrol	158 9	-	-	159 1	0.23
55	Globulol	159 0	158 6	0.17	-	-
56	(Z)-dihydro-Mayurone	159 5	-	-	159 6	0.07
57	Cedrol	160 0	-	-	160 3	25.61
58	Epi-cedrol	161 8	-	-	161 5	0.30
59	α -Acorenol	163 2	-	-	163 2	0.58
60	β -Acorenol	163 6	-	-	163 6	0.37
61	Himachalol	165 2	-	-	164 9	0.11
62	3-Thujopsanone	165 3	-	-	165 2	0.43
63	7-epi- α -Eudesmol	166 2	-	-	166 0	0.07
64	8-Cedren-13-ol	168 8	-	-	169 2	0.09
65	Mayurone	170 3	-	-	170 8	0.11
66	(Z)-Thujopsenal	170 8	-	-	170 6	0.16
67	Cedryl acetate	176 7	-	-	176 6	0.17
Monoterpenos			38.98			-
Monoterpenos			53.72			-
Sesquiterpenos			5.82			69.76
Sesquiterpenos			0.17			28.3
Total			98.69			98.06

768

^a Constituintes listados em ordem de eluição na coluna apolar DB-5;

769

^b Índices de retenção de Kratz da literatura (Adams, 2009);

770

^c Índices de retenção de Kratz calculados através dos tempos de retenção em relação aos da série de n-alcenos (C8-C25).

771

772

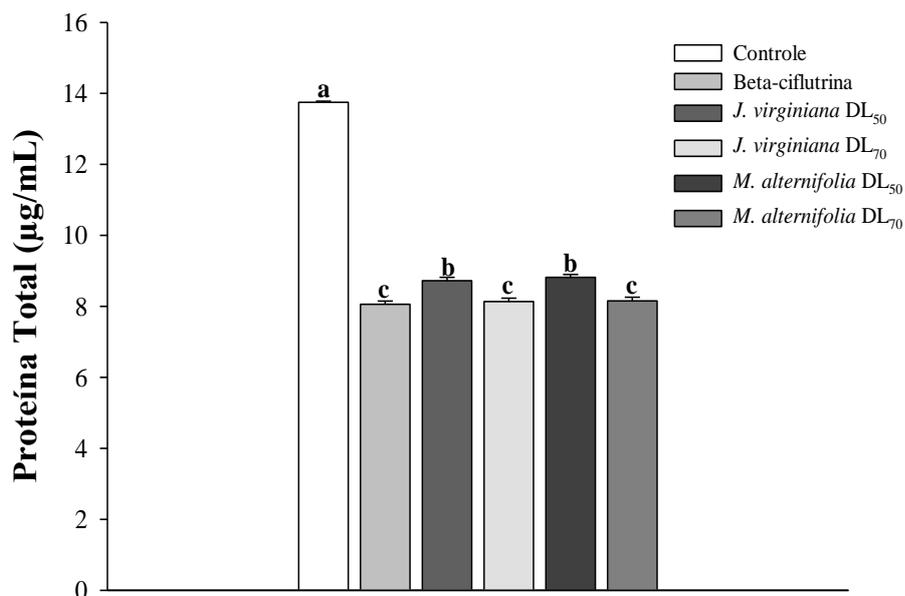
773
774

Tabela 2. Toxicidade dos óleos essenciais de *Melaleuca alternifolia* e *Juniperus virginiana* em adultos de *Anthonomus grandis* por contato tópico

Tratamentos	N ¹	GL ²	Inclinação da reta (±EP) ³	DL ₅₀ ⁴ (IC95%) ⁵ (mg/g)	RT ₅ ⁶	DL ₇₀ (IC95%) (mg/g)	RT ₇₀	χ ²
<i>Juniperus virginiana</i>	5	3	1.594±0.48	0,280 (0,139-0,543)	-	0,597 (0,343-2,322)	-	10,79
<i>Melaleuca alternifolia</i>	5	3	2.071±0.56	0,169 (0,096-0,274)	1,65	0,303 (0,196-0,697)	1,96	13,29

775
776
777
778
779
780

N¹= número de insetos usados no teste; GL²= grau de liberdade; EP³= erro padrão da média; DL⁴= Dose letal (mg/g de inseto), IC⁵ = intervalo de confiança; RT = razão de toxicidade; χ²= Quiquadrado.



781

782 **Figura 1.** Quantidade de proteínas totais em adultos de *A. grandis* após 24h,
 783 submetidos as DL₅₀ e DL₇₀, por contato tópico, do óleo de *Melaleuca alternifolia* e
 784 *Juniperus virginiana*, e por ingestão do inseticida sintético Bulldock 125 SC na dose
 785 de campo. Os dados foram transformados em Log para assumir normalidade e
 786 homogeneidade, sendo posteriormente submetidos à anova pelo teste de Tukey a 5%
 787 de probabilidade.

788

789

790

791

792

793

794

795

796

797

798

799

800

801

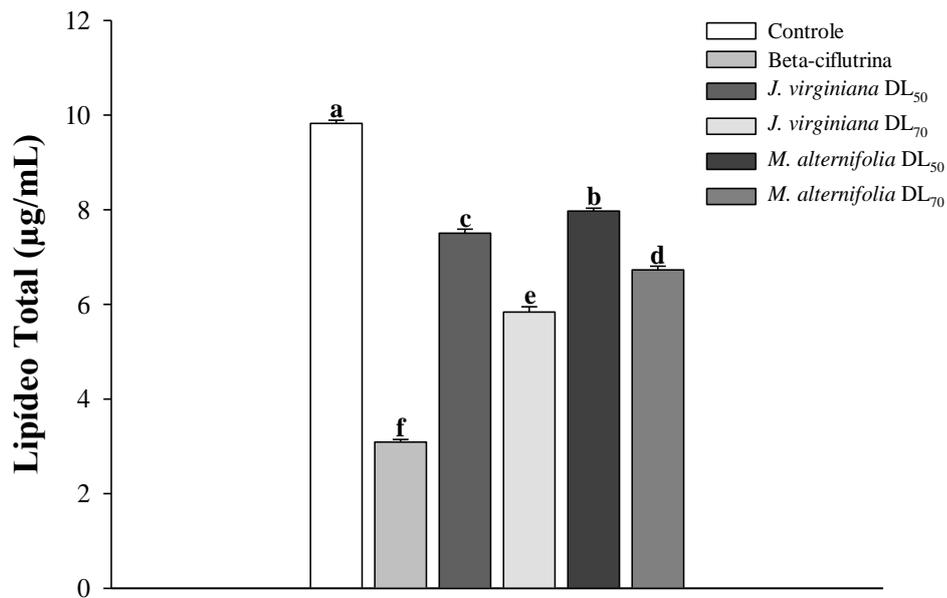
802

803

804

805

806



807

808 **Figura 2.** Quantidade de lipídios em adultos de *A. grandis* após 24h, submetidos as
 809 DL₅₀ e DL₇₀, por contato tóxico, do óleo de *Melaleuca alternifolia* e *Juniperus*
 810 *virginiana*, e por ingestão do inseticida sintético Bulldock 125 SC na dose de campo.
 811 Os dados não apresentaram normalidade e homogeneidade, sendo submetidos a o
 812 teste não paramétrico de Wilcoxon a 5% de probabilidade.

813 .

814

815

816

817

818

819

820

821

822

823

824

825

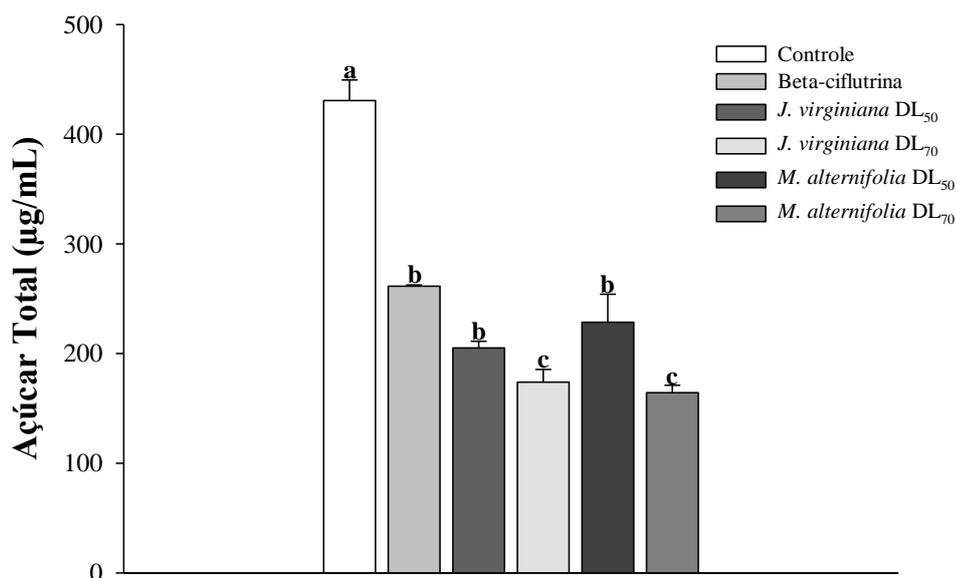
826

827

828

829

830



831

832 **Figura 3.** Quantidade de açúcar total em adultos de *A. grandis* após 24h, submetidos
 833 as DL₅₀ e DL₇₀, por contato tóxico, do óleo de *Melaleuca alternifolia* e *Juniperus*
 834 *virginiana*, e por ingestão do inseticida sintético Bulldock 125 SC na dose de campo.
 835 Os dados não apresentaram normalidade e homogeneidade, sendo submetidos a o
 836 teste não paramétrico de Wilcoxon a 5% de probabilidade.

837

838

839

840

841

842

843

844

845

846

847

848

849

850

851

852

853

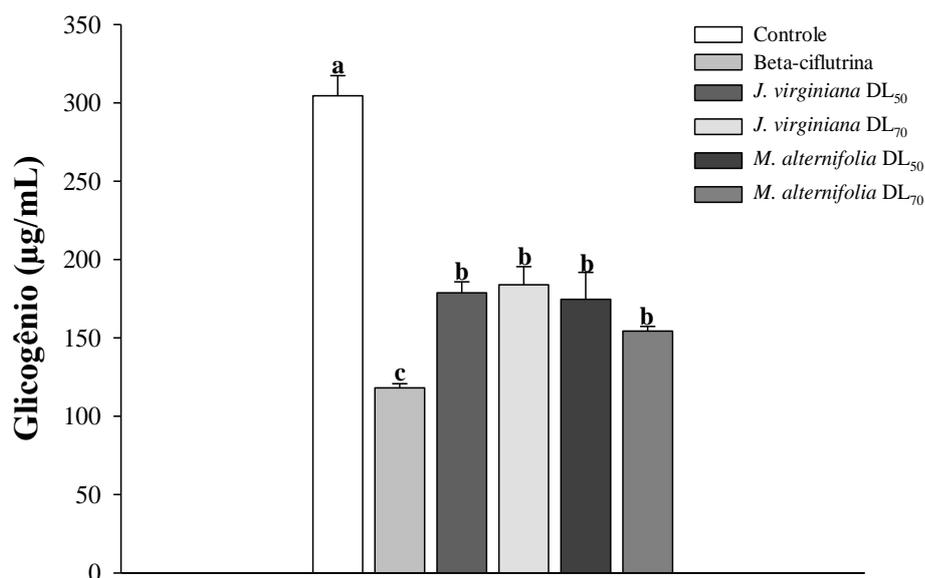
854

855

856

857

858



859

860 **Figura 4.** Quantidade de glicogênio em adultos de *A. grandis* após 24h, submetidos
 861 as DL₅₀ e DL₇₀, por contato tópico, do óleo de *Melaleuca alternifolia* e *Juniperus*
 862 *virginiana*, e por ingestão do inseticida sintético Bulldock 125 SC na dose de campo.
 863 Os dados não apresentaram normalidade e homogeneidade, sendo submetidos a o
 864 teste não paramétrico de Wilcoxon a 5% de probabilidade.

865

866

867

868

869

870

871

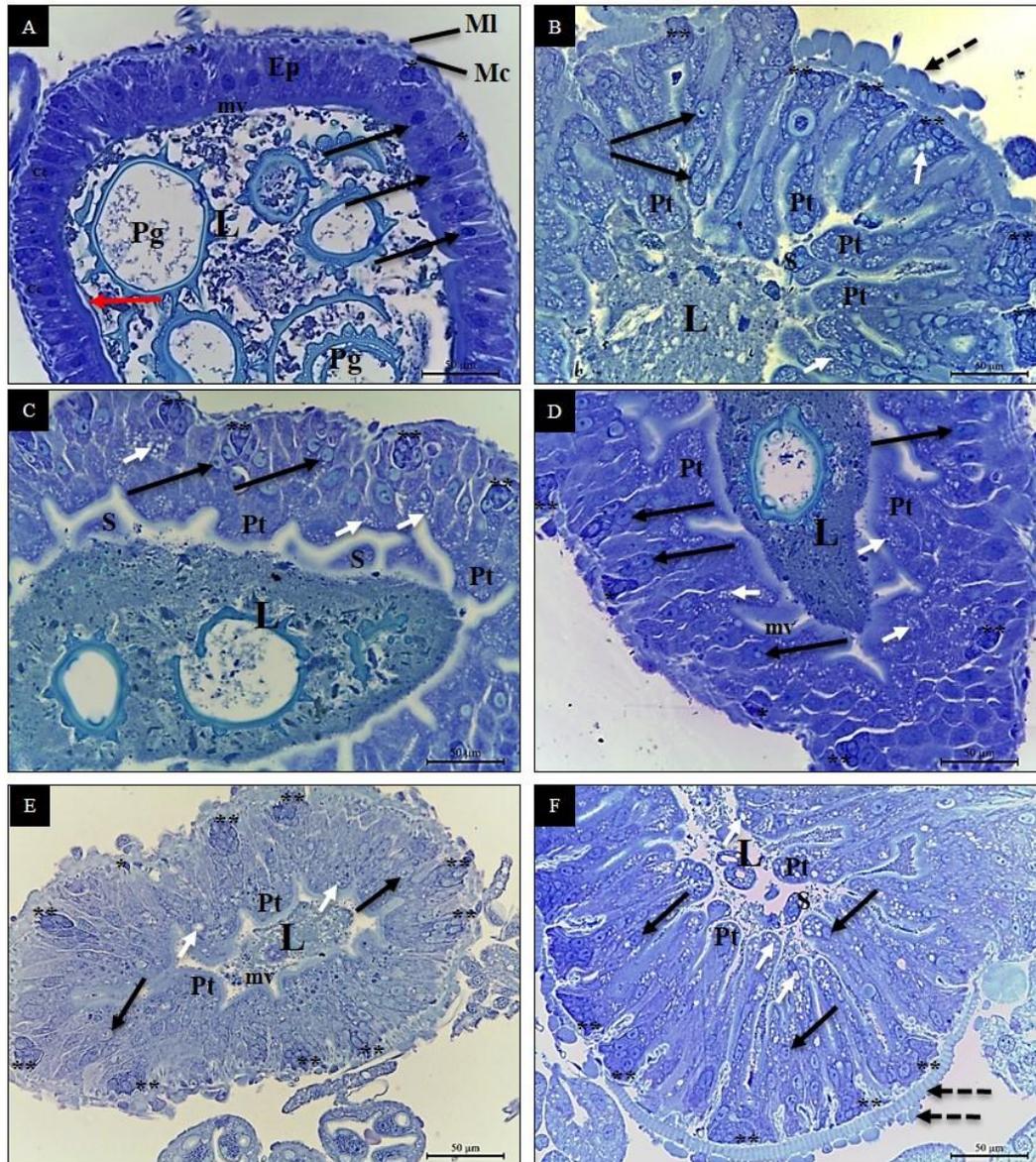
872

873

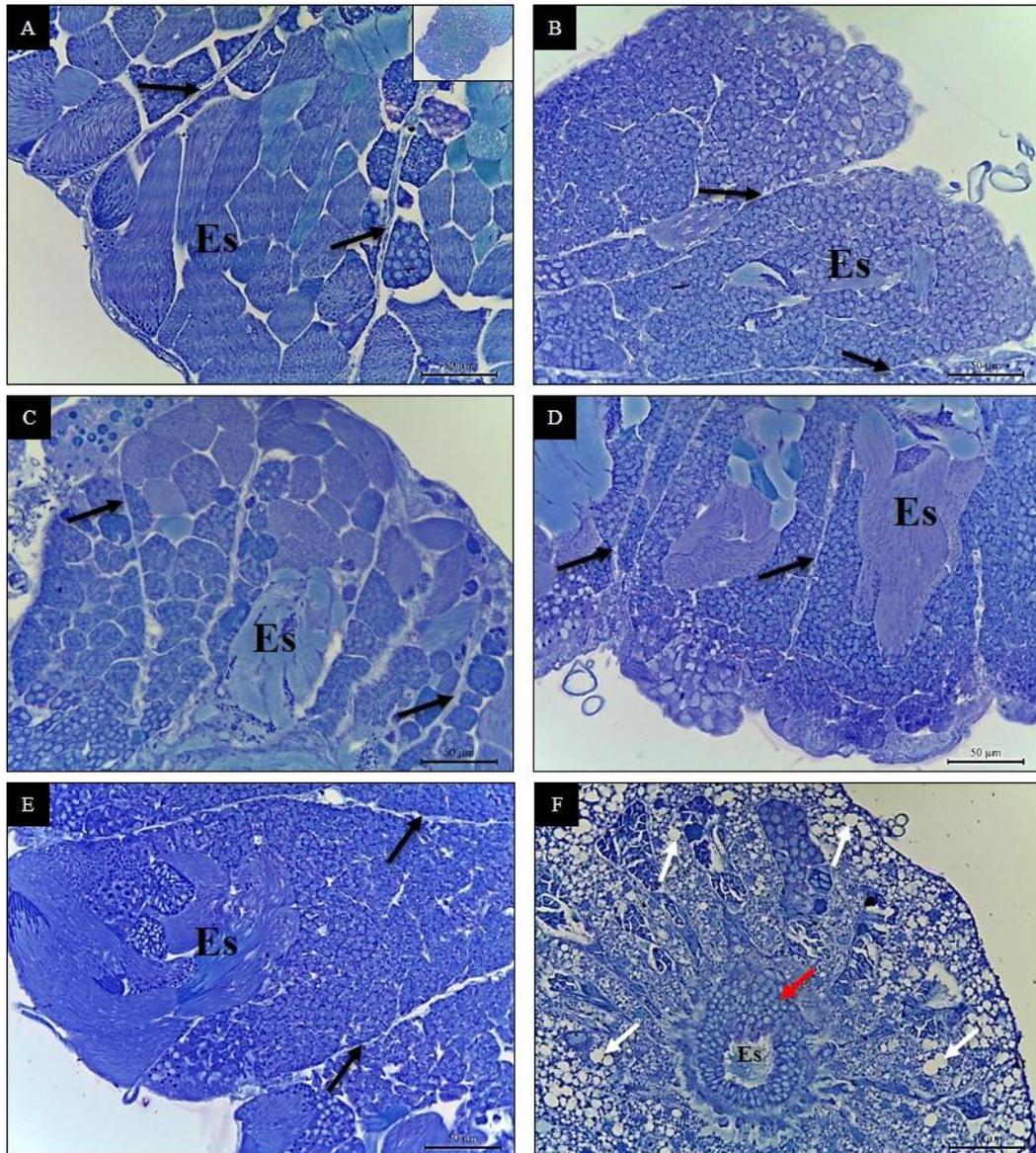
874

875

876



878 **Figura 5.** Seção transversal do intestino médio de adultos de *Anthonomus grandis*.
 879 Coloração Azul de Toluidina. (A) controle; com membrana peritrófica (seta vermelha)
 880 no lúmen (L) com grãos de pólen (Pg), com células colunares (Cc) com núcleos
 881 centrais (seta) e borda em escova de microvilosidades no ápice (mv) e ninhos de
 882 células regenerativas (**) na base do epitélio (Ep), além de músculos circulares (Mc)
 883 e músculos longitudinais (MI) revestindo externamente. (B) Bulldock; observar
 884 protusões (Pt) das células colunares, numerosos vacúolos (seta branca), presença de
 885 ninhos de células regenerativas (**) e camada muscular espessa (seta tracejada) (C)
 886 DL₅₀ do óleo essencial de *Juniperus virginiana* e (D) DL₇₀ do óleo essencial de
 887 *Juniperus virginiana*; evidenciar protusões (Pt) das células colunares, numerosos
 888 vacúolos (seta branca), desorganização do epitélio (Epd), numerosos ninhos de
 889 células regenerativas (**) e camada muscular delgada (seta tracejada vermelha). (E)
 890 DL₅₀ do óleo essencial de *Melaleuca alternifolia*, (F) DL₇₀ do óleo essencial de
 891 *Melaleuca alternifolia*. Identificar protusões (Pt) das células colunares, numerosos
 892 vacúolos (seta branca), desorganização do epitélio (Epd), presença de ninhos de
 893 células regenerativas (**), camada muscular espessa (seta tracejada) e ejeção de
 894 núcleos para o lúmen (L).



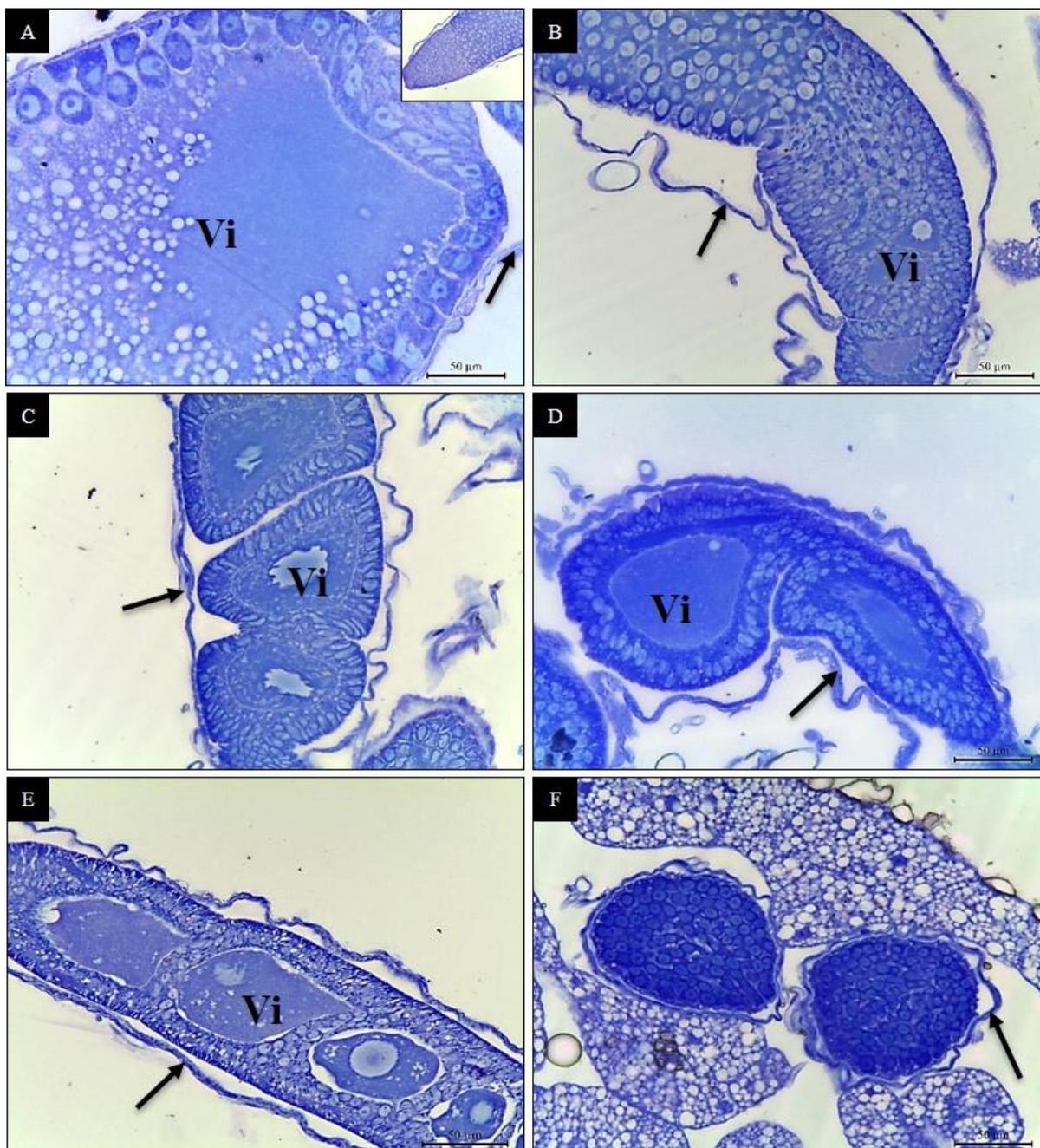
896 **Figura 6.** Testículo de adultos de *Anthonomus grandis*. Coloração Azul de Toluidina.
 897 (A) controle; visualizar folículos testiculares separados pelos septos peritoneais (seta)
 898 com grande quantidade de espermatozoides (Es) e de cistos (Asterisco). (B) Bulldock,
 899 observar poucos feixes de espermatozoides (Es) e maior quantidade de cistos. (C)
 900 DL₅₀ do óleo essencial de *Juniperus virginiana* e (D) DL₇₀ do óleo essencial de
 901 *Juniperus virginiana*, analisar poucos feixes de espermatozoides (Es) e maior
 902 quantidade de cistos e espessamento do septo peritoneal (seta tracejada). (E) DL₅₀
 903 do óleo essencial de *Melaleuca alternifolia* e (F) DL₇₀ do óleo essencial de
 904 *Melaleuca alternifolia*, identificar poucos feixes de espermatozoides (Es), aumento de cistos,
 905 espessamento do canal deferente (seta vermelha) e vacuolização no folículo e nos
 906 septos peritoneais (seta vermelha).

907

908

909

910



911

912 **Figura 7.** Ovariolos de adultos de *Anthonomus grandis*. Coloração Azul de Toluidina.
 913 (A) controle; observar oócito com região de gema bem desenvolvida e com grande
 914 quantidade de vitelo (Vi). (B) Bulldock, identificar oócito com pouco vitelo (Vi). (C) DL₅₀
 915 do óleo essencial de *Juniperus virginiana* e (D) DL₇₀ do óleo essencial de *Juniperus*
 916 *virginiana*, analisar oócitos com pouco vitelo (Vi). (E) DL₅₀ do óleo essencial de
 917 *Melaleuca alternifolia* e (F) DL₇₀ do óleo essencial de *Melaleuca alternifolia* visualizar
 918 oócitos com pouco vitelo (Vi) e oócitos sem a formação da região de gema. Seta,
 919 bainha de tecido conjuntivo; Cf, células foliculares.

920

921

922 5 DISCUSSÃO

923 Óleos essenciais são substâncias extraídas do metabolismo secundário das
924 plantas que apresentam menor peso molecular, além de serem lipofílicos, odoríferos,
925 líquidos e altamente voláteis (COELHO *et al.*, 2019), estas características influenciam
926 na sua capacidade pesticida (CASTILHOS *et al.*, 2017). Na presente pesquisa todos
927 os compostos dos óleos essenciais identificados são terpenos, este o mais abundante
928 grupo presente nos óleos essenciais e o de maior atividade inseticida (GORRI *et al.*
929 2017).

930 Todavia, a composição química destes elementos, assim como a quantidade
931 dos compostos majoritários são aspectos resultantes das condições edafoclimáticas,
932 espécie da planta, localização geográfica, assim como fatores genéticos de
933 melhoramento (SI *et al.*, 2012). Zhang e Yao (2018) verificaram que *J. virginiana*
934 apresentava α -cedrene (28,11%), cedrol (24,58%), (-)-thujopsene (17,71%) β -cedrene
935 (7,81%) como compostos majoritários, também encontrados no nosso trabalho em
936 quantidades diferentes.

937 Estas substâncias possuem três mecanismos de ação: fumigação, contato e
938 ingestão que alteram a estabilidade fisiológica do organismo do inseto interferindo
939 diretamente na transmissão das sinapses nervosas e no processo de ecdise, podendo
940 ainda provocar mortalidade e redução do peso e período larval e pupal (CRUZ *et al.*,
941 2017). O seu efeito toxicológico e repelente, influência na absorção de nutrientes e,
942 conseqüentemente, no desenvolvimento reprodutivo, podendo ocasionar alterações
943 na espermatogênese e oogênese de diversas espécies (CRUZ *et al.*, 2017; SANTOS,
944 2019).

945 Santos (2019) após análise cromatográfica e de toxicidade dos óleos
946 essenciais de *M. spicata*, *M. alternifolia* e *J. virginiana* sobre lagartas de 3^o instar de
947 *Alabama argillacea* (Lepidoptera: Noctuidae), verificou que a toxicidade dessas
948 substâncias estava correlacionada com a quantidade de terpenos presentes em seus
949 compostos majoritários. Além da mortalidade, alterações histológicas foram
950 observadas nos testículos dos insetos tratados, sendo o *M. alternifolia* o de maior
951 efeito.

952 As alterações histopatológicas observadas na região do intestino médio são
953 indicadores de comprometimento na função do órgão (HEGEDUS *et al.*, 2009), visto
954 que as células digestivas desempenham papel fundamental na absorção de nutrientes

955 e são responsáveis pela síntese da matriz peritrófica. Esta membrana é composta
956 primariamente de quitina e proteínas e possui capacidade para suportar o processo
957 de digestão, atuando na proteção contra a força abrasiva das partículas alimentares
958 e o ataque de patógenos entéricos (COSSOLIN, 2019).

959 Além disso, desempenham o trabalho de compartimentalizar enzimas
960 digestivas e/ou produtos da digestão, atuam na neutralização de toxinas ingeridas e
961 na prevenção a parasitas, bactérias e infecções virais (COSSOLIN, 2019). O
962 espessamento da camada muscular do intestino promovido pela DL70 de *M.*
963 *alternifolia* e a dose rótulo de bulldock provavelmente comprometeu a contração
964 peristáltica e resultou ainda mais em problemas digestórios.

965 Objetivando recuperar-se do dano, o epitélio aumenta o número de células
966 regenerativas para substituição e reparação tecidual (SPIES; SPENCER, 1985).
967 Neste estudo, isso foi verificado pela presença de vários ninhos de células
968 regenerativas ao longo do epitélio, principalmente nos grupos tratados com a DL70
969 dos óleos e a dose do inseticida sintético. Apesar disso, a presença de vacúolos
970 nesses ninhos indica o dano permanente e provavelmente a não reparação celular.
971 Esses resultados corroboram com os de Costa *et al.* (2017), que também relataram
972 aumento de ninhos de células regenerativas, desorganização das células colunares e
973 presença de vacúolos em populações de *A. grandis* expostas ao lufenuron.

974 Outros bioinseticidas e piretróides também já tiveram seus efeitos no
975 mesentério comprovados. Por exemplo, Gutiérrez *et al.* (2016), relataram que a CL50
976 de deltametrina após 24h resultou na retração da camada muscular, vacuolização do
977 citoplasma, desorganização do núcleo e da borda estriada em *Callibaetis radiatus*
978 (Ephemeroptera: Baetidae).

979 Além disso, os danos nesta área podem ter refletido no comprometimento de
980 suas estruturas reprodutivas, como por exemplo, a vacuolização da cobertura
981 peritoneal e das células foliculares, uma vez que as reduções nos níveis nutricionais
982 (proteína, lipídio, açúcar total e glicogênio) afetam diretamente o processo de
983 desenvolvimento e nutrição do ovo, pois tem o quantitativo de, por exemplo,
984 vitelogenina, carboxipeptidase vitelogênica, catepsina B e lipoforina reduzidos
985 (GUIZZO *et al.*, 2012; CRUZ *et al.*, 2017). A diminuição tanto de espermatozoides
986 quanto de vitelo, importante nutriente para o desenvolvimento, certamente culminará
987 em baixa taxa reprodutiva, influenciando na redução de gerações subsequentes.

988 Nutricionalmente, os carboidratos (açúcar total e glicogênio) são importantes
989 fontes energéticas para diversos organismos (BASÍLIO *et al.*, 2019). Essas
990 substâncias podem ser convertidas em lipídios quando necessárias, atuando na
991 produção cuticular, na síntese de aminoácidos, no desenvolvimento das estruturas
992 reprodutivas e do processo pré-vitelogênico (CRUZ *et al.*, 2017).

993 Nos insetos, a trealose é o principal açúcar de reserva e, quando há
994 necessidade é degradada, agindo como fonte energética nos tecidos banhados pela
995 hemolinfa (COSTA, 2019). A redução no quantitativo de lipídio é resultado da inversão
996 do metabolismo pelo catabolismo destas moléculas, tal situação ocorre em resposta
997 ao estresse causado por inseticidas botânicos ao qual o inseto está sendo submetido
998 (CHAPMAN, 2013). Todavia, a sua aquisição é influenciada diretamente por
999 condições ambientais, estado fisiológico e nutricional do organismo.

1000 Estudos realizados com os compostos de óleo essenciais, trans-anethole,
1001 limoneno e a combinação entre eles, sob parâmetros nutritivos e reprodutivos de *S.*
1002 *frugiperda*, demonstraram alterações nutricionais dos insetos tratados além de
1003 alterações reprodutivas reduzindo o número de ovos e o período de oviposição da
1004 espécie (CRUZ *et al.*, 2017). Resultados semelhantes foram encontrados por Guedes
1005 *et al.* (2018), ao submeterem lagartas de *S. frugiperda* ao geraniol e citronelal,
1006 compostos também presentes em óleos essenciais. Os autores observaram redução
1007 significativa no quantitativo proteico e de açúcares.

1008 Sendo assim, os resultados desta pesquisa evidenciam que, assim como a
1009 beta-ciflutrina, presente no piretróide Bulldock, os óleos essenciais de *J. virginiana* e
1010 *M. alternifolia* são capazes de causar alterações morfológicas no intestino médio e
1011 devido às complicações na absorção de nutrientes os danos se estendem as suas
1012 estruturas reprodutivas, havendo a diminuição do potencial reprodutivo em adultos de
1013 *A. grandis*. Com base nisso, os óleos essenciais de plantas podem se tornar uma
1014 alternativa complementar ao controle químico convencional, mas carecem de estudos
1015 posteriores com ênfase na produção de formulações aplicáveis às condições de
1016 campo.

1017

1018

1019

1020 **6 CONCLUSÃO**

1021

1022 Os resultados demonstram que tanto os óleos de *M. alternifolia* e *J. virginiana*
1023 quanto o princípio ativo beta-ciflutrina (Bulldock 125 SC) ocasionaram efeitos
1024 adversos na nutrição e morfologia do intestino médio e gônadas de *A. grandis*. Desta
1025 forma, a utilização de óleos essenciais de plantas mostra-se como uma técnica
1026 promissora, pois além de baixo risco ambiental e menor custo de produção, ocasiona
1027 a mortalidade e também efeitos subletais em parâmetros indispensáveis a
1028 sobrevivência da praga, como a reprodução. Essas evidências comprovam que o seu
1029 uso pode fazer parte do manejo integrado de pragas (MIP), bem como alternativa aos
1030 produtos comumente empregados. Contudo, vale a ressalva de que a dose utilizada
1031 para o inseticida foi a de campo, ou seja, dose que mata cerca de 90% da população.
1032 Já as utilizadas para os óleos, nos experimentos, equivalem a dose que mata de 50 a
1033 70% e, mesmo sendo menos tóxica, demonstrou a mesma eficiência que o produto
1034 químico acima citado.

1035

1036

1037

1038

1039 **REFERÊNCIAS**

1040

1041 **ABRAPA.** 2020. <https://www.abrapa.com.br>. Acesso em: 09/10/2021.

1042

1043 **ABRAPA.** 2021.

1044 [https://www.abrapa.com.br/SiteAssets/Lists/Noticias/EditForm/Perspectivas-Safra-](https://www.abrapa.com.br/SiteAssets/Lists/Noticias/EditForm/Perspectivas-Safra-21-22%20%2022set2021.pdf)
1045 [21-22%20%2022set2021.pdf](https://www.abrapa.com.br/SiteAssets/Lists/Noticias/EditForm/Perspectivas-Safra-21-22%20%2022set2021.pdf). Acesso em: 09/10/2021.

1046

1047 **AGROFIT.** 2020. https://agrofit.agricultura.gov.br/agrofit_cons/principal_agrofit_cons.
1048 Acesso em 09/10/2021.

1049

1050 **AGROLINK.** [https://www.agrolink.com.br/agrolinkfito/produto/bulldock-125-](https://www.agrolink.com.br/agrolinkfito/produto/bulldock-125-sc_163.html)
1051 [sc_163.html](https://www.agrolink.com.br/agrolinkfito/produto/bulldock-125-sc_163.html). Acesso em: 12/10/2021.

1052

1053 ALBIERO, B.; FREIBERGER, G.; MORAES, R.P.; VANIN, A.B. Potencial inseticida
1054 dos óleos essenciais de endro (*Anethum graveolens*) e de nim (*Azadirachta indica*) no
1055 controle de *Sitophilus zeamais*. **Brazilian Journal of Development**, v. 5, n. 10, p.
1056 21443-21448, 2019.

1057

1058 AMER A.; MEHLHORN, H. Larvicidal effects of various essential oils against.
1059 **Parasitology Research**, v. 99, p. 466-472, 2006.
1060
1061 AZAMBUJA, R.; DEGRANDE, P.E. Thirty years of cotton boll weevil in Brazil.
1062 **Arquivos do Instituto Biológico**, v. 81, n. 4, p. 377-410, 2014.
1063
1064 BASÍLIO, M.C.; MARTINS, B.T.; SILVA, M.A. Nutrição aplicada e alimentação
1065 saudável. **Editora Senac São Paulo**, 360p. 2019.
1066
1067 BÉLOT, J.L.; BARROS, E.M.; MIRANDA, J.E. Riscos e oportunidades: O bicudo-do-
1068 algodoeiro. Desafios do cerrado: Como sustentar a expansão da produção com
1069 produtividade e competitividade. IN: **Associação Mato-grossense dos Produtores**
1070 **de Algodão**, Cuiabá, v. 1, p. 283, 2016.
1071
1072 BERNARDS, M.A. Plant natural products: a primer. **Canadian Journal of Zoology**, v.
1073 88, n. 7, p. 601-614, 2010.
1074
1075 CARSON, R. **Primavera silenciosa**. 1ª ed. São Paulo: Editora Gaia, 2010.
1076
1077 CARTAXO, W. V., GUIMARÃES, F. M., SOARES, J. J., BELTRÃO, N. E. de M.
1078 Potencialidades da produção de algodão pela agricultura familiar do Nordeste.
1079 **Embrapa algodão - documentos (INFOTECA-E)**, p.1-28, 2008.
1080
1081 CASTILHOS, R.V.; GRÜTZMACHER, A.D.; COATS, J.R. Acute toxicity and sublethal
1082 effects of terpenoids and essential oils on the predator *Chrysoperla externa*
1083 (Neuroptera: Chrysopidae). **Neotropical Entomologym**, v. 47, p. 311-317, 2017.
1084 CHAPMAN, R.F. The insects: structures and function. **Cambridge University Press**,
1085 p. 929, 2013.
1086
1087 COELHO, A. G., LEALI, E. R., DE VASCONCELOS, J. F. S. Emprego de Óleos
1088 Essenciais como Matéria-Prima para a Produção de Repelentes de Insetos. **Revista**
1089 **Contexto & Saúde**, v. 19, n. 37, p. 178-182, 2019.
1090
1091 COSSOLIN, J. F. Silva. **Morfologia das glândulas salivares e do intestino médio**
1092 **de *Scaptocoris castanea* Perty, 1830 (Hemiptera: Cydnidae)**. Dissertação
1093 (Doutorado em Biologia Celular e Estrutural) – Universidade Federal de Viçosa,
1094 Viçosa, 2019.
1095
1096 COSTA, Hadja Lorena Rangel Uchôa Cavalcanti de Menezes. **Avaliação do**
1097 **comportamento e do perfil bioquímico de abelhas africanizadas (*Apis mellifera***
1098 **Lepelletier) expostas ao herbicida glifosato por ingestão**. 2019. Trabalho de
1099 Conclusão de Curso (Graduação em Zootecnia) – Universidade Federal Rural de
1100 Pernambuco. Recife – PE, 2019.

1101
1102 COSTA, H.N.; CUNHA F.M.; CRUZ, G.S.; D'ASSUNÇÃO, C.G.; ROLIM, G.G;
1103 BARROS, M.E.G.; BREDÁ, M.O.; TEIXEIRA, A.A.C.; TEIXEIRA, V.W. Lufenuron
1104 impact upon *Anthonomus grandis* Boheman (Coleoptera: Curculionidae) midgut and
1105 its reflection in gametogenesis. **Pesticide Biochemistry Physiology**, v. 137, p. 71-
1106 80, 2017.

1107
1108 CRUZ, G.S.; WANDERLEY-TEIXEIRA, V; OLIVEIRA, J.V.; LOPES, F.S.C.;
1109 BARBOSA, D.R.S.; BREDÁ, M.O.; DUTRA, K.A.; GUEDES, C.A.; NAVARRO,
1110 D.M.A.F.; TEIXEIRA, A.A.C. Sublethal effects of essential oils from *Eucalyptus*
1111 *staigeriana* (Myrtales: Myrtaceae), *Ocimum gratissimum* (Lamiales: Lamiaceae), and
1112 *Foeniculum vulgare* (Apiales: Apiaceae) on the biology of *Spodoptera frugiperda*
1113 (Lepidoptera: Noctuidae). **Journal of Economic Entomology**, v. 109, p. 660-666,
1114 2016.

1115
1116 CRUZ, G.S.; WANDERLEY-TEIXEIRA, V.; OLIVEIRA, J.V.; D'ASSUNÇÃO, C.G.;
1117 CUNHA, F.M.; TEIXEIRA, A.A.C.; GUEDES, C.A.; DUTRA, K.A.; BARBOSA, D.R.S.;
1118 BREDÁ, M.O. Effect of transanethole, limonene and your combination in nutritional
1119 components and their reflection on reproductive parameters and testicular apoptosis
1120 in *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae). **Chemico-biological**
1121 **interactions**, v. 263, p. 74-80, 2017.

1122
1123 DILLMANN, J.B.; COSSETIN, L.F.; DE GIACOMETI, M.; OLIVEIRA, D.; DE MATOS,
1124 A.F.I.M.; AVRELLA, P.D.; QUELEN, I.G.; HEINZMANN, B.M.; MONTEIRO, S.G.
1125 Adulticidal activity of *Melaleuca alternifolia* (Myrtales: Myrtaceae) essential oil with high
1126 1, 8-cineole content against stable flies (Diptera: Muscidae). **Journal of Economic**
1127 **Entomology**, v. 113, n. 4, p. 1810-1815, 2020.

1128
1129 ELLER, F.J.; CLAUSEN, C.A.; GRENN, F.; TAYLOR, S.L. 2010. Critical fluid extraction
1130 of *Juniperus virginiana* L. and bioactivity of extracts against subterranean termites and
1131 wood-rot fungi. **Industrial Crops and Products**, v. 32, n. 3, p. 481-485, 2010.

1132
1133 ELLER, F.J.; VANDER MEER, R.K.; BEHLE, R.W.; FLOR-WEILER, L.B.;
1134 PALMQUIST, D.E. 2014. Bioactivity of cedarwood oil and cedrol against arthropod
1135 pests. **Environmental entomology**, v. 43, n. 3, p. 762-766, 2014.

1136
1137 **Escritório Técnico de Estudos Econômicos do Nordeste (ETENE)**. 2021.
1138 Disponível em: [https://www.bnb.gov.br/s482-](https://www.bnb.gov.br/s482-dspace/bitstream/123456789/808/1/2021_CDS_166.pdf)
1139 [dspace/bitstream/123456789/808/1/2021_CDS_166.pdf](https://www.bnb.gov.br/s482-dspace/bitstream/123456789/808/1/2021_CDS_166.pdf). Acesso em: 20/10/2021.

1140
1141 Gorri, J. E. R., Ribeiro, L., Dos Reis, D. S., de Moraes, K. D. B., Costa, N. C. R., da
1142 Silva, É. M. Nantecnologia em extratos e óleos essenciais de plantas: uma visão sobre

1143 sua ação nos insetos. **A Química na Produção Vegetal**, ed. 540, p.114, 2017. ISBN:
1144 978-85-93848-01-8.

1145

1146 GREENBERG, S.M.; SAPPINGTON, T.W.; SPURGEON, D.W.; SETAMOU, M. Boll
1147 weevil (Coleoptera: Curculionidae) feeding and reproduction as functions of cotton
1148 square availability. **Environmental entomology**, v. 32, p .698-704, 2003.

1149

1150 GUEDES, C.A.; WANDERLEY-TEIXEIRA, V.; CRUZ, G. S.; DUTRA, K.A.; LAPA-
1151 NETO, C. J. C.; TEIXEIRA, A.A.C, OLIVEIRA, J.V. Effects of geraniol and citronellal
1152 compounds on biochemical and reproductive parameters of *Spodoptera frugiperda*
1153 (Lepidoptera: Noctuidae). **Journal of crop protection**, v. 7, n. 3, p. 293-302, 2018.

1154

1155 GUERRA, A. M. N.; DOS SANTOS, D.S.; SANTOS, P. S.; DOS SANTOS, L. B. Teste
1156 de repelência de óleos essenciais sobre *Callosobruchus maculatus*. **Revista**
1157 **Brasileira de Agropecuária Sustentável**, v. 9, n. 3, 2019.

1158

1159 GUIZZO, M.G.; ABREU, L.; MASUDA, A.; LOGULLO, C.; JUNIOR, I.S.V. Metabolism
1160 of biomolecules in the embryogenesis of the tick *Rhipicephalus microplus* (Boophilus).
1161 **Acta Scientiae Veterinariae**, v. 40, n. 1, 2012.

1162

1163 GUTIÉRREZ, Y.; SANTOS, H.P.; SERRÃO, J. E.; OLIVEIRA, E.E. Deltamethrin-
1164 Mediated toxicity and cytomorphological changes in the midgut and nervous system of
1165 the mayfly *Callibaetis radiates*. **PloS one** , v. 11, n. 3, p. 1-15, 2016.

1166

1167 HAMMER, K.A.; CARSONA, C.F.; RILEYA, T.V.; NIELSEN, J.B. A review of the
1168 toxicity of *Melaleuca alternifolia* (tea tree) oil. **Food and chemical toxicology**, v. 44,
1169 n. 5, p. 616-625, 2006.

1170

1171 HEGEDUS, D., ERLANDSON, M., GILLOTT, C., TOPRAK, U. New insights into
1172 peritrophic matrix synthesis, architecture, and function. **Annual review of**
1173 **entomology**, v. 54, p. 285-302, 2009.

1174

1175 **Insecticide Rresistance Action Committee**. 2018. <https://www.irc-online.org/>.
1176 Acesso em: 17/10/2021.

1177

1178 **Instituto biológico – Agência Paulista de Tecnologia dos Agronegócios**. 2016.
1179 http://www.biologico.sp.gov.br/uploads/docs/dt/bicudo_algodoeiro.pdf. Acesso em:
1180 25/10/2021.

1181

1182 LIAO, M.; XIAO, J.J.; ZHOU, L.J.; YAO, X.; TANG, F.; HUA, R.M.; WU, X.W.; CAO,
1183 H.Q. Chemical composition, insecticidal and biochemical effects of *Melaleuca*
1184 *alternifolia* essential oil on the *Helicoverpa armigera*. **Journal of Applied**
1185 **Entomology**, v. 141, n. 9, p. 721-728, 2017.

1186
1187 **MINISTÉRIO DA AGRICULTURA (MAPA).** Disponível em:
1188 <http://www.agricultura.gov.br/>. Acesso: 01/11/2020.
1189
1190 MIRANDA, J.E.; TRIPODE, B.M.D.; LOPES, G.D.; MAIA, S.B. Toxicidade de
1191 piretróides a população de bicudo-do-algodoeiro de Goiás. **IN: CONGRESSO**
1192 **BRASILEIRO DO ALGODÃO**, 11., 2017, Maceió. Resumos, Inovação e rentabilidade
1193 na cotonicultura: resumos. Brasília, DF: Associação Brasileira dos Produtores de
1194 Algodão - Abrapa, 2017.
1195
1196 MIRANDA, J.E.; RODRIGUES, S.M.M. 2018. **O tamanho do prejuízo do bicudo e a**
1197 **necessidade do monitoramento.** [https://www.embrapa.br/busca-de-noticias/-](https://www.embrapa.br/busca-de-noticias/-/noticia/37767331/artigo---o-tamanh-do-prejuizo-do-bicudo-e-a-necessidade-de-monitoramento)
1198 [/noticia/37767331/artigo---o-tamanh-do-prejuizo-do-bicudo-e-a-necessidade-de-](https://www.embrapa.br/busca-de-noticias/-/noticia/37767331/artigo---o-tamanh-do-prejuizo-do-bicudo-e-a-necessidade-de-monitoramento)
1199 [monitoramento.](https://www.embrapa.br/busca-de-noticias/-/noticia/37767331/artigo---o-tamanh-do-prejuizo-do-bicudo-e-a-necessidade-de-monitoramento) Acesso em: 23/10/2021.
1200
1201 MITIC, Z.S.; JOVANOVIĆ, B.; JOVANOVIĆ, S. Č.; STOJANOVIĆ-RADIĆ, Z.Z.;
1202 MIHAJILOV-KRSTEV, T.; JOVANOVIĆ, N.M.; NIKOLIĆ, B. M.; MARIN, P.D.;
1203 ZLATKOVIĆ, B. K.; STOJANOVIĆ, G.S. 2019. Essential oils of *Pinus halepensis* and
1204 *P. heldreichii*: Chemical composition, antimicrobial and insect larvicidal activity.
1205 **Industrial Crops and Products**, v. 140, p. 111702, 2019.
1206
1207 PREEDY V.R. Essential oil in food preservation, flavour and safety. **London,**
1208 **Academic Press**, p. 862, 2015.
1209
1210 NEGRINI, M.; FIDELIS, E. G.; SCHURT, D. A.; SILVA, F. S.; PEREIRA, R. S.; BIZZO,
1211 H. R. Atividade inseticida de óleos essenciais para o controle da lagarta-do-cartucho
1212 do milho, *Spodoptera frugiperda*. **Arquivos do Instituto Biológico**, v. 86, 2019.
1213
1214 NETTO, J.C.; ROLIM, G.G.; ARRUDA, L.S. Arruda. Mortalidade do bicudo-do-
1215 algodoeiro após contato em resíduo seco de diferentes moléculas inseticidas
1216 utilizadas na cultura do algodoeiro – Safra 2016/2017. **IMAMT. Circular técnica**, p.8,
1217 n.31, 2017.
1218
1219 NEVES, Carolline Navarro. **Atividade de inseticidas sobre o bicudo do algodoeiro,**
1220 ***Anthonomus grandis* Boheman, 1843 (coleoptera: curculionidae).** 2021. Trabalho
1221 de Conclusão de Curso (Graduação em Agronomia) – Universidade Federal de
1222 Uberlândia, Uberlândia, 2021.
1223
1224 OLIVEIRA, Andréa Aparecida Santos. **Dinâmica populacional e distribuição**
1225 **espacial do bicudo-do-algodoeiro, *Anthonomus grandis grandis* Boh**
1226 **(Coleoptera: Curculionidae).** 2021. Dissertação (Mestrado em Agronomia) -
1227 Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária, Universidade de Brasília, Brasília,
1228 2021.

- 1229
1230 PREEDY V.R. Essential oil in food preservation, flavour and safety. **London,**
1231 **Academic Press**, p. 862, 2015.
1232
- 1233 RODRIGUES, J.; DE CARVALHO, D. S.; BARBOSA, J. M.; DE CARVALHO, J. R.;
1234 VIANNA, U. R. A versatilidade no uso de óleos essenciais. **Tópicos especiais em**
1235 **ciência animal VI**, v. 1, p. 97-108, 2017.
1236
- 1237 SANTOS, Andrezo Adenilton. **Interferência de óleos essenciais em parâmetros**
1238 **sensoriais, biológicos e reprodutivos de *Alabama argillacea* (HÜBNER)**
1239 **(Lepidoptera: Erebidae)**. 2019. Dissertação (Doutorado em Entomologia Agrícola) –
1240 Universidade Federal Rural de Pernambuco, Recife, 2019.
1241
- 1242 Santos, M.A.T.; AREAS, M.A.; REYES, F.G.R. Piretróides - uma visão geral.
1243 **Alimentos e Nutrição Araraquara**, v. 18, n. 3, p. 339-349, 2008.
1244
- 1245 SI, L.; CHEN, Y.; HAN, X.; ZHAN, Z.; TIAN, S.; CUI, Q.; WANG, Y. Chemical
1246 composition of essential oils of *Litsea cubeba* harvested from its distribution areas in
1247 China. **Molecules**, v. 17, n. 6, p. 7057-7066, 2012.
1248
- 1249 SILVA, C.T.S., WANDERLEY-TEIXEIRA,V., CUNHA, F.M., OLIVEIRA, J.V., DUTRA,
1250 K.A., NAVARRO, D.M.A.F., TEIXEIRA, A.A.C. Biochemical parameters of *Spodoptera*
1251 *frugiperda* (J. E. Smith) treated with citronella oil (*Cymbopogon winterianus* Jowitt ex
1252 Bor) and its influence on reproduction. **Acta Histochemica**, v. 118, p. 347-352, 2016.
1253
- 1254 SILVA, J. B.; SILVA-TORRES, C. S. A.; MORAES, M. C. B.; TORRES, J. B.;
1255 LAUMANN, R. A.; BORGES, M. Interaction of *Anthonomus grandis* and cotton
1256 genotypes: biological and behavioral responses. **Entomologia Experimentalis et**
1257 **Applicata**, v. 156, n. 3, p. 238-253, 2015.
1258
- 1259 SPIES, A.G.; SPENCE, K.D. 1985. Effect of a sublethal *Bacillus thuringiensis* crystal
1260 endotoxin treatment on the larval midgut of a moth, *Manduca*: SEM study. **Tissue and**
1261 **Cell**, v. 17, p. 379-394, 1985.
1262
- 1263 TAHGHIGHI, A.; MALEKI-RAVASAN, N.; DJADID, N.D.; ALIPOUR, H.;
1264 AHMADVAND, R.; KARIMIAN, F.; YOUSEFINEJAD, S. GC–MS analysis and anti–
1265 mosquito activities of *Juniperus virginiana* essential oil against *Anopheles stephensi*
1266 (Diptera: Culicidae). **Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine**, v. 9, n. 4, p.
1267 168, 2019.
- 1268 TOMÉ, M. P.; GUEDES, V. S.; SOUSA, M. M.; VASCONCELOS, E. D.; FILHO, A. L.
1269 A. G; SILVA, C. A. D. Mortalidade de adultos de bicudo do algodoeiro com inseticidas
1270 botânicos. IN: **11º CONGRESSO BRASILEIRO DO ALGODÃO**. Resumo. Brasília -
1271 DF: Associação Brasileira dos Produtores de Algodão - Abrapa.

- 1272 TORRES, S.M.; CRUZ, N.L.N.D.; ROLIM, V.P.D.M.; CAVALCANTI, M.I.D.A; ALVES,
1273 L.C.; SILVA, V.A.D. Cumulative mortality of *Aedes aegypti* larvae treated with
1274 compounds. **Revista de saúde pública**, v. 48, p. 445-450, 2014.
- 1275 TUMEN, I.; SÜNTAR, I.; ELLER, F.J.; KELES, H.; AKKOL, E.K. Topical Wound-
1276 Healing Effects and phytochemical composition of heartwood essential oils of
1277 *Juniperus virginiana* L., *Juniperus occidentalis* Hook., and *Juniperus ashei* J.
1278 Buchholz. **Journal of Medicinal Food**, v. 16, n. 1, p. 48-55, 2013.
- 1279 VAN TOL, R.W.H.M.; SWARTS, H.J.; LINDEN A.; VISSER, J.H. 2007. Repellence of
1280 the red bud borer *Resseliella oculiperda* from grafted apple trees by impregnation of
1281 rubber budding strips with essential oils. **Pest Management Science: formerly**
1282 **Pesticide Science**, v. 63, n. 5, p. 483-490, 2007.
- 1283 ZHANG, K.; YAO, L. 2018. The anxiolytic effect of *Juniperus virginiana* L. essential oil
1284 and determination of its active constituents. **Physiology & behavior**, v. 189, p. 50-58,
1285 2018.
- 1286