



**MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO
UNIVERSIDADE FEDERAL DE SERGIPE
PRÓ-REITORIA DE PÓS-GRADUAÇÃO E PESQUISA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM AGRICULTURA E BIODIVERSIDADE**

**BIOATIVIDADE DE ÓLEOS ESSENCIAIS DE *Croton
grewioides* E SEUS COMPOSTOS MAJORITÁRIOS:
TOXICIDADE SOBRE *Chrysodeixis includens* E
SELETIVIDADE SOBRE O PREDADOR *Podisus nigrispinus***

NATIELLI CONCEIÇÃO SANTOS

2022



**MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO
UNIVERSIDADE FEDERAL DE SERGIPE
PRÓ-REITORIA DE PÓS-GRADUAÇÃO E PESQUISA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM AGRICULTURA E BIODIVERSIDADE**

NATIELLI CONCEIÇÃO SANTOS

**BIOATIVIDADE DE ÓLEOS ESSENCIAIS DE *CROTON GREWIOIDES* E SEUS
COMPOSTOS MAJORITÁRIOS: TOXICIDADE SOBRE *CHRYSODEIXIS
INCLUDENS* E SELETIVIDADE SOBRE O PREDADOR *PODISUS NIGRISPINUS*.**

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Sergipe, como parte das exigências do Curso de Mestrado em Agricultura e Biodiversidade, área de concentração em Agricultura e Biodiversidade, para obtenção do título de “Mestre em Ciências”.

Orientador
Prof. Dr. Leandro Bacci

SÃO CRISTÓVÃO
SERGIPE – BRASIL
2022

**FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA BIBLIOTECA CENTRAL
UNIVERSIDADE FEDERAL DE SERGIPE**

S237b Santos, Natieli Conceição.
Bioatividade de óleos essenciais de *Croton grewoides* e seus compostos majoritários: toxicidade sobre *Chrysodeixis includens* e seletividade sobre o predador *Podisus nigrispinus* / Natieli Conceição Santos; orientador Leandro Bacci. – São Cristóvão, SE, 2022.
124 f.; il.

Dissertação (mestrado em Agricultura e Biodiversidade) –
Universidade Federal de Sergipe, 2022.

1. Essências e óleos essenciais. 2. Inseticidas. 3. Eugenol. I. Bacci, Leandro, orient. II. Título.

CDU 665.52/.54:632.951

NATIELLI CONCEIÇÃO SANTOS

**BIOATIVIDADE DE ÓLEOS ESSENCIAIS DE *CROTON GREWIOIDES* E SEUS
COMPOSTOS MAJORITÁRIOS: TOXICIDADE SOBRE *CHRYSODEIXIS
INCLUDENS* E SELETIVIDADE SOBRE O PREDADOR *PODISUS NIGRISPINUS*.**

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Sergipe, como parte das exigências do Curso de Mestrado em Agricultura e Biodiversidade, área de concentração em Agricultura e Biodiversidade, para obtenção do título de “Mestre em Ciências”.

APROVADA em 24 de fevereiro de 2022.

Prof. Dr. Vinícius Albano Araújo
UFRJ

Prof. Dr. Jefferson Elias da Silva
UFS

Prof. Dr. Leandro Bacci
UFS
(Orientador)

SÃO CRISTÓVÃO
SERGIPE – BRASIL

A todos que se dedicam à ciência no Brasil
Dedico

AGRADECIMENTOS

A Deus, pelo dom da vida, paz e força nos momentos de adversidade.

À Universidade Federal de Sergipe (UFS) e ao Programa de Pós-Graduação em Agricultura e Biodiversidade (PPGAGRI), pela oportunidade de cursar o mestrado.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), pelos recursos financeiros para a realização deste trabalho.

Ao meu orientador, professor Dr. Leandro Bacci, pelos ensinamentos, dedicação e paciência. À Profa. Dr^a. Ana Paula Albano Araújo, pela colaboração nas correções do artigo científico e pelos conhecimentos transmitidos.

Ao professor Dr. Arie Fitzgerald Blank, do Laboratório de Fitotecnia, pela parceria que tornou possível a realização desta dissertação.

Ao professor Genésio Tâmara Ribeiro, do Laboratório de Entomologia Florestal (LEFLO), pela parceria que tornou possível a realização desta dissertação.

Aos meus pais, pelo carinho, dedicação, apoio e por nunca pouparem esforços para tornar a minha vida melhor.

A todos que fazem parte do laboratório Clínica Fitossanitária, pela amizade e pelo auxílio com a execução dos experimentos. Obrigada Jaciele, Swamy, Ane, Valfran, Aline, Heloísa, Geovania, Vinícius. Agradeço a Jefferson pelas correções na parte escrita e auxílio na execução dos experimentos.

Aos amigos da Pós-Graduação Taíse, Bryanne, Itamara, Sara Dayan, pela atenção carinho, amizade e auxílio durante o período de pandemia e realização deste trabalho.

À banca examinadora, pela disponibilidade e contribuição para esta dissertação.

BIOGRAFIA

NATIELLI CONCEIÇÃO SANTOS, filha de Deraldo Santos e Creuza Conceição Santos, nasceu na cidade de Itabuna, no estado da Bahia, em 25 de fevereiro de 1993.

Em julho de 2019 graduou-se em Engenharia Florestal pela Universidade Federal do Recôncavo da Bahia, em Cruz das Almas, Bahia. Foi bolsista de iniciação científica no laboratório de Entomologia da Embrapa Mandioca e Fruticultura entre os anos 2017 a 2019.

Em 2019 iniciou o mestrado no Programa de Pós-Graduação em Agricultura e Biodiversidade.

SUMÁRIO

	Página
LISTA DE FIGURAS	i
LISTA DE TABELAS.....	ii
RESUMO	iii
ABSTRACT.....	iv
1. INTRODUÇÃO GERAL	1
2. REVISÃO DE LITERATURA.....	3
2.1 Aspectos bioecológicos e comportamentais de <i>Chrysodeixis includens</i>	3
2.2 Inimigos naturais - <i>Podisus nigrispinus</i> (Dallas 1851) (Hemiptera: Pentatomidae)	4
2.3 Seletividade de inseticidas aos inimigos naturais	5
2.4 Óleos essenciais e o gênero <i>Croton</i>	6
3. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	8
4. ARTIGO 1: BIOATIVIDADE DE ÓLEOS ESSENCIAIS DE <i>Croton grewoides</i> E SEUS COMPOSTOS MAJORITÁRIOS: TOXICIDADE A <i>Chrysodeixis</i> <i>includens</i> E SELETIVIDADE AO PREDADOR <i>Podisus nigrispinus</i>	15
Resumo.....	15
Abstract.....	16
4.1. Introdução.....	17
4.2. Material e Métodos	18
4.3. Resultados.....	21
4.4. Discussão	23
4.5. Referências bibliográficas	25
5. ANEXOS.....	29
6. CONSIDERAÇÕES FINAIS	36

LISTA DE FIGURAS

Figura		Página
1	<p>Cromatogramas dos óleos essenciais dos acessos CGR112 (a) e CGR126 (b) de <i>Croton grewioides</i></p>	29
2	<p>Toxicidade e seletividade por aplicação tópica dos óleos essenciais dos acessos CGR112 (a) e CGR126 (b) de <i>Croton grewioides</i> e seus compostos majoritários metil eugenol (c) e eugenol (d) sobre lagartas de 2º instar de <i>Chrysodeixis includens</i> (vermelho) e ninfas de 3º instar de <i>Podisus nigrispinus</i> (azul). As doses letais (escala logarítmica) foram estimadas com base em bioensaios dose-resposta usando análise de probit. As áreas sombreadas representam intervalos de confiança de 95%. Círculos e triângulos indicam as médias das mortalidades observadas nos bioensaios para <i>C. includens</i> e <i>P. nigrispinus</i>, respectivamente. $N=240$ para cada tratamento e espécie</p>	30
3	<p>Curvas de sobrevivência e tempo letal (TL_{50}) de lagartas de 2º instar de <i>Chrysodeixis includens</i> (a, b) e ninfas de 3º instar de <i>Podisus nigrispinus</i> (c, d) expostas às DL_{S90} (ver Fig. 1) dos óleos essenciais dos acessos CGR112 e CGR126 de <i>Croton grewioides</i> e seus compostos majoritários metil eugenol e eugenol. TL_{50} = tempo letal necessário para matar 50% da população. Curvas de sobrevivência seguidas pela mesma letra não diferem significativamente pelo método de Holm-Sidak. As extremidades das caixas representam os percentis 25 e 75% e a linha dentro da caixa a mediana. Os triângulos brancos representam a média e as linhas do erro o intervalo de confiança de 95%</p>	31
4	<p>Duração da fase de ovo; ninfas de 1º, 2º, 3º, 4º e 5º ínstars; total da fase ninfal e longevidade de fêmeas e machos de <i>Podisus nigrispinus</i> após exposição das ninfas de 3º instar às DL_{S30} dos óleos essenciais dos acessos CGR112 e CGR126 de <i>Croton grewioides</i> e seus compostos majoritários metil eugenol e eugenol. As linhas do erro representam os percentis 10 e 90 e as extremidades da caixa os percentis 25 e 75. A linha sólida dentro da caixa representa a mediana e o círculo preto a média. Médias com asterisco diferem do controle pelo método de comparação múltipla não-paramétrico de Dunn's a $P < 0,05$. Ct=controle, 112=acesso CGR112, 126=acesso CGR126, MEg=metil eugenol e Eg=eugenol</p>	32
5	<p>Massa de fêmeas (a) e machos (b) de <i>Podisus nigrispinus</i> após exposição do 3º instar às DL_{S30} dos óleos essenciais dos acessos CGR112 e CGR126 de <i>Croton grewioides</i> e seus compostos majoritários metil eugenol e eugenol. As linhas do erro representam os percentis 10 e 90 e as extremidades da caixa os percentis 25 e 75. A linha sólida dentro da caixa representa a mediana e o círculo preto a média. Médias seguidas por asterisco diferem do controle pelo método de comparação múltipla não-paramétrico de Dunn's $P < 0,05$</p>	33

LISTA DE TABELAS

Tabela		Página
1	Parâmetros reprodutivos de <i>Podisus nigrispinus</i> após exposição de ninfas de 3° instar às DLs ₃₀ dos óleos essenciais dos acessos CGR112 e CGR126 de <i>Croton grewoides</i> e seus compostos majoritários metil eugenol e eugenol	34
2	Parâmetros de tabela de vida de <i>Podisus nigrispinus</i> após exposição de ninfas de 3° instar às DLs ₃₀ dos óleos essenciais dos acessos CGR112 e CGR126 de <i>Croton grewoides</i> e seus compostos majoritários metil eugenol e eugenol	35

RESUMO

SANTOS, Natielli Conceição. **Bioatividade de óleos essenciais de *Croton grewoides* e seus compostos majoritários: toxicidade sobre *Chrysodeixis includens* e seletividade sobre o predador *Podisus nigrispinus***. São Cristóvão: UFS, 2022. 36p. (Dissertação – Mestrado em Agricultura e Biodiversidade).*

Os bioinseticidas obtidos a partir de óleos essenciais de plantas têm se tornado uma alternativa no controle de insetos-praga, uma vez que parecem ser seguros ao meio ambiente quando comparados a inseticidas organossintéticos convencionais. Porém, muitas abordagens sobre esse assunto são realizadas sem levar em consideração os efeitos seletivos destes compostos sobre organismos não-alvo. Assim, o presente estudo teve como objetivo avaliar os efeitos letais e subletais do óleo essencial de *Croton grewoides* (CGR126 e CGR112), e de seus compostos majoritários eugenol e metil eugenol sobre a lagarta falsa-medideira, *Chrysodeixis includens*, e sobre o percevejo predador *Podisus nigrispinus*. Para isso, foram conduzidos experimentos em laboratório para avaliar a suscetibilidade dos organismos por meio de curvas de dose-mortalidade, onde foram utilizados grupos de doze lagartas de segundo instar de *C. includens* e grupos de dez ninfas de terceiro instar de *P. nigrispinus*. As avaliações foram realizadas após 72h da montagem dos experimentos. Para avaliar as curvas de sobrevivência e o tempo letal necessário para matar 50% da população (TL₅₀), lagartas de segundo instar foram submetidas às DL₉₀ dos tratamentos obtidas nos bioensaios. Os dados de mortalidade de *C. includens* e de *P. nigrispinus* foram submetidos à análise de Probit. As análises de sobrevivência foram realizadas usando os estimadores de Kaplan-Meier utilizando o teste de Log-Rank. Os óleos essenciais de *C. grewoides* (CGR126 e CGR112), o metil eugenol e o eugenol foram tóxicos para lagartas de *C. includens* e ninfas de *P. nigrispinus*. As doses necessárias para ocasionar 50% de mortalidade em cada espécie variaram de 4,65 a 8,82 mg/g e 1,22 a 4,45 mg/g, respectivamente. A sobrevivência das lagartas de *C. includens* expostas às DL₉₀ dos tratamentos foi significativamente reduzida ao longo do tempo. O eugenol foi o composto mais tóxico para as lagartas de segundo instar, seguido do óleo essencial CGR126. Os tempos letais estimados para os óleos essenciais ocasionarem mortalidade em 50% da população de *C. includens* foram inferiores a 15 horas. Houve seletividade do óleo essencial CGR126 nas doses letais acima de 90%. Embora os tratamentos tenham mostrado pouco efeito sobre o desenvolvimento de *P. nigrispinus*, a massa corporal e os parâmetros reprodutivos foram negativamente afetados, com exceção do óleo essencial CGR126. O óleo essencial de *C. grewoides* CGR126 pode representar uma fonte promissora para ser utilizada na síntese de novos inseticidas, que apresentem eficiência contra *C. includens* e ao mesmo tempo sejam mais seguros para o inimigo natural *P. nigrispinus*.

Palavras-chave: óleo essencial, eugenol, metil eugenol, inimigo natural, falsa-medideira.

* Comitê Orientador: Leandro Bacci – UFS (Orientador).

ABSTRACT

SANTOS, Natielli Conceição. **Bioactivity of essential oils from *Croton grewoides* and its major compounds: toxicity to *Chrysodeixis includens* and selectivity to the predator *Podisus nigrispinus*.** São Cristóvão: UFS, 2022. 36p. (Thesis – Maters of Science in Agriculture and Biodiversity).*

Bioinsecticides obtained from essential oils of plants have become an alternative in the control of insect pests, since they seem to be safe for the environment when compared to conventional organosynthetic insecticides. However, many approaches on this subject are carried out without taking into account the selective effects of these compounds on non-target organisms. Thus, the present study aimed to evaluate the lethal and sublethal effects of the essential oil of *Croton grewoides* (CGR126 and CGR112), and of its major compounds eugenol and methyl eugenol on the false-medideira caterpillar, *Chrysodeixis includens*, and on the predatory stink bug, *Podisus nigrispinus*. For this, laboratory experiments were conducted to evaluate the susceptibility of organisms through dose-mortality curves, where groups of twelve second-instar caterpillars of *C. includens* and groups of ten third-instar *P. nigrispinus* nymphs were used. The evaluations were performed 72 hours after the experiments were set up. To evaluate the survival curves and the lethal time required to kill 50% of the population (TL50), second instar caterpillars were submitted to the LD90 of the treatments obtained in the bioassays. Mortality data for *C. includens* and *P. nigrispinus* were subjected to Probit analysis. Survival analyzes were performed using Kaplan-Meier estimators using the Log-Rank test. The essential oils of *C. grewoides* (CGR126 and CGR112), methyl eugenol and eugenol were toxic to caterpillars of *C. includens* and nymphs of *P. nigrispinus*. The doses needed to cause 50% mortality in each species ranged from 4.65 to 8.82 mg/g and 1.22 to 4.45 mg/g, respectively. Survival of *C. includens* caterpillars exposed to LD90 of treatments was significantly reduced over time. Eugenol was the most toxic compound for second instar caterpillars, followed by essential oil CGR126. The estimated lethal times for essential oils to cause mortality in 50% of the population of *C. includens* were less than 15 hours. There was selectivity of CGR126 essential oil at lethal doses above 90%. Although treatments showed little effect on *P. nigrispinus* development, body mass and reproductive parameters were negatively affected, with the exception of CGR126 essential oil. The essential oil of *C. grewoides* CGR126 may represent a promising source to be used in the synthesis of new insecticides, which are efficient against *C. includens* and at the same time are safer for the natural enemy *P. nigrispinus*.

Keywords: essential oil, eugenol, methyl eugenol, natural enemy, false-measurement.

* Supervising Committee: Leandro Bacci – UFS (Advisor).

1. INTRODUÇÃO GERAL

O aumento da produção de alimentos tem se intensificado nas últimas décadas para atender às crescentes demandas do mercado. No entanto, tais atividades têm resultado em uma série de problemas fitossanitários para os agricultores, incluindo, principalmente, o ataque de insetos-praga. O avanço dos monocultivos tem criado condições ideais que contribuem para o crescimento das populações de insetos fitófagos, com consequente aumento do uso de inseticidas organossintéticos (LEMAIRE *et al.*, 2014). De acordo com dados da FAO (Organização das Nações Unidas para Alimentação e Agricultura), em torno de 40% da produção agrícola mundial é reduzida devido aos problemas fitossanitários, custando aos países cerca de 70 bilhões de dólares anuais (FAO, 2021).

Em ambientes mantidos sob equilíbrio, além das defesas das plantas hospedeiras, os inimigos naturais (ex. predadores e parasitoides) mantêm as populações de insetos fitófagos abaixo do nível de dano econômico. A atividade dos inimigos naturais evita o reaparecimento de pragas, além de reduzir a possibilidade de que pragas secundárias se tornem pragas-chaves (DEGRANDE *et al.*, 2003). No entanto, as tentativas de controle de insetos-praga com pesticidas organossintéticos muitas vezes tornam-se incompatíveis com o controle biológico natural, uma vez que podem provocar toxicidade aos organismos não-alvo ou benéficos (ex. predadores, parasitoides, polinizadores). Tal ausência de seletividade ocasiona não apenas mortalidade, como também efeitos sub-letais em tais organismos, afetando seus aspectos biológicos, demográficos e/ou comportamentais. Assim, o comprometimento do controle biológico afeta diretamente a densidade populacional e a efetividade no controle de espécies fitófagas (DESNEUX; DECOURTYE; DELPUECH, 2007). Tal problema torna-se cíclico, induzindo a utilização de pesticidas de forma cada vez mais indiscriminada, tanto devido ao aumento da frequência de aplicação como também ao uso de doses que excedem os limites recomendados. Isso, por sua vez, contribui para o surgimento de populações de insetos-praga resistentes a diferentes classes de inseticidas, como já observado para várias espécies (MURARO *et al.*, 2021; HOROWITZ *et al.*, 2020; WU *et al.*, 2018). Além disso, a utilização inadequada de pesticidas pode causar acúmulo de resíduos tóxicos nos alimentos, promover a contaminação do solo, da água, e a intoxicação de produtores rurais (WYCKHUYS *et al.*, 2013; DASSANAYAKE *et al.*, 2021).

Atualmente, o inseto fitófago *Chrysodeixis includens* ou “falsa medideira” tem se tornado uma importante praga devido aos surtos sucessivos e aos grandes danos econômicos que tem provocado nas lavouras (BOTELHO *et al.*, 2019). Esse inseto tem hábito polífago, atacando diferentes plantas de importância agrícola, como: soja, algodão, feijão, tomate, tabaco e batata. *Chrysodeixis includens* foi classificada como uma das principais pragas da soja a partir da safra 2002/2003. O histórico da importância desse inseto fitófago como praga é um exemplo típico que baseia-se justamente na inadvertida utilização de pesticidas sem a observância de suas consequências para o controle biológico. O aumento populacional de *C. includens* parece estar relacionado ao uso recorrente de fungicidas não-seletivos, utilizados para o controle da ferrugem-asiática ocasionada por *Phakopsora pachyrhizi*. Acredita-se que o uso de fungicidas pode ter afetado negativamente a viabilidade do fungo entomopatogênico *Metarhizium rileyi* (Farlow), o qual contribui para o controle biológico natural de lagartas em campo (BOTELHO *et al.*, 2019). Outro fator que tem contribuído para o aumento populacional de *C. includens* consiste no surgimento de populações resistentes a algumas classes de inseticidas organossintéticos utilizados para o seu controle (STACKE *et al.*, 2019).

Assim, táticas de manejo mais eficientes precisam ser empregadas a fim de minimizar tais efeitos negativos ao ambiente e à economia. O Manejo Integrado de Pragas (MIP) consiste em um conjunto de táticas de controle que visam conservar os recursos ecossistêmicos, incluindo o controle biológico (SHIELDS *et al.*, 2019) e a utilização de inseticidas de baixa persistência, rápida degradação e alta seletividade a organismos não-alvo,

por exemplo, os óleos essenciais de plantas (ISMAN; GRIENESEN, 2014; ISMAN, 2016; SANTOS *et al.*, 2018).

Dentre os inimigos naturais, os percevejos pentatomídeos têm se destacado como importantes reguladores do crescimento de pragas agrícolas. Dentre essas, a espécie *Podisus nigrispinus* apresenta potencial para o controle de diversas espécies de pragas de importância econômica, como a traça-do-tomateiro *Tuta absoluta* (Meyrick) (VIVAN *et al.*, 2002), *Diatraea saccharalis* (Fabricius, 1794) (VACARI; OTUKA; BERTOLI, 2007), *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith) (ZANUNCIO *et al.*, 2008) e *Chrysodeixis chalcites* (DE CLERCQ *et al.*, 1998). Assim, diante da importância dos inimigos naturais para os programas de manejo, é importante analisar a seletividade de inseticidas a fim de minimizar os efeitos sobre esses organismos (DA FONSECA *et al.*, 2008). Nessa perspectiva, os óleos essenciais de plantas surgem como boas alternativas para um manejo mais sustentável (ISMAN; GRIENESEN, 2014), uma vez que sua maior volatilidade pode facilitar sua seletividade aos organismos não-alvo quando comparados aos inseticidas sintéticos (ISMAN, 2016; SANTOS *et al.*, 2018). O óleo essencial de *Croton grewoides*, por exemplo, tem mostrado resultados satisfatórios contra *Sitophilus zeamais* (Motschulsky) e *Tribolium castaneum* (Herbst 1797) (HUANG *et al.*, 2002). Os compostos majoritários - eugenol e metil eugenol - desse óleo essencial, além de serem utilizados pela indústria farmacológica e alimentícia, também apresentam grande potencial inseticida (OLIVEIRA *et al.*, 2020).

No presente estudo avaliamos: (i) o potencial inseticida dos óleos essenciais de dois acessos de *C. grewoides* e seus compostos majoritários eugenol e metil eugenol, sobre o inseto-praga *C. includens*; assim como (ii) a seletividade e os efeitos desses compostos nos parâmetros biológicos e demográficos do percevejo predador *P. nigrispinus*.

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1 Aspectos bioecológicos e comportamentais de *Chrysodeixis includens*

Chrysodeixis includens (Walker, 1858) (Lepidoptera: Noctuidae) é uma espécie popularmente conhecida como falsa-medideira, devido a sua forma de deslocamento “medindo palmo”. Esse inseto pode se alimentar de aproximadamente 174 espécies de plantas de 39 famílias diferentes, incluindo espécies de importância econômica como: soja (*Glycine max*), algodão (*Gossypium hirsutum*), feijão (*Phaseolus* spp.), tabaco (*Nicotiana* spp.), girassol (*Helianthus* spp.), tomate (*Solanum lycopersicum*) e batata (*Solanum* spp.) (PEREIRA *et al.*, 2018; SOSA-GÓMEZ *et al.*, 2014; SPECHT *et al.*, 2015). Esse inseto fitófago possui ampla distribuição na América do Norte e do Sul, com maior ocorrência no sudeste dos EUA, principalmente em cultivos de soja onde ocasiona danos expressivos (ALLEN *et al.*, 2021; SHAW *et al.*, 2021). No Brasil, essa praga era considerada secundária por não causar danos significativos, mas a partir da safra 2003/2004, se tornou praga-chave da soja, exigindo métodos de controle em várias épocas do ano, durante todo o ciclo da cultura (BOTELHO *et al.*, 2019).

A preferência alimentar das lagartas nos primeiros ínstares é por folhas mais novas, que possuem menor quantidade de fibras. O consumo dessas folhas causa uma injúria foliar de aspecto rendilhado, já que as lagartas não se alimentam de suas nervuras. À medida que vão se desenvolvendo, as lagartas se alimentam de folhas mais velhas e fibrosas, além de flores e vagens (BALDIN *et al.*, 2014; BUENO *et al.*, 2010). Durante o quarto, quinto e sexto instar, fase em que o consumo foliar é maior, a área foliar consumida pode variar de 64 a 200 cm², reduzindo assim a capacidade fotossintética das plantas (BOTELHO *et al.*, 2019; ANDRADE *et al.*, 2016).

O ciclo de vida desse inseto holometábolo tem duração média de 26,6 dias, sendo que a duração da fase larval, na qual há consumo foliar, se estende entre 15 e 20 dias (em condições de temperatura de $25 \pm 2^\circ\text{C}$; UR: $70 \pm 10\%$; fotofase: 14h). Já a fase adulta, período em que podem se reproduzir, varia entre 12 e 19 dias. As lagartas recém-eclodidas são amareladas, mas à medida que se desenvolvem, tornam-se verde-claras com listras brancas longitudinais e pontuações pretas. Na fase de pré-pupa ocorre uma mudança no comportamento e no sistema hormonal desses organismos, que passam por uma breve parada na alimentação, onde passam a apresentar uma coloração verde-clara uniforme. Posteriormente, ocorre a liberação do último “pellet” fecal de cor amarelo brilhante e a produção de uma teia que envolverá a fase seguinte. Na fase de pupa, os insetos ficam alojados na parte abaxial das folhas das plantas; essa fase dura cerca de 7 a 9 dias (SOSA-GÓMEZ *et al.*, 2014; ANDRADE *et al.*, 2016; BOTELHO *et al.*, 2019). Os adultos apresentam em média 35mm de envergadura, com asas de coloração marrom, com duas manchas prateadas no centro, e pelos na cápsula cefálica. As fêmeas possuem preferência de oviposição na parte inferior das folhas, que oferece proteção contra condições climáticas adversas e menor exposição das larvas recém-emergidas aos inimigos naturais (GALLO *et al.*, 2002; JOST; PITRE, 2002; BOTELHO *et al.*, 2019). O aumento populacional deste fitófago ocorre nos períodos mais quentes e úmidos, aliado à maior disponibilidade de plantas.

O surgimento de populações de *C. includens* resistentes aos inseticidas está relacionado à utilização de produtos acima das doses recomendadas, à alta capacidade migratória e ao cruzamento entre populações desse inseto (GONRING *et al.*, 2003; STACKE *et al.*, 2020; PALMA *et al.*, 2015). Inicialmente, essa resistência foi observada para os piretroides e posteriormente outros inseticidas como acefato e BHC, sendo relatados no estado da Luisiana, Estados Unidos (SOSA-GOMÉZ *et al.*, 2012). No Brasil, existem relatos de falhas de controle da *C. includens* com as classes dos piretroides e baixa suscetibilidade aos reguladores de crescimento como o teflubenzurom e novalurom (STACKE *et al.*, 2019). Já na Argentina, há registro de redução da suscetibilidade dessa praga para cipemetrina e clorpirifós (SOSA-GOMÉZ *et al.*, 2012).

A resistência de insetos a pesticidas pode ocorrer por meio de diferentes mecanismos, incluindo: (i) resistência metabólica por meio de enzimas detoxificativas, (ii) redução da penetração das moléculas no corpo do inseto devido a modificações cuticulares atribuídas à superexpressão de genes ou proteínas (BALABANIDOU *et al.*, 2018) e (iii) insensibilidade no sítio de ação decorrente de mutações (FEYEREISEN *et al.*, 2015). No caso de *C. includens*, já foi verificada resistência metabólica, resultante do aumento na atividade de glutatona-S-transferases, monoxigenases e hidrolases, que pode ter contribuído para a suscetibilidade reduzida verificada em populações de campo (ROSE *et al.*, 1990). Ainda, a resistência ao princípio ativo lambda-cialotrina foi relatada em populações de campo de *C. includens*, sendo verificada herança genética, associada ao custo adaptativo (STACKE *et al.*, 2020).

2.2 Inimigos naturais - *Podisus nigrispinus* (Dallas 1851) (Hemiptera: Pentatomidae)

O controle biológico é um dos pilares do Manejo Integrado de Pragas (MIP) que, aliado a outras medidas de controle, tem a finalidade de reduzir o ataque de insetos-praga, mantendo suas populações em equilíbrio (GALLO *et al.*, 2002). No caso do controle biológico natural, o intuito se restringe à conservação dos inimigos naturais já existentes em uma determinada área (PARRA *et al.*, 2002). Já no controle biológico aplicado, ocorre a inserção de agentes de controle, a partir de criação massal ou coleta em campo, com a finalidade de aumentar o número dos inimigos naturais que já ocorrem naturalmente no agroecossistema. Por sua vez, no controle biológico clássico ocorre a inserção de inimigos naturais exóticos em áreas nas quais não ocorrem naturalmente (PARRA *et al.*, 2002).

Os inimigos naturais desempenham um papel fundamental no controle biológico, contribuindo para regular a dinâmica populacional de artrópodes-praga. Esses organismos incluem entomopatógenos (vírus, fungos e bactérias), parasitoides e predadores (BUENO *et al.*, 2014). Dentre esses, os predadores são considerados a principal linha de defesa contra insetos fitófagos, podendo ter hábito mastigador ou sugador (PARRA *et al.*, 2002). Alguns inimigos naturais são relatados para o controle da *C. includens*, como o baculovírus (FÜHR *et al.*, 2021), *Meteorus gyrator* (Thunberg) (Hymenoptera: Braconidae) (BELL *et al.*, 2000), *Cotesia marginiventris* (Cresson) (Hymenoptera: Braconidae) (MESSELINK, 2002), *Podisus maculiventris* (Say) e *P. nigrispinus* (Dallas) (Heteroptera: Pentatomidae) (CLERCQ *et al.*, 1998).

Podisus nigrispinus ocorre na região Neotropical, desde a Argentina até a Costa Rica. No Brasil, está presente em diversos cultivos agrícolas e florestais, o que demonstra sua amplitude e capacidade de adaptação (BUENO *et al.*, 2014). Esse percevejo é um predador generalista que demonstra eficiência no controle de diversos herbívoros, tais como: *Diatraea saccharalis* (VACARI; OTUKA; DE BORTOLI, 2007), *Tuta absoluta* (VIVIAN *et al.*, 2002), *Spodoptera exigua* (CLERCQ, 2001), *Chrysodeixis chalcites* (CLERCQ *et al.*, 1998) e *Tenebrio molitor* (ZANUNCIO *et al.*, 2001). Além do seu hábito alimentar polífago, que permite o controle de populações de diferentes insetos, *P. nigrispinus* também se alimenta de substratos vegetais; estratégia de sobrevivência utilizada quando a população de presas está escassa ou inadequada (EVANGELISTA *et al.*, 2002).

O potencial reprodutivo, longevidade e velocidade de desenvolvimento de *P. nigrispinus* estão diretamente relacionados à qualidade das presas ingeridas. Embora possa suplementar sua dieta com o material vegetal e sobreviver por longos períodos com presas de baixa qualidade, para manutenção de sua prole, *P. nigrispinus* necessita de uma dieta composta por uma grande quantidade de larvas (LEMOES *et al.*, 2001; VIVAN *et al.*, 2002).

O ciclo de desenvolvimento desse predador inclui a fase de ovo, cinco estágios ninfais e a fase adulta. As ninfas quando eclodem possuem uma coloração marrom-escuro, medem aproximadamente 1,4 mm de comprimento e 1 mm de largura, possuem corpo arredondado. Cada estágio ninfal dura em média três dias e o ciclo de desenvolvimento desde a eclosão das ninfas até a emergência dos adultos dura aproximadamente de 17 a 20 dias (TORRES;

ZANUNCIO; MOURA, 2006). A oviposição é realizada com a deposição de massa de ovos com uma média de 25 a 40 ovos por postura; esses inicialmente apresentam coloração esbranquiçada e em pouco tempo se tornam acinzentadas, próximo à eclosão possuem coloração avermelhada. Durante todo o ciclo de vida, cada fêmea deposita em média, de 81 a 300 ovos (TORRES; ZANUNCIO; MOURA, 2006). As ninfas já saem para forragear após a primeira ecdise (BUENO *et al.*, 2010), contribuindo assim para o controle das lagartas em campo.

Assim, tendo em vista a importância desse inimigo natural para o controle de diversas pragas agrícolas, táticas de manejo devem ser adotadas a fim de minimizar os efeitos letais e subletais sob suas populações.

2.3 Seletividade de inseticidas aos inimigos naturais

A produção crescente de alimentos tem impactado drasticamente a dinâmica dos ecossistemas. Assim, métodos integrados com intuito de restaurar os serviços ecossistêmicos têm se tornado uma tendência para produção agrícola (SHIELDS *et al.*, 2019). O sucesso nos programas de Manejo Integrado de Pragas necessita da associação de diferentes métodos de controle, incluindo a combinação entre inseticidas seletivos e agentes de controle biológico, estudos toxicológicos, de forma geral, voltados para avaliação da sobrevivência e mortalidade de insetos-praga. (BACCI *et al.*, 2009).

A grande parte dos inseticidas comerciais utilizados, apesar de apresentarem eficiência no controle de pragas agrícolas, muitas vezes não são seletivos aos agentes de controle biológico, causando efeitos adversos que alteram, por exemplo, suas taxas de fecundidade (GENTZ; MURDOCH; KING, 2010). Assim, a compreensão dos efeitos subletais em uma população de inimigos naturais implica em avaliar não só a escolha de um inseticida eficiente para controlar o inseto-praga, como também o baixo impacto sob a população do organismo não-alvo (BIONDI *et al.*, 2012; PANIZZI, 2013).

As tabelas de vida e de fertilidade são ferramentas úteis que permitem verificar os efeitos dos pesticidas, em diferentes concentrações, sob os parâmetros biológicos ao longo do ciclo de vida dos indivíduos. Dessa forma, as tabelas de vida permitem analisar a suscetibilidade de uma determinada população (STARK; BANKS, 2003) de inseto-praga ou de inimigo natural. Através desses parâmetros é possível agrupar dados sobre reprodução, mortalidade, sobrevivência e longevidade (MAIA *et al.*, 2000). Estudos de tabelas de vida têm mostrado os efeitos nocivos dos pesticidas sobre o percevejo *P. nigrispinus*. Gontijo *et al.* (2018) mostraram que a longevidade e o tempo médio de vida de fêmeas de *P. nigrispinus* foram reduzidos ao serem expostas ao inseticida tiametoxam, em contrapartida houve aumento no período de pré-oviposição. Os inseticidas diflubenzuron e lufenuron também provocaram alterações na taxa de fecundidade, na viabilidade e no número de ovos depositados por *P. nigrispinus*, como verificado nos trabalhos de Castro *et al.* (2012) e Evangelista *et al.* (2002). Em bioensaios realizados com *P. nigrispinus* tratados com os reguladores de crescimento de insetos - lufenuron e teflubenzuron - houve efeitos nocivos apenas em ninfas, mas não nos indivíduos adultos (STECCA *et al.*, 2017).

Por outro lado, alguns óleos essenciais de plantas já mostraram seletividade para *P. nigrispinus*. Lima *et al.* (2020) mostraram em seus estudos que o óleo essencial de *Lippia sidoides* foi seletivo e não interferiu no ciclo de vida de *P. nigrispinus* quando comparado com o inseticida organossintético deltametrina. Braga *et al.* (2020) mostraram que a alimentação de *P. nigrispinus* com presas tratadas com óleo essencial de *Mentha spicata* L não comprometeram as funções vitais do predador.

Deve-se, no entanto, considerar que a seletividade de um pesticida pode ser não somente fisiológica, como também ecológica. Enquanto a seletividade fisiológica refere-se à baixa toxicidade dos pesticidas aos inimigos naturais, quando comparado às pragas-alvo; a seletividade ecológica refere-se à utilização de técnicas que reduzem a exposição do inimigo natural após a aplicação dos pesticidas (RIPPER *et al.*, 1951).

2.4 Óleos essenciais e o gênero *Croton*

O metabolismo secundário de plantas produz uma série de compostos que podem apresentar bioatividade. As vias metabólicas desses compostos podem ser classificadas em três grupos: terpenos (monoterpenos e sesquiterpenos), compostos fenólicos (fenilpropanoides e flavonoides) e compostos contendo nitrogênio (alcaloides, glicosinatos, glicosídeos cianogênicos) (VERMA; SHUKLA, 2015). No caso dos terpenos, a classificação ocorre de acordo com o tamanho da molécula; podendo ser formados por duas (monoterpenos), três (sesquiterpenos) ou mais unidades de isopreno. Tais compostos são responsáveis por grande parte das atividades biológicas dos óleos essenciais (MORAIS, 2009).

Os óleos essenciais de plantas consistem em misturas complexas de substâncias voláteis, lipofílicas, geralmente odoríferas e de baixo peso molecular, o que lhes confere alta volatilidade. A síntese e o acúmulo dos óleos essenciais estão diretamente relacionados às estruturas secretoras, como dutos de resina, tricomas glandulares. Tais óleos são encontrados em diferentes partes da planta, como caule, folhas, flores, frutos, dentre outras (PAVELA; BENELLI, 2016)

A composição química dos óleos essenciais pode ser alterada devido a mudanças nos seus componentes ou em suas concentrações, apresentando amplas variações dentro e entre as espécies de plantas. Geralmente a composição dos óleos essenciais é formada por um composto majoritário e outros compostos em menores quantidades. Alguns compostos são frequentes nos óleos essenciais, tais como: metil eugenol, linalol, eugenol, cânfora, germacreno D, α -felandreno, α -pineno, mirceno, α -humuleno, anetol, espatulenol, óxido de cariofileno e metil farnesoato (BLANK *et al.*, 2019). Os constituintes dos óleos essenciais atuam na defesa direta e indireta das plantas, contra herbívoros e patógenos, podendo causar toxicidade, efeito atraente ou repelente, restringir a alimentação ou inibir o crescimento de insetos (HUANG *et al.*, 2002). Esses efeitos fisiológicos nos insetos podem ser resultantes da neurotoxicidade dos óleos essenciais que atuam nos receptores do GABA, que inibem a ação da enzima acetilcolinesterase e bloqueiam os pontos de ligação dos receptores de octopamina (PAVELA; BENELLI, 2016).

A família Euphorbiaceae se destaca por sua importância econômica, principalmente no setor industrial, madeireiro e farmacológico-medicinal. Espécies dessa família são encontradas nos continentes africano, asiático e americano, em regiões tropicais e subtropicais (OLIVEIRA, 2013). *Croton* é o segundo maior gênero da família Euphorbiaceae com aproximadamente 1250 espécies. O Brasil apresenta a maior diversidade de espécies desse gênero (350 spp.) (CARUZO *et al.*, 2008), distribuídas em diferentes ambientes, destacando-se o Cerrado, Caatinga e regiões de campos rupestres (SILVA *et al.*, 2010).

As espécies desse gênero apresentam tricomas estrelados, inflorescências estreitas ou condensadas, flores unissexuais, folhas senescentes com coloração alaranjada e nectários extraflorais. Algumas espécies podem conter látex de coloração vermelha, indicando propriedades medicinais (BERRY *et al.*, 2005). Diferentes classes químicas foram identificadas em espécies de *Croton*, incluindo alcaloides, diterpenoides, substâncias fenólicas com predominância de flavonoides, lignoides e proantocinidinas, além de mono e sesquiterpenos presentes nos óleos essenciais (SALATINO *et al.*, 2007). As variações químicas encontradas em espécies do gênero *Croton* estão relacionadas aos fatores ontogenéticos, ambientais, bióticos (vírus, fungos, insetos), abióticos (luz, temperatura, disponibilidade de água, composição do solo) e à localização ou região de ocorrência das plantas (altitude e condições climáticas) (VERMA; SHUKLA, 2015).

A diversidade de compostos observada nessas plantas tem apresentado efeitos citotóxicos, atividade inseticida, antimicrobiana, antioxidante e anti-inflamatória (QUEIROZ *et al.*, 2014; RIBEIRO *et al.*, 2020; SUN *et al.*, 2015). De fato, várias espécies de *Croton* são utilizadas por seus efeitos medicinais analgésicos e como medicamentos para distúrbios

nervosos e gastrointestinais (SALATINO *et al.*, 2007). Na indústria farmacêutica, o óleo essencial e os extratos vegetais são utilizados por sua atividade antimicrobiana e antioxidante; já na indústria alimentícia, evitam a deterioração e complementam o valor nutricional dos alimentos (SUN *et al.*, 2015). Algumas espécies de *Croton* também têm demonstrado propriedades inseticidas que podem causar mortalidade ou afetar o comportamento dos insetos, causando toxicidade a pragas de grãos armazenados, moscas das frutas, formigas e larvas de mosquitos (BRITO *et al.*, 2020; FIGUEIREDO *et al.*, 2010; RIBEIRO *et al.*, 2020; SANTOS *et al.*, 2014; SILVA *et al.*, 2019).

Croton grewoides, conhecido popularmente como “canelinha-de-cheiro” ou “canelinha”, é uma planta arbustiva (0,7-2m), encontrada principalmente na região semiárida, nos estados da Bahia, Alagoas, Sergipe, Pernambuco, Paraíba, Piauí, Rio Grande do Norte, Ceará e Minas Gerais. Essa espécie ocorre frequentemente entre rochas e solos arenosos. O período de floração ocorre entre fevereiro e março e de frutificação em abril e maio (CARNEIRO-TORRES *et al.*, 2011; SILVA *et al.*, 2010).

Os acessos dos óleos essenciais de *C. grewoides* comumente apresentam, dentre os seus constituintes, as substâncias eugenol e metil eugenol. Em bioensaios realizados com adultos de *Sitophilus zeamais* (Motschulsky), o eugenol apresentou toxicidade e redução no consumo alimentar; já em larvas e adultos de *Tribolium castaneum* (Herbst 1797) houve apenas redução na taxa de crescimento e no consumo alimentar. O composto metil eugenol apresentou toxicidade por contato para ambas as espécies (HUANG *et al.*, 2002). Em pragas do arroz, os bioensaios realizados com metil eugenol mostraram efeitos inseticidas, sistêmicos e repelentes para *Nilaparvata lugens*, e toxicidade por contato para *Cnaphalocrocis medinalis* (Guenée) (XU *et al.*, 2015).

Assim, tendo em vista a bioatividade e seletividade dos óleos essenciais, nesse estudo avaliamos o potencial do óleo essencial de *C. grewoides* e seus compostos majoritários contra o inseto-praga *C. includens* e sua seletividade ao inimigo natural *P. nigrispinus*.

3. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALLEN, K.C.; LITTLE, N.S.; PERERA, O.P. Temporal Occurrence of Plusiinae on Soybean in the Mississippi River Delta. **Journal of economic entomology**, v. 114, n. 2, p. 723–727, 13 abr. 2021.

ANDRADE, K.; BUENO, A. D. F.; DA SILVA, D. M.; STECCA, C. D. S.; PASINI, A.; DE OLIVEIRA, M. C. N. Bioecological characteristics of *Chrysodeixis includens* (Lepidoptera: Noctuidae) fed on different hosts. **Austral Entomology**, v. 55, n. 4, p. 449-454, 2016.

BACCI, L.; PICANÇO, M.C.; SILVA, E.M.; MARTINS, J.C.; CHEDIK, M.; SENA, M.E. Seletividade fisiológica de inseticidas aos inimigos naturais de *Plutella xylostella* (L.) (Lepidoptera: Plutellidae) em brássicas. **Ciência e Agrotecnologia**, v. 33, p. 2045-2051, 2009.

BALABANIDOU, V.; GRIGORAKI, L.; VONTAS, J. Insect cuticle: a critical determinant of insecticide resistance. **Current opinion in insect science**, v. 27, p. 68-74, 2018.

BALDIN, E. L. L.; LUIZ LOURENÇÃO, A.; SCHLICK-SOUZA, E. C. Surtos populacionais de *Chrysodeixis includens* (Walker) (Lepidoptera: Noctuidae) em feijoeiro e mamoneira no Estado de São Paulo, Brasil. **Bragantia**, v. 73, n. 4, p. 458–461, 2014.

BELL, H. A.; SMETHURST, F.; MARRIS, G. C.; EDWARDS, J. P. In: The BCPC Conference: Pests and diseases, Volume 1. Proceedings of an international conference held at the Brighton Hilton Metropole Hotel, Brighton, UK, 13-16 November 2000. British. **Crop Protection Council**, 2000. p. 291-296.

BERRY, P. E.; HIPPEL, A. L.; WURDACK, K. J.; VAN EEN, B.; RIINA, R. Molecular phylogenetics of the giant genus *Croton* and tribe Crotonaeae (Euphorbiaceae sensu stricto) using ITS and trnL-trnF DNA sequence data. **American Journal of Botany**, v. 92, n. 9, p. 1520-1534, 2005.

BIONDI, A.; DESNEUX, N.; SISCARO, G.; ZAPPALÀ, L. Using organic-certified rather than synthetic pesticides may not be safer for biological control agents: Selectivity and side effects of 14 pesticides on the predator *Orius laevigatus*. **Chemosphere**, v. 87, n. 7, p. 803-812, 2012.

BLANK, A. F.; ARRIGONI-BLANK, M.F.; BACCI, L.; JUNIOR, L.M.C.; NIZIO, D.A.C. Chemical Diversity and Insecticidal and Anti-tick Properties of Essential Oils of Plants from Northeast Brazil. In: **Essential Oil Research**. Springer, Cham, 2019. p. 235-258.

BOTELHO, Z. R. A. B.; FERNANDES, I.; ÁVILA, C. S. J. Aspectos biológicos da lagarta-falsa-medideira e sua criação em laboratório com dieta artificial. **Embrapa Agropecuária Oeste-Circular Técnica (INFOTECA-E)**, 2019.

BRAGA, V. A. Á.; DOS SANTOS CRUZ, G.; GUEDES, C. A.; DOS SANTOS SILVA, C. T.; SANTOS, A. A.; DA COSTA, H. N.; TEIXEIRA, V. W. Effect of essential oils of *Mentha spicata* L. and *Melaleuca alternifolia* Cheel on the midgut of *Podisus nigrispinus* (Dallas) (Hemiptera: Pentatomidae). **Acta Histochemica**, v. 122, n. 3, p. 151529, 2020.

BRITO, F.D.E.A.; BACCI, L.; SANTANA, A.S.; SILVA, J.E.; NIZIO, D.A.C.; NOGUEIRA, P.C.L.; ARRIGONI-BLANK, M.F.; MELO, C.R.; MELO, J.O.; BLANK, A. F. Toxicity and

behavioral alterations caused by essential oils of *Croton tetradenius* and their major compounds on *Acromyrmex balzani*. **Crop Protection**, v. 137, p. 105259, 2020.

BUENO, A. F.; SOSA-GÓMEZ, D. R.; CORRÊA-FERREIRA, B. S.; MOSCARDI, F.; BUENO, R. C. O. F. Inimigos naturais das pragas da soja. In: HOFFMANN-CAMPO C. B.; CORRÊA-FERREIRA, B. S.; MOSCARDI, F. (EMBRAPA). **Soja: manejo integrado de insetos e outros artrópodes-praga**. 2014. p. 495-508.

BUENO, R.C.O.S.; BUENO, A.F.; MOSCARDI, F.; PARRA, J.R.P.; HOFFMAN-CAMPO, C.B. Lepidopteran larva consumption of soybean foliage: basis for developing multiple-species economic thresholds for pest management decisions. **Pest Management Science**, v. 67, n. 2, p. 170-174, 2010.

CARUZO, M. B. R.; RIINA, R.; CORDEIRO, I.; BERRY, P. E. *Croton campanulatus* (Euphorbiaceae ss), a new species from the Brazilian Atlantic rain forest. **Brittonia**, v. 60, n. 3, p. 261-264, 2008.

CARNEIRO-TORRES, D. S.; CORDEIRO, I.; GIULIETTI, A. M.; BERRY, P. E.; RIINA, R. Three new species of *Croton* (Euphorbiaceae ss) from the Brazilian Caatinga. **Brittonia**, v. 63, n. 1, p. 122-132, 2011.

CASTRO, A. A.; LACERDA, M.C.; ZANUNCIO, T.V.; RAMALHO, F.S.; POLANCZYK, R.A.; SERRÃO, J.E.; ZANUNCIO, J.C. Effect of the insect growth regulator diflubenzuron on the predator *Podisus nigrispinus* (Heteroptera: Pentatomidae). **Ecotoxicology**, v. 21, n. 1, p. 96-103, 2012.

CLERCQ, D. Functional response of the predators *Podisus maculiventris* (Say) and *Podisus nigrispinus* (Dallas)(Het., Pentatomidae) to the beet armyworm, *Spodoptera exigua* (Hübner)(Lep., Noctuidae): effect of temperature. **Journal of Applied Entomology**, v. 125, n. 3, p. 131-134, 2001.

DA FONSECA, P. R. B.; BERTONCELLO, T. F.; RIBEIRO, J. F.; FERNANDES, M. G.; DEGRANDE, P. E. Selectivity of insecticides to natural enemies on soil cultivated with cotton. **Pesquisa Agropecuária Tropical**, v. 38, n. 4, p. 304, 2008.

DASSANAYAKE, M. K.; CHONG, C. H.; KHOO, T. J.; FIGIEL, A.; SZUMNY, A.; CHOO, C. M. Synergistic Field Crop Pest Management Properties of Plant-Derived Essential Oils in Combination with Synthetic Pesticides and Bioactive Molecules: A Review. **Foods**, v. 10, n. 9, p. 2016, 2021.

DE CLERCQ, P.; MERLEVEDE, F.; MESTDAGH, I.; VANDENDURPEL, K.; MOHAGHEGH, J.; DEGHEELE, D. Predation on the tomato looper *Chrysodeixis chalcites* (Esper)(Lep., Noctuidae) by *Podisus maculiventris* (Say) and *Podisus nigrispinus* (Dallas)(Het., Pentatomidae). **Journal of Applied Entomology**, v. 122, n. 1-5, p. 93-98, 1998.

DEGRANDE, P. E.; OLIVEIRA, M. D.; RIBEIRO, J. F.; BARROS, R.; NOGUEIRA, R. F.; RODRIGUES, A. L. L.; FERNANDES, M. G. Avaliação de métodos para quantificar predadores de pragas do algodoeiro. **Arquivos do Instituto Biológico**, v. 70, n. 3, p. 291-294, 2003.

DESNEUX, N.; DECOURTYE, A.; DELPUECH, J. M. The sublethal effects of pesticides on beneficial arthropods. **Annu. Rev. Entomol.**, v. 52, p. 81-106, 2007.

EVANGELISTA, W. S.; SILVA-TORRES, C. S. A.; TORRES, J. B. Toxicidade de lufenurom para *Podisus nigrispinus* (Dallas)(Heteroptera: Pentatomidae). **Neotropical Entomology**, v. 31, p. 319-325, 2002.

FAO. Food and agriculture organization of the United Nations (FAO). Mudança climática influencia na perda da produção agrícola para pragas. Organização das Nações Unidas para Alimentação e Agricultura. Disponível em: <https://www.fao.org/brasil/noticias/detail-events/pt/c/1411810/>. Acesso em: 09 jan. 2022.

FEYEREISEN, R., DERMAUW, W., VAN LEEUWEN, T. Genotype to phenotype, the molecular and physiological dimensions of resistance in arthropods. **Pesticide Biochemistry and Physiology**, v. 121, p. 61-77, 2015.

FIGUEIREDO, W. R. S.; OLIVEIRA, F.Q.; OLIVEIRA, R.; BATISTA, J. L.; BRITO, C.H. Bioactivity of oil from *Croton grewioides* on the control of mediterranean fruit fly. **Engenharia Ambiental: Pesquisa e Tecnologia**, v. 7, n. 4, 2010.

FÜHR, F.M.; PRETTO, V. E.; GODOY, D. N.; GARLET, C. G.; HETTWER, B. L.; MARÇON, P.; BERNARDI, O. Lethal and sublethal effects of *Chrysodeixis includens* nucleopolyhedrovirus (ChinNPV)-based biopesticide infecting different larval ages of soybean looper. **Biocontrol Science and Technology**, v. 31, n. 6, p. 619-631, 2021.

GALLO, D. et al. Entomologia Agrícola. São Paulo. **Ceres**, 2002.

GENTZ, M. C.; MURDOCH, G; KING, G. F. Tandem use of selective insecticides and natural enemies for effective, reduced-risk pest management. **Biological Control**, v. 52, n. 3, p. 208-215, 2010.

GONRING, A. H. R.; PICANÇO, M.C.; LEITE, G.L.D.; SUINAGA, F.A.; ZANUNCIO, J.C. Seletividade de inseticidas a *Podisus rostralis* (Stal)(Heteroptera: Pentatomidae) predador de lagartas desfolhadoras de eucalipto. **Revista Árvore**, v. 27, n. 2, p. 263-268, 2003.

GONTIJO, P. C.; NETO, D.O.A; OLIVEIRA, R.L.; MICHAUD, J.P.; CARVALHO, G.A. Non-target impacts of soybean insecticidal seed treatments on the life history and behavior of *Podisus nigrispinus*, a predator of fall armyworm. **Chemosphere**, v. 191, p. 342-349, 2018.

HOROWITZ, A. R.; GHANIM, M.; RODITAKIS, E.; NAUEN, R.; ISHAAYA, I. Insecticide resistance and its management in Bemisia tabaci species. **Journal of Pest Science**, v. 93, n. 3, p. 893-910, 2020.

HUANG, Y.; HO, S.H.; LEE, H.C.; YAP, Y.L. Insecticidal properties of eugenol, isoeugenol and methyleugenol and their effects on nutrition of *Sitophilus zeamais* Motsch.(Coleoptera: Curculionidae) and *Tribolium castaneum* (Herbst)(Coleoptera: Tenebrionidae). **Journal of Stored Products Research**, v. 38, n. 5, p. 403-412, 2002.

ISMAN, M. B.; GRIENEISEN, M. L. Botanical insecticide research: many publications, limited useful data. **Trends in Plant Science**, v. 19, n. 3, p. 140-145, 2014.

JOST, D. J. PITRE, H. N. Soybean looper (Lepidoptera: Noctuidae) oviposition on cotton and soybean of different growth stages: influence of olfactory stimuli. **Journal of economic entomology**, v. 95, n. 2, p. 286-293, 2002.

LEMAIRE, G.; FRANZLUEBBERS, A.; DE FACCIO CARVALHO, P. C.; DEDIEU, B. Integrated crop–livestock systems: Strategies to achieve synergy between agricultural production and environmental quality. **Agriculture, Ecosystems & Environment**, v. 190, p. 4-8, 2014.

LEMOS, W. P.; MEDEIROS, R. S.; RAMALHO, F. S.; ZANUNCIO, J. C. Effects of plant feeding on the development, survival and reproduction of *Podisus nigrispinus* (Dallas)(Heteroptera: Pentatomidae). **International Journal of Pest Management**, v. 47, n. 2, p. 89-93, 2001.

LIMA, A. P.; SANTANA, E. D.; SANTOS, A. C.; SILVA, J. E.; RIBEIRO, G. T.; PINHEIRO, A. M.; BACCI, L. Insecticide activity of botanical compounds against *Spodoptera frugiperda* and selectivity to the predatory bug *Podisus nigrispinus*. **Crop Protection**, v. 136, p. 105230, 2020.

MAIA, A. D. H.; LUIZ, A. J.; CAMPANHOLA, C. Statistical inference on associated fertility life table parameters using jackknife technique: computational aspects. **Journal of Economic Entomology**, v. 93, n. 2, p. 511-518, 2000.

MESSELINK, G. Biological control of caterpillars with *Cotesia marginiventris* (Hymenoptera: Braconidae) in sweet pepper and tomato. **IOBC WPRS Bulletin**, v. 25, n. 1, p. 181-184, 2002.

MORAIS, L. A.S. Óleos essenciais no controle fitossanitário. **Embrapa Meio Ambiente-Capítulo em livro científico (ALICE)**, 2009.

MURARO, D. S.; DE OLIVEIRA ABBADE NETO, D.; KANNO, R. H.; KAISER, I. S.; BERNARDI, O.; OMOTO, C. Inheritance patterns, cross-resistance and synergism in *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae) resistant to emamectin benzoate. **Pest Management Science**, v. 77, n. 11, p. 5049-5057, 2021.

OLIVEIRA, D. G. A família Euphorbiaceae Juss. em um fragmento de Caatinga em Sergipe The family Euphorbiaceae Juss. in a fragment of Caatinga in Sergipe **Scientia Plena**, v. 9, n. 4, 2013.

OLIVEIRA, S. D. D. S.; SILVA, A.M.O.; BLANK, A.F.; NOGUEIRA, P.C.L.; NIZIO, D.A.C.; PEREIRA, C.S.A. Radical scavenging activity of the essential oils from *Croton grewoides* Baill accessions and the major compounds eugenol, methyl eugenol and methyl chavicol. **Journal of Essential Oil Research**, v. 33, n. 1, p. 94-103, 2020.

PALMA, J.; MAEBE, K.; GUEDES, J.V.C.; SMAGGHE, GUY. Molecular variability and genetic structure of *Chrysodeixis includens* (Lepidoptera: Noctuidae), an important soybean defoliator in Brazil. **PLoS One**, v. 10, n. 3, p. e0121260, 2015.

PANIZZI, A. R. History and contemporary perspectives of the integrated pest management of soybean in Brazil. **Neotropical Entomology**, v. 42, n. 2, p. 119-127, 2013.

PARRA, J. R. P.; BOTELHO, P. S. M.; CORRÊA-FERREIRA, B. S.; BENTO, J. M. S. Controle Biológico: Terminologia. In: PARRA, J. R. P. et al. (Eds.). **Controle Biológico no Brasil, Parasitóides e Predadores**. 1. ed. São Paulo: Editora Manole, 2002. p. 635.

PAVELA, R.; BENELLI, G. Essential oils as ecofriendly biopesticides? Challenges and constraints. **Trends in Plant Science**, v. 21, n. 12, p. 1000-1007, 2016.

PEREIRA, R. R.; PEREIRA, R. R.; NEVES, D. V. C.; CAMPOS, J. N.; JÚNIOR, P. S.; HUNT, T. E.; PICANÇO, M. C. Natural biological control of *Chrysodeixis includens*. **Bulletin of Entomological Research**, v. 108, n. 6, p. 831-842, 2018.

QUEIROZ, M. M. F.; QUEIROZ, E. F. D.; ZERAIK, M. L.; MARTI, G.; FAVRE-GODAL, Q.; SIMÕES-PIRES, C.; WOLFENDER, J. L. Antifungals and acetylcholinesterase inhibitors from the stem bark of *Croton heliotropifolius*. **Phytochemistry Letters**, v. 10, p. lxxxviii-xciii, 2014.

RIBEIRO, DE A. I. A. T.; DA SILVA, R.; DA SILVA, A. G.; MILET-PINHEIRO, P.; PAIVA, P. M. G.; NAVARRO, D. M. D. A. F.; DOS SANTOS CORREIA, M. T. Chemical characterization and insecticidal effect against *Sitophilus zeamais* (maize weevil) of essential oil from *Croton rudolphianus* leaves. **Crop Protection**, v. 129, p. 105043, 2020.

RIPPER, W.E.; GREENSLADE, R.M.; HARTLEY, G.S. Selective insecticides and biological control. **Journal of Economic Entomology**, v. 44, n. 4, p. 448-449, 1951.

ROSE, R.L.; ROGER LEONARD, B.; SPARKS, T.C.; GRAVES, J.B. Enhanced metabolism and knockdown resistance in a field versus a laboratory strain of the soybean looper (Lepidoptera: Noctuidae). **Journal of Economic Entomology**, v. 83, n. 3, p. 672-677, 1990.

SALATINO, A.; FARIA S, M. L.; NEGRI, G. Traditional uses, chemistry and pharmacology of *Croton* species (Euphorbiaceae). **Journal of the Brazilian Chemical Society**, v. 18, p. 11-33, 2007.

SANTOS, G. K. N.; DUTRA, K. A.; LIRA, C. S.; LIMA, B. N.; NAPOLEÃO, T. H.; PAIVA, P.M.; NAVARRO, D.M. Effects of *Croton rhamnifolioides* essential oil on *Aedes aegypti* oviposition, larval toxicity and trypsin activity. **Molecules**, v. 19, n. 10, p. 16573–16587, 1 out. 2014.

SANTOS, S. R. D.; SPECHT, A.; CARNEIRO, E.; PAULA-MORAES, S. V. D.; CASAGRANDE, M. M. Interseasonal variation of *Chrysodeixis includens* (Walker, [1858]) (Lepidoptera: Noctuidae) populations in the Brazilian Savanna. **Revista Brasileira de Entomologia**, v. 61, n. 4, p. 294–299, 1 out. 2018.

SHAW, T.J.; PAULA-MORAES, S.V.; HAHN, P.G.; SPECHT, A. Seasonal Flight Patterns of *Chrysodeixis includens* (Lepidoptera: Noctuidae) in the Florida Panhandle and Inventory of Plusiine Species Cross-Attracted to Synthetic Pheromone. **Journal of Economic Entomology**, v. 114, n. 6, p. 2315-2325, 2021.

SHIELDS, M. W.; JOHNSON, A. C.; PANDEY, S.; CULLEN, R.; GONZÁLEZ-CHANG, M.; WRATTEN, S. D.; GURR, G. M. History, current situation and challenges for conservation biological control. **Biological Control**, v. 131, p. 25-35, 2019.

SILVA, J. S.; SALES, M.F.; GOMES, A.P.S.; CARNEIRO-TORRES, D.S. Sinopse das espécies de *Croton* L. (Euphorbiaceae) no estado de Pernambuco, Brasil. **Acta Botanica Brasilica**, v. 24, p. 441–453, 2010.

SILVA, T.L.D.; OLIVEIRA, C. R. F. D.; MATOS, C. H. C.; BADJI, C. A.; MORATO, R.P. Leaf essential oil from *Croton pulegioidorus* Baill shows insecticidal activity against *Sitophilus zeamais* motschulsky. **Revista Caatinga**, v. 32, n. 2, p. 354–363, 22 maio 2019.

SOSA-GÓMEZ, D. R.; CORRÊA-FERREIRA, B. S.; HOFFMANN-CAMPO, C. B.; CORSO, I. C.; OLIVEIRA, L. J.; MOSCARDI, F.; ROGGIA, S. Manual de identificação de insetos e outros invertebrados da cultura da soja. **Embrapa Soja-Documentos (INFOTECA-E)**, 2014.

SOSA-GÓMEZ, D. R.; OMOTO, C.; HOFFMANN-CAMPO, C. B. Resistência a inseticidas e outros agentes de controle em artrópodes associados à cultura da soja. Hoffmann-Campo, C.B. et al. **Soja–Manejo Integrado de Insetos e outros Artrópodes-Praga**. Brasília: Embrapa, p. 673-723, 2012.

SPECHT, A.; DE PAULA-MORAES, S. V.; SOSA-GÓMEZ, D. R. Host plants of *Chrysodeixis includens* (Walker) (Lepidoptera, Noctuidae, Plusiinae). **Revista Brasileira de Entomologia**, v. 59, n. 4, p. 343–345, 1 out. 2015.

STACKE, R. F.; GODOY, D. N.; HALBERSTADT, S. A.; BRONZATTO, E. S.; GIACOMELLI, T.; HETTWER, B. L.; BERNARDI, O. Inheritance of lambda-cyhalothrin resistance, fitness costs and cross-resistance to other pyrethroids in soybean looper, *Chrysodeixis includens* (Lepidoptera: Noctuidae). **Crop Protection**, v. 131, p. 105096, 2020.

STACKE, R. F.; GIACOMELLI, T.; BRONZATTO, E. S.; HALBERSTADT, S. A.; GARLET, C. G.; MURARO, D. S.; BERNARDI, O. Susceptibility of Brazilian populations of *Chrysodeixis includens* (Lepidoptera: Noctuidae) to selected insecticides. **Journal of Economic Entomology**, v. 112, n. 3, p. 1378-1387, 2019.

STARK, J. D.; BANKS, J. E. Population-level effects of pesticides and other toxicants on arthropods. **Annual Review of Entomology**, v. 48, n. 1, p. 505-519, 2003.

STECCA, C. D. S.; DA SILVA, D. M.; BUENO, A. D. F.; PASINI, A.; DENEZ, M. D.; ANDRADE, K. Selectivity of insecticides used in soybean crop to the predator *Podisus nigrispinus* (Hemiptera: Pentatomidae). **Embrapa Soja-Artigo em periódico indexado (ALICE)**, 2017.

SUN, J.; WANG, X.; WANG, P.; LI, L.; QU, W.; LIANG, J. Antimicrobial, antioxidant and cytotoxic properties of essential oil from *Dictamnus angustifolius*. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 159, p. 296–300, 3 fev. 2015.

TORRES, J. B.; ZANUNCIO, J. C.; MOURA, M. A. The predatory stinkbug *Podisus nigrispinus*: biology, ecology and augmentative releases for lepidoperan larval control in *Eucalyptus* in Brazil. **Biocontrol News and Information**, v. 27, n. 15, p. 1-18, 2006.

VACARI, A. M.; OTUKA, A. K.; DE BORTOLI, S. A. Desenvolvimento de *Podisus nigrispinus* (Dallas, 1851)(Hemiptera: Pentatomidae) alimentado com lagartas de *Diatraea saccharalis* (Fabricius, 1794)(Lepidoptera: Crambidae). **Arquivos do Instituto Biológico**, v. 74, n. 3, p. 259-265, 2007.

VERMA, N.; SHUKLA, S. Impact of various factors responsible for fluctuation in plant secondary metabolites. **Journal of Applied Research on Medicinal and Aromatic Plants**, v. 2, n. 4, p. 105-113, 2015.

VIVAN, L. M.; TORRES, J. B.; VEIGA, A. F. D. S. L.; ZANUNCIO, J. C. Comportamento de predação e conversão alimentar de *Podisus nigrispinus* sobre a traça-do-tomateiro. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 37, p. 581-587, 2002.

WU, S. F.; ZENG, B.; ZHENG, C.; MU, X. C.; ZHANG, Y.; HU, J.; SHEN, J. L. The evolution of insecticide resistance in the brown planthopper (*Nilaparvata lugens* Stål) of China in the period 2012–2016. **Scientific Reports**, v. 8, n. 1, p. 1-11, 2018.

WYCKHUYS, K. A.; LU, Y.; MORALES, H.; VAZQUEZ, L.L.; LEGASPI, J.C.; ELIOPOULOS, P. A.; HERNANDEZ, L.M. Current status and potential of conservation biological control for agriculture in the developing world. **Biological Control**, v. 65, n. 1, p. 152-167, 2013.

XU, H.-X.; ZHENG, X. S.; YANG, Y. J.; TIAN, J. C.; LU, Y. H.; TAN, K. H.; LU, Z. X. Methyl eugenol bioactivities as a new potential botanical insecticide against major insect pests and their natural enemies on rice (*Oriza sativa*). **Crop Protection**, v. 72, p. 144-149, 2015.

ZANUNCIO, J. C.; MOLINA-RUGAMA, A. J.; SERRAO, J.; PRATISSOLI, D. Nymphal development and reproduction of *Podisus nigrispinus* (Heteroptera: Pentatomidae) fed with combinations of *Tenebrio molitor* (Coleoptera: Tenebrionidae) pupae and *Musca domestica* (Diptera: Muscidae) larvae. **Biocontrol Science and Technology**, v. 11, n. 3, p. 331-337, 2001.

ZANUNCIO, J. C.; SILVA, C. A. D. D.; LIMA, E. R. D.; PEREIRA, F. F.; RAMALHO, F. D. S.; SERRÃO, J. E. Predation rate of *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae) larvae with and without defense by *Podisus nigrispinus* (Heteroptera: Pentatomidae). **Brazilian Archives of Biology and Technology**, v. 51, p. 121-125, 2008.

4. ARTIGO 1

ÓLEOS ESSENCIAIS DE *CROTON GREWIOIDES* E SEUS COMPOSTOS MAJORITÁRIOS: TOXICIDADE A *CHRYSODEIXIS INCLUDENS* E SELETIVIDADE AO PREDADOR *PODISUS NIGRISPINUS*

Periódico a ser submetido: Crop Protection

RESUMO

O controle biológico natural é um fator primordial que garante a regulação de populações de insetos-praga nos agroecossistemas. No entanto, o uso indiscriminado de pesticidas tem comprometido esse serviço ambiental. Assim, a busca por pesticidas ambientalmente seguros é um requisito crescente para a produção sustentável de alimentos. Nesse estudo, analisamos a toxicidade dos óleos essenciais de dois acessos (CGR112 e CGR126) de *Croton grewioides* e seus compostos majoritários metil eugenol e eugenol, sobre a praga da soja *Chrysodeixis includens*. Além disso, investigamos os efeitos subletais desses compostos sobre o percevejo predador *Podisus nigrispinus*, analisando seus parâmetros de desenvolvimento, reprodução e tabela de vida. Os óleos essenciais e seus compostos majoritários foram tóxicos para *C. includens* e *P. nigrispinus*. De forma geral, a presença do eugenol tornou o óleo essencial mais tóxico para praga e seletivo ao inimigo natural. Os tempos letais estimados para os óleos essenciais ocasionarem mortalidade em 50% da população de *C. includens* foram inferiores a 15 horas. Houve seletividade do óleo essencial do acesso CGR126 de *C. grewioides* nas doses letais acima de 90%. Embora os tratamentos tenham mostrado pouco efeito sobre o desenvolvimento de *P. nigrispinus*, a massa corporal e os parâmetros reprodutivos foram negativamente afetados, com exceção do óleo essencial do acesso CGR126 de *C. grewioides*. O óleo essencial de *C. grewioides* pode representar uma fonte promissora para ser utilizada na síntese de novos inseticidas que apresentem eficiência contra *C. includens* e ao mesmo tempo sejam mais seguros para o inimigo natural *P. nigrispinus*.

Palavras-chave: Euphorbiaceae, lagarta-falsa-medideira, inseto-praga, percevejo predador, toxicidade.

ABSTRACT**ESSENTIAL OILS FROM *CROTON GREWIOIDES* AND ITS MAJOR COMPOUNDS: TOXICITY TO *CHRYSODEIXIS INCLUDENS* AND SELECTIVITY TO THE PREDATOR *PODISUS NIGRISPINUS***

Natural biological control is a key factor that ensures the regulation of insect pest populations in agroecosystems. However, the indiscriminate use of pesticides has compromised this environmental service. Thus, the search for environmentally safe pesticides is an increasing requirement for sustainable food production. In this study, we analyzed the toxicity of essential oils from two accessions (CGR112 and CGR126) of *Croton grewioides* and its major compounds, methyl eugenol and eugenol, on the soybean pest *Chrysodeixis includens*. In addition, we investigated the sublethal effects of these compounds on the predatory stink bug *Podisus nigrispinus*, analyzing its developmental, reproductive, and life-table parameters. Essential oils and their major compounds were toxic to *C. includens* and *P. nigrispinus*. In general, the presence of eugenol made the essential oil more toxic to the pest and selective to the natural enemy. The estimated lethal times for essential oils to cause mortality in 50% of the population of *C. includens* were less than 15 hours. There was selectivity of the essential oil of the CGR126 accession of *C. grewioides* at lethal doses above 90%. Although the treatments showed little effect on the development of *P. nigrispinus*, body mass and reproductive parameters were negatively affected, with the exception of the essential oil of the CGR126 accession of *C. grewioides*. The essential oil of *C. grewioides* may represent a promising source for use in the synthesis of new insecticides that may be effective against *C. includens* and, at the same time, safer for the natural enemy *P. nigrispinus*.

Keywords: Euphorbiaceae, soybean looper, insect pest, predatory stink bug, toxicity.

4.1. Introdução

O controle biológico afeta diretamente a densidade populacional e a efetividade no controle de espécies fitófagas (DESNEUX; DECOURTYE; DELPUECH, 2007). No entanto, a utilização de pesticidas não seletivos tem reduzido as chances do controle natural, exigindo aumento de doses e da frequência de aplicação desses defensivos em campo. Tal uso indiscriminado, por sua vez, contribui para o surgimento de populações de insetos-praga resistentes a diferentes classes de inseticidas (SUJII *et al.*, 2022; THOMAS *et al.*, 1996; STACKE *et al.*, 2019). Além disso, a utilização inadequada de pesticidas pode causar acúmulo de resíduos tóxicos nos alimentos, promover a contaminação do solo, da água e a intoxicação de produtores rurais (WYCKHUYS *et al.*, 2013; DASSANAYAKE *et al.*, 2021). Tais problemas são agravados principalmente na agricultura de larga escala, como é o caso da produção de soja no Brasil, que representa uma grande parcela do suprimento global de proteínas e óleos vegetais. O país destaca-se como o maior produtor, com uma produtividade de cerca de 136 milhões de toneladas de soja em 2020 (CONAB, 2021). No entanto, o cultivo intensivo da soja tem ocasionado surtos de pragas que afetam consideravelmente a produtividade e os custos com insumos defensivos.

Dentre os insetos-praga da soja, destaca-se a *Chrysodeixis includens* (Lepidoptera: Noctuidae), popularmente conhecida como falsa medideira, esse inseto generalista pode ocasionar danos em mais de 174 espécies de plantas de 39 diferentes famílias botânicas, incluindo feijão (*Phaseolus* spp.), algodão (*Gossypium hirsutum*), tabaco (*Nicotiana* spp.), girassol (*Helianthus* spp.), tomate (*Solanum lycopersicum*) e batata (*Solanum* spp.) (SPECHT *et al.*, 2015). As lagartas da *C. includens* têm o hábito de se alimentar das folhas medianas e basais das plantas, o que dificulta a eficiência de aplicação de inseticidas (SPECHT *et al.*, 2015). Dentre os possíveis inimigos naturais dessa praga, destaca-se o percevejo predador *Podisus nigrispinus* (Dallas, 1851) (Hemiptera: Pentatomidae). Esse inseto apresenta potencial para o controle de diversas espécies de pragas de importância econômica (VIVAN *et al.*, 2002; VACARI; OTUKA; BERTOLI, 2007; ZANUNCIO *et al.*, 2008). No entanto, como forma de mitigar a desfolha e os danos causados por *C. includens*, os agricultores têm optado pelo método de controle químico, o que resulta muitas vezes no desenvolvimento de populações de insetos resistentes (STACKE *et al.*, 2020). Pragas resistentes demandam doses maiores de inseticidas para o seu controle, culminando em impactos negativos sobre organismos não-alvo, comprometendo assim os serviços ecossistêmicos e a saúde humana (AKTAR *et al.*, 2009).

A adoção do manejo integrado de pragas (MIP) pode contribuir para mitigar os efeitos negativos advindos do uso desordenado de pesticidas. Dentre as táticas recomendadas, está a manutenção de populações de inimigos naturais, assim como o uso de pesticidas seletivos a esses organismos. Nesse sentido, óleos essenciais (OEs) de plantas podem ser uma alternativa potencial ao uso de inseticidas organossintéticos (MELO *et al.*, 2018), sendo em muitos casos, considerados promissores para a síntese de novas moléculas inseticidas (BAKKALI *et al.*, 2008; ISMAN *et al.*, 2010). Os OEs consistem em produtos do metabolismo secundário de plantas, que evoluíram e se diversificaram quimicamente em resposta às pressões de herbivoria ou ambientais. Tais pressões diferenciais, no tempo e no espaço, tem resultado em uma grande diversidade de compostos, incluindo variações químicas entre indivíduos de uma mesma espécie (MELO *et al.*, 2018). Esta variedade está relacionada a diferentes fatores que podem influenciar a biossíntese dos OEs, por exemplo, variações genéticas, idade, época de colheita e efeitos abióticos (SOUZA *et al.*, 2017). Dentre as vantagens da utilização de OEs de plantas como bioinseticidas, está a sua alta volatilidade (baixa persistência no ambiente) e a presença de uma grande variedade de compostos em sua constituição química. Tais componentes químicos apresentam-se em diferentes proporções (ex. compostos majoritários ou minoritários) (BLANK *et al.*, 2019) e interagem de diferentes formas (ex. sinérgica, aditiva

ou antagônica) influenciando na bioatividade dos OEs (CAVAR ZELJKOVIC; MAKSIMVIC, 2015).

Croton grewioides, conhecida popularmente como “canelinha-de-cheiro” ou “canelinha”, é uma planta endêmica do bioma Caatinga, encontrada em regiões rochosas e solos arenosos nos estados da região Nordeste (SILVA *et al.*, 2010). Estudos mostram que os OEs obtidos a partir de *C. grewioides* podem apresentar uma grande diversificação de compostos, representando assim importantes fontes de substâncias bioativas para o controle de insetos (FARMER; RYAN, 1990). Dentre tais compostos, tem-se destaque para: (*E*)-anetol, (*E*)- metil isoeugenol, eugenol, metil eugenol e metil chavicol (SILVA *et al.*, 2008; OLIVEIRA *et al.*, 2020).

Nesse estudo, avaliamos a atividade de dois acessos do OE de *C. grewioides* e seus compostos majoritários considerando a suscetibilidade do herbívoro *Chrysodeixis includens*, assim como a seletividade e os efeitos desses compostos sobre os parâmetros biológicos e reprodutivos do inimigo natural, o percevejo predador *P. nigrispinus*.

4.2. Material e Métodos

Criação de insetos

A população de *C. includens* utilizada nos experimentos foi adquirida da empresa CL Empreendimentos Biológicos LTDA. A população foi mantida na Clínica Fitossanitária da Universidade Federal de Sergipe (UFS), São Cristóvão-SE (10°54' S, 37°04' W, 7m de altitude), Brasil. As lagartas foram individualizadas em potes de polipropileno de 500 ml, alimentadas com dieta artificial (GREENE *et al.*, 1976) e acondicionadas em câmara de crescimento BOD sob condições controladas de temperatura e umidade ($27 \pm 0,5^\circ\text{C}$, UR de $70 \pm 10\%$ e fotoperíodo de 12 horas). Ao chegarem à fase de pupa, essas foram sexadas e mantidas em gaiolas cilíndricas de plástico (30 cm x 30 cm x 30 cm) forradas com papel sulfite, utilizado como substrato para oviposição. As gaiolas foram vedadas com tecido organza. Em cada gaiola foram adicionados oito casais, alimentados diariamente com solução açucarada a 20%.

A população de *P. nigrispinus* utilizada foi obtida de criação mantida no Laboratório de Entomologia Florestal (LEFLO) da Universidade Federal de Sergipe (UFS). Os insetos foram mantidos em potes de polipropileno de 500 mL, alimentados *ad libitum* com larvas de 7º instar de *Tenebrio molitor*. Os ovos depositados nas gaiolas foram diariamente coletados com o auxílio de algodão hidrofílico e transferidos para placas de Petri (9 x 1,5 cm) contendo algodão umedecido com água. As larvas de *T. molitor* utilizadas para alimentar o *P. nigrispinus* foram alimentadas com farelo de soja e mantidas em bandejas plásticas de 24 x 20 x 15 cm.

Obtenção dos compostos e análise química dos OEs

Os OEs de *C. grewioides* foram obtidos dos acessos CGR112 e CGR126 que são mantidos no Banco Ativo de Germoplasma da Universidade Federal de Sergipe (UFS) – localizado na fazenda experimental – Campus Rural da UFS, São Cristóvão, SE, Brasil (10°55 S, 37°11' W, 18 m de altitude).

Inicialmente as folhas retiradas das plantas foram secas em estufas a 40°C durante 5 dias. Os OEs foram extraídos por hidrodestilação em aparelho de Clevenger modificado, utilizando-se 70 g de amostras de folhas secas por 120 min a partir da ebulição a 100°C. O OE obtido de cada amostra foi armazenado à temperatura de -20°C até a análise da composição química. Para identificar e quantificar os compostos, foram realizadas as análises dos OEs (para maiores detalhes, veja Oliveira *et al.*, 2020). Os compostos metil eugenol e eugenol, encontrados majoritariamente nos OEs dos acessos estudados, foram adquiridos da empresa SIGMA-ALDRICH.

Bioensaios

Os bioensaios foram realizados na Clínica Fitossanitária, da Universidade Federal de Sergipe (UFS), São Cristóvão – SE.

Os tratamentos utilizados foram os OEs dos acessos CGR112 e CGR126 de *C. grewoides* e os compostos majoritários metil eugenol e eugenol. O solvente utilizado para diluir os compostos foi a acetona (Panreac, UV-IR-HPLC-GPC PAIACS, 99,9%). Os tratamentos foram aplicados topicamente na região protorácica de cada inseto com o auxílio de uma microseringa (Hamilton®, Reno, NV, USA), sendo 0,5 µL para *C. includens* e 1 µL para *P. nigrispinus*. No controle foi aplicado somente acetona. Testes preliminares indicaram que a acetona não afeta a sobrevivência, o desenvolvimento e a reprodução dos insetos.

Para a determinação da massa dos insetos, 50 lagartas de segundo instar de *C. includens* e 50 ninfas de terceiro instar de *P. nigrispinus* foram pesadas, individualmente, em balança de precisão (Shimadzu, AUW220D).

Toxicidade e seletividade

Testes preliminares foram realizados com três doses (1, 5 e 10 µg das substâncias/mg de inseto) de cada tratamento. A partir destes testes foram determinadas, no mínimo, seis doses para traçar as curvas de dose-mortalidade. O delineamento experimental utilizado foi inteiramente casualizado, com quatro repetições por tratamento.

As lagartas de *C. includens* tratadas foram acondicionadas em placas de cultura celular (Global Trade Technology, Monte Alto, SP, Brasil) (24 orifícios) forradas com papel filtro umedecido, contendo folha de feijão ($\cong 6 \text{ cm}^2$) para alimentação. Cada unidade experimental foi composta por 12 insetos.

Antes das aplicações dos tratamentos, as ninfas de *P. nigrispinus* foram deixadas em freezer por 90 s para redução da atividade. Testes preliminares indicaram que este tempo de permanência no freezer não afeta a sobrevivência dos insetos. As ninfas de *P. nigrispinus* tratadas foram transferidas para placas de Petri (Global Trade Technology, Monte Alto, SP, Brasil) (9 x 1,5 cm) contendo algodão hidrofílico umedecido e larvas de 7º instar de *T. molitor* foram fornecidas *ad libitum* como fonte de alimento. Cada unidade experimental foi composta por 10 insetos.

As placas de cultura celular contendo as lagartas e as placas de Petri contendo ninfas foram mantidas em câmara de crescimento BOD sob condições controladas (Biotech®, Piracicaba, SP, Brasil) ($27 \pm 0,5^\circ$, UR $70 \pm 10\%$ e fotoperíodo de 12 horas). A mortalidade dos insetos foi verificada 72 h após a montagem dos bioensaios. Insetos que não apresentaram movimentos após serem estimulados com pincel de cerdas macias foram considerados mortos.

As curvas de dose-resposta foram utilizadas para determinar a toxicidade e a seletividade dos compostos em favor do percevejo predador.

Tempo letal

Nos bioensaios com *C. includens* e *P. nigrispinus*, as lagartas e as ninfas foram submetidas à aplicação das DLs₉₀ dos tratamentos, sendo posteriormente acondicionadas da mesma forma que nos bioensaios de toxicidade e seletividade. O delineamento experimental utilizado foi inteiramente casualizado, com sete e dez repetições por tratamento para *C. includens* e *P. nigrispinus*, respectivamente. A DL₉₀ foi utilizada para a determinação das curvas de sobrevivência e tempo letal para matar 50% da população (TL₅₀) por ser um padrão de eficiência de controle no Brasil (SILVA *et al.*, 2011).

As primeiras avaliações foram realizadas após 10 e 30 min da montagem dos bioensaios, posteriormente foram realizadas avaliações a cada 2h durante 24h, seguida por intervalos de 4h nas 24h seguintes, e por fim avaliações a cada 12h até 120h.

Parâmetros biológicos

Para avaliar os efeitos subletais sobre os parâmetros biológicos (desenvolvimento, longevidade e massa) de *P. nigrispinus*, ninfas de 3º instar foram tratadas topicamente com 1 µL da DL₃₀ de cada tratamento. Foram utilizadas sete coortes com 10 repetições cada. As ninfas foram mantidas individualmente em placa de Petri (Global Trade Technology, Monte Alto, SP, Brasil) (9 x 1,5 cm) contendo algodão umedecido. As placas foram mantidas em ambiente climatizado (27 ± 0,5°C, UR 70% e fotoperíodo de 12 horas). As ninfas foram alimentadas *ad libitum* com larvas de *T. molitor*. As mortalidades e as durações em cada instar foram avaliadas diariamente.

Os insetos que atingiram a fase adulta tiveram sua massa determinada, foram sexados e isolados durante um período de 3 dias para adquirirem a maturidade sexual. Foram formados dez casais/tratamento, os quais foram mantidos em potes plásticos (500 mL) e alimentados *ad libitum* com larvas de *T. molitor*. Após a formação dos casais foram avaliados os períodos de pré-oviposição, oviposição, número de ovos por fêmea, número de massas de ovos por fêmea, número de ovos por massa de ovos, número de ninfas por fêmea, número de ninfas por massa de ovos, período de incubação dos ovos, viabilidade de ovos e longevidade de fêmeas e machos.

Tabela de vida

Os parâmetros de tabela de vida foram calculados levando em consideração a sobrevivência e a reprodução de *P. nigrispinus* expostos aos tratamentos. Para isso foram calculadas a idade média dos insetos (x), a taxa de sobrevivência específica (lx) e a fertilidade específica (mx).

A tabela de vida foi constituída pela taxa líquida reprodutiva [$R_0 = \sum(lx.mx)$], a taxa intrínseca de aumento [$r_m = \ln(R_0)/T$], tempo médio de geração [$T = (\sum x.lx.mx)/(\sum lx.mx)$], tempo de duplicação da população [$TD = \ln(2)/r_m$] e taxa finita de aumento [$\lambda = e^{r_m}$] (Krebs, 1994).

Análise estatística

Os dados de toxicidade obtidos para *C. includens* e *P. nigrispinus* foram submetidos à análise de Probit para determinação das curvas de dose-mortalidade utilizando o procedimento PROC PROBIT (SAS Institute, 2008). As curvas foram obtidas com probabilidade de aceitação da hipótese nula (de que os dados possuem distribuição Probit) maior que 0,05 pelo teste de χ^2 . A partir das curvas foram obtidas as DLs (01 a 99) com seus respectivos intervalos de confiança a 95% (IC₉₅). As curvas e as DLs foram comparadas pelo critério da não-sobreposição dos intervalos de confiança (IC₉₅) com a origem do intervalo.

As análises de sobrevivência foram realizadas utilizando-se os estimadores de Kaplan-Meier usando o teste Log-Rank (SigmaPlot, versão 12.5). Por meio desta análise, foram obtidas curvas de sobrevivência e tempos letais capazes de ocasionar mortalidade em 50% dos indivíduos (TL₅₀) (*C. includens* ou *P. nigrispinus*), com seus respectivos intervalos de confiança a 95% (IC_{95%}). As curvas foram comparadas pelo método de comparação múltipla Holm-Sidak a 5% de probabilidade (SigmaPlot, versão 12.5). As TL₅₀ foram comparadas pelo critério da não-sobreposição dos intervalos de confiança (IC_{95%}) com a origem do intervalo.

Os parâmetros de tabela de vida foram estimados utilizando-se a técnica Jackknife com o programa estatístico SAS (MAIA *et al.*, 2000). Os dados de duração dos estádios, longevidade dos adultos, massa de fêmeas e machos, parâmetros reprodutivos e parâmetros da tabela de vida foram inicialmente submetidos ao teste de Kolmogorov-Smirnov para verificar a normalidade dos dados (SigmaPlot, versão 12.5). As variáveis que apresentaram normalidade foram submetidas à análise de variância seguida pelo teste de Dunnett ($P < 0,05$) para verificar diferenças entre os tratamentos com o controle, utilizando-se o procedimento PROC GLM, com Dunnett (SAS Institute Inc, 2008). Já as variáveis que não apresentaram

normalidade foram submetidas à análise de variância não-paramétrica de Kruskal-Wallis, seguida pelo método de comparação múltipla de Dunn's para comparar o efeito dos tratamentos com o controle, utilizando-se o procedimento PROC NPAR1WAY, com Dunn's (SAS Institute Inc, 2008) (SigmaPlot, versão 12.5).

4.3. Resultados

Caracterização dos OEs

Foram identificados onze compostos nos OEs de ambos os acessos de *C. grewioides*. Os compostos majoritários encontrados nos OEs dos acessos foram metil eugenol (85,6%) para CGR112, e metil eugenol (46%) e eugenol (42,7%) para CGR126. Os teores dos OEs foram 4,1 e 2% para os acessos CGR112 e CGR126, respectivamente (Fig. 1).

Toxicidade e seletividade

Os OEs obtidos dos acessos CGR112 e CGR126 de *C. grewioides* e seus compostos majoritários metil eugenol e eugenol foram tóxicos para lagartas de *C. includens* e ninfas de *P. nigrispinus*. As DL₅₀ obtidas para os tratamentos variaram de 4,65 a 8,82 µg/mg para *C. includens* e de 1,22 a 4,45 µg/mg para *P. nigrispinus*. Em doses mais altas, o OE do acesso CGR126 e o composto eugenol foram mais tóxicos para *C. includens* do que o OE do acesso CGR112 e seu composto majoritário metil eugenol (Fig. 2).

O OE do acesso CGR126 de *C. grewioides* foi seletivo ao percevejo predador *P. nigrispinus* em doses superiores a DL₉₀. Doses necessárias para matar entre 65 e 90% das populações causaram efeitos similares entre *C. includens* e *P. nigrispinus* (Fig. 2b). Da mesma forma, o composto eugenol causou mortalidade semelhante entre estas espécies em doses letais superiores às necessárias para causar mortalidades de 65% das populações (DL₆₅) (Fig. 2d). Na dose considerada padrão de controle (DL₉₀), o OE do acesso CGR126 de *C. grewioides* (*C. includens* = 11,17 µg/mg; *P. nigrispinus* = 17,06 µg/mg) e o composto eugenol (*C. includens* = 9,73 µg/mg; *P. nigrispinus* = 10,90 µg/mg) foram 1,5 e 1,1 vezes mais tóxicos para a praga do que para o percevejo predador (Fig. 2b, d).

O OE do acesso CGR112 de *C. grewioides* (DL₅₀: *C. includens* = 8,14 µg/mg; *P. nigrispinus* = 1,44 µg/mg) e seu composto majoritário metil eugenol (DL₅₀: *C. includens* = 8,82 µg/mg; *P. nigrispinus* = 1,22 µg/mg) não foram seletivos ao predador *P. nigrispinus*. As doses necessárias para matar 50% das populações de *C. includens* foram 5, 6 e 7,2 vezes maiores que as doses utilizadas para *P. nigrispinus*, respectivamente (Fig. 2a, c).

Sobrevivência

A sobrevivência de lagartas de *C. includens* e de ninfas de *P. nigrispinus* expostas às DL₉₀ dos tratamentos foi significativamente reduzida ao longo tempo (*C. includens*: teste Log-Rank: $X^2 = 288,42$; $P < 0,001$ e *P. nigrispinus*: teste Log-Rank: $X^2 = 230,96$; $P < 0,001$) (Fig. 3a, c).

Não houve diferença entre as curvas de sobrevivência de lagartas de *C. includens* expostas aos compostos majoritários metil eugenol e eugenol ($P = 0,26$) (Fig. 3a). Da mesma forma, as curvas de sobrevivência de ninfas de *P. nigrispinus* expostas ao OE do acesso CGR112 de *C. grewioides* e seu composto majoritário metil eugenol não diferiram ($P = 0,14$), bem como as curvas do OE do acesso CGR126 de *C. grewioides* e o composto eugenol ($P = 0,73$) (Fig. 3c).

As lagartas de *C. includens* mostraram rápida redução da sobrevivência quando expostas ao OE do acesso CGR126 de *C. grewioides* (TL₅₀ = 1,9 h; IC_{95%} = 1,2-2,6). Em menos de 11 h, todos os indivíduos morreram (Fig. 3a, b). O OE do acesso CGR112 de *C. grewioides* também causou rápida redução no início, no entanto algumas lagartas se mantiveram vivas até 104 h (TL₅₀ = 14,6 h; IC_{95%} = 8-21,3) (Fig. 3a, b). Os compostos majoritários metil eugenol e eugenol foram mais lentos para causar mortalidade das lagartas

de *C. includens*, com tempos letais médios de 62,9 h ($IC_{95\%} = 50,3-75,4$) e 71,4 h ($IC_{95\%} = 58,8-84,1$), respectivamente (Fig. 3 a, b).

Para *P. nigrispinus*, o OE do acesso CGR112 de *C. grewioides* causou mortalidade mais rápida ($TL_{50} = 31,5$ h; $IC_{95\%} = 27,5-35,6$), seguido pelo seu composto majoritário metil eugenol ($TL_{50} = 37,3$ h; $IC_{95\%} = 33,6-41$) (Fig. 3c, d). Já o OE do acesso CGR126 de *C. grewioides* ($TL_{50} = 48,2$ h; $IC_{95\%} = 42,5-60$) e eugenol ($TL_{50} = 51,1$ h; $IC_{95\%} = 44,7-57,5$) causaram mortalidade mais lenta (Fig. 3 c, d).

Desenvolvimento e longevidade de *P. nigrispinus*

Antes das ninfas de *P. nigrispinus* serem expostas aos compostos (DL_{30}), os tempos de desenvolvimento das coortes não diferiram entre as fases de ovo ($H = 0,0$; $P = 1,00$); ninfa de 1º instar ($H = 0,382$; $P = 0,984$) e ninfa de 2º instar ($H = 3,692$; $P = 0,449$). Esses estádios tiveram uma duração média de 4 ± 0 ; $2,3 \pm 0,0495$ e $3,68 \pm 0,0435$ dias, respectivamente (Fig. 4).

As durações do 4º e 5º instar e do total da fase ninfal de *P. nigrispinus* diferiram significativamente entre os tratamentos (4º instar: $H = 17,94$; $P = 0,001$; 5º instar: $H = 12,54$; $P = 0,014$; total da fase ninfal: $H = 9,722$; $P = 0,045$). Os compostos metil eugenol e eugenol aumentaram em 0,59 e 0,53 dias a duração do 4º instar se comparado ao controle. Da mesma forma, a duração do 5º instar aumentou 0,62 dias para indivíduos que foram expostos ao OE do acesso CGR126 de *C. grewioides*. Essas variações resultaram em um aumento, na média da duração da fase ninfal de 1 dia, quando as ninfas de *P. nigrispinus* foram expostas somente ao composto metil eugenol (Fig. 4).

Não houve efeito dos compostos na duração de ninfas de 3º instar ($H = 5,627$; $P = 0,229$) e na longevidade de fêmeas ($H = 2,962$; $P = 0,564$) e machos ($H = 4,611$; $P = 0,330$) de *P. nigrispinus*. Na média, o 3º instar durou $3,18 \pm 0,0434$ dias e a longevidade de fêmeas e machos foi de $25,26 \pm 1,68$ dias e $26,62 \pm 1,67$ dias, respectivamente (Fig. 4).

Massa de *P. nigrispinus*

A massa de fêmeas e machos de *P. nigrispinus* submetidos às DL_{30} reduziram significativamente quando comparados com o controle ($P < 0,001$). Na média, os compostos reduziram 30 e 44% a massa de fêmeas e machos, respectivamente (Fig. 5).

Parâmetros reprodutivos

O período de pré-oviposição ($H = 19,95$; $P < 0,001$), o número de ovos por fêmeas ($F = 2,82$; $P = 0,036$), o número de ninfas por fêmeas ($F = 2,72$; $P = 0,041$) e a incubação dos ovos ($H = 68,39$; $P < 0,001$) de *P. nigrispinus* diferiram do controle. Os demais parâmetros reprodutivos não modificaram com a aplicação dos compostos ($P > 0,05$) (Tabela 1). O período de pré-oviposição e a incubação dos ovos aumentaram quando o percevejo predador foi exposto aos compostos eugenol e OE do acesso CGR126 de *C. grewioides*, respectivamente. Já os números de ovos e ninfas por fêmea reduziram quando os insetos foram tratados com metil eugenol (Tabela 1).

Parâmetros demográficos

Todos os parâmetros demográficos de *P. nigrispinus* foram afetados pela aplicação dos compostos (Tabela 2). A taxa reprodutiva líquida (R_0) ($F_{4,49} = 2,80$; $P = 0,037$) foi reduzida com a exposição das ninfas ao composto metil eugenol. Da mesma forma, a taxa intrínseca de aumento (r_m) ($F_{4,49} = 9,39$; $P < 0,001$) e a razão finita de aumento (λ) ($F_{4,49} = 9,46$; $P < 0,011$) também diminuíram com a exposição das ninfas aos compostos metil eugenol e eugenol. Por outro lado, o tempo médio de geração (T) ($H = 38,16$; $P = 0,008$) para ninfas expostas ao eugenol e o tempo de duplicação (TD) ($H = 6,33$; $6,78$; $P < 0,011$) de ninfas expostas ao metil eugenol e eugenol aumentaram respectivamente (Tabela 2).

4.4 Discussão

De forma geral, os OEs podem ser constituídos por inúmeros compostos. Em muitos casos suas atividades biológicas são atribuídas apenas aos compostos majoritários presentes em sua constituição (ATANASOVA; LEATHER, 2018; ISMAN, 2016; REGNAULT-ROGER *et al.*, 2012). No entanto, a toxicidade de um composto depende do tempo de exposição; da dose utilizada; de suas propriedades físico-químicas; além de fatores como mecanismos de ação; metabolismo e excreção; e taxa de penetração (GEROLT, 1983; RESENDE *et al.*, 2016). Aqui verificamos que, embora os OEs dos acessos CGR112 e CGR126 de *C. grewioides* apresentem metil eugenol como composto majoritário, apenas o OE do acesso CGR126 possui eugenol (42,7%) em sua constituição. Tais diferenças parecem ser responsáveis pela bioatividade distinta apresentada pelos OEs. De forma geral, a presença do eugenol tornou o OE mais tóxico para praga e seletivo ao inimigo natural.

O metil eugenol e OE do acesso CGR112 de *C. grewioides*, que possui esse composto isolado como majoritário, foram menos tóxicos para as lagartas de segundo instar de *C. includens*. Como essa é uma praga generalista, possivelmente já tenha tido contato com o metil eugenol ao longo da sua história de vida. O metil eugenol é um composto que está presente em mais de 60 famílias de plantas, sendo possivelmente relacionado com a atração de insetos para polinização, visto que pode ser liberado como um componente da fragrância floral (TAN *et al.*, 2012).

Por outro lado, o eugenol foi o composto que apresentou maior toxicidade para *C. includens* na DL₅₀, seguido pelo OE do acesso CGR126 de *C. grewioides* que foi igualmente tóxico a este composto em doses mais altas (>DL₈₅). O eugenol tem ação inseticida de contato promovendo ação de mortalidade rápida sobre inúmeras espécies de insetos-praga (BAKER; GRANT, 2018; DAYAN *et al.*, 2009; ENAN, 2005; GONZÁLEZ ARMIJOS *et al.*, 2019).

A ação do eugenol por contato tem sido atribuída à sua penetração na cutícula dos insetos, possuindo como principais alvos os receptores de octopamina e os canais potenciais de receptores transitórios (PRT), o que pode alterar o funcionamento do sistema nervoso dos insetos (BAKER; GRANT, 2018; ENAN, 2005; PRICE; BERRY, 2006).

Os valores de DL₅₀ obtidos para *C. includens*, de forma geral, foram superiores quando comparados aos valores de DL₅₀ obtidos para o *P. nigrispinus*, possivelmente devido ao fato de a praga estar naturalmente mais exposta aos compostos do que o seu inimigo natural, o que pode desencadear mecanismos de resistência por parte do herbívoro.

O OE do acesso CGR112 de *C. grewioides* e o metil eugenol não apresentaram seletividade, sendo mais tóxicos para o inimigo natural do que para a praga (Fig. 2 a, c). Porém, o acesso CGR126 foi seletivo e o eugenol igualmente tóxico para a praga e o inimigo natural, quando em altas doses (Fig. 2). Nesses casos, a mortalidade de *C. includens* aumentou rapidamente com pequenas variações nas doses, o que indica uma resposta mais homogênea da população a estes compostos. Acima da DL₉₀, o OE do acesso CGR126 de *C. grewioides* foi mais tóxico à praga do que ao inimigo natural (Fig. 2). O padrão de eficiência recomendado no Brasil coincide justamente com tais doses mais elevadas (> DL₈₀), o que garantiria maior segurança ao predador. Ainda, nessa dosagem, o OE do acesso CGR126 causou rápida mortalidade das pragas e lenta mortalidade ao percevejo predador, mostrando alta eficiência (Fig. 3). Deve-se ressaltar que, além da seletividade fisiológica observada aqui, medidas ecológicas podem ser adotadas visando aumentar a seletividade, incluindo forma e horário de aplicação.

Os compostos testados mostraram pouco efeito no ciclo de desenvolvimento, porém afetaram os parâmetros de tabela de vida de *P. nigrispinus*, com exceção do OE do acesso CGR126 de *C. grewioides*. Ninfas de 3º instar submetidas às subdosagens (DL₃₀) do metil eugenol tiveram maior duração total do período ninfal, porém esse resultado foi de apenas um dia, o que não interfere no ciclo de vida do predador. Por outro lado, nossos resultados

mostram uma redução significativa na massa corpórea de fêmeas e machos do percevejo predador submetido aos tratamentos quando comparados ao controle. Possivelmente, os insetos submetidos aos tratamentos gastaram energia para se livrar dos compostos, reduzindo assim a alimentação, com consequente perda de massa corpórea. Uma vez que machos de tamanho reduzido podem preferir fêmeas maiores (ex. proporcionam, um maior número de descendentes) (PEREIRA *et al.*, 2017), isso poderia interferir no potencial reprodutivo dos mesmos. De fato, o metil eugenol causou redução no número de ovos e ninfas por fêmea, além de diminuição da taxa líquida reprodutiva, taxa intrínseca de aumento e razão finita de aumento, aumentando ainda o tempo para duplicação da população.

Apesar do eugenol afetar pouco os parâmetros reprodutivos, aumentando apenas o período de pré-oviposição, esse composto afetou os parâmetros de tabela de vida de *P. nigrispinus*, reduzindo a taxa intrínseca de aumento e a razão finita de aumento, aumentando o tempo de geração e duplicação.

Concluindo, nossos resultados demonstram que apesar de todos os tratamentos terem efeito na toxicidade contra *C. includens*, apenas o OE do acesso CGR126 de *C. grewoides* mostra-se promissor para futuro uso no manejo sustentável por ser mais eficiente e mais seguro ao percevejo predador *P. nigrispinus*. Compostos isolados desse OE (ex. eugenol) também podem ser promissores, desde que se observe a seletividade ecológica.

4.5 Referências Bibliográficas

AKTAR, M. W.; SENGUPTA, D.; CHOWDHURY, A. Impact of pesticides use in agriculture: their benefits and hazards. **Interdiscip. Toxicol**, v. 2, p. 1-12, 2009.

ATANASOVA, D.; LEATHER, S.R. Plant essential oils: the way forward for aphid control? **Ann. Appl. Biol.**, vol. 173, p. 175-179, 2018.

BAKER, B.P.; GRANT, J.A. Eugenol profile. Recovered from: <https://ecommons.cornell.edu/bitstream/handle/1813/56125/eugenol-MRP-NYSIPM.pdf?sequence=1&isAllowed=y>.

BAKKALI, F.; AVERBECK, S.; AVERBECK, D.; IDAOMAR, M. Biological effects of essential oils – a review. **Food Chem. Toxicol**, v. 46, p. 446-475, 2008.

BLANK, A. F.; FÁTIMA ARRIGONI-BLANK, M. D.; BACCI, L.; COSTA JUNIOR, L. M.; CASTRO NIZIO, D. A. D. Chemical Diversity and Insecticidal and Anti-tick Properties of Essential Oils of Plants from Northeast Brazil. In: **Essential Oil Research**. Springer, Cham, 2019. p. 235-258.

CAVAR ZELJKOVIC, S.; MAKSIMOVIC, M. Chemical composition and bioactivity of essential oil from Thymus species in Balkan Peninsula. **Phytochem. Rev.**, v. 14, p. 335-352, 2015.

COMPANHIA NACIONAL DE ABASTECIMENTO (CONAB). Acompanhamento da safra brasileira de grãos, v. 8– safra 2020/2021. 12º Levantamento. Brasília, p. 1-97, setembro 2021.

DASSANAYAKE, M. K.; CHONG, C. H.; KHOO, T. J.; FIGIEL, A.; SZUMNY, A.; CHOO, C. M. Synergistic Field Crop Pest Management Properties of Plant-Derived Essential Oils in Combination with Synthetic Pesticides and Bioactive Molecules: A Review. **Foods**, v. 10, n. 9, p. 2016, 2021.

DAYAN, F.E.; CANTRELL, C.L.; DUKE, S.O. Natural products in crop protection. **Bioorganic & Medicinal Chemistry**, v.17, p. 4022-4034, 2009.

DESNEUX, N.; DECOURTYE, A.; DELPUECH, J. M. The sublethal effects of pesticides on beneficial arthropods. **Annu. Rev. Entomol.**, v. 52, p. 81-106, 2007.

ENAN, E.E. Molecular response of *Drosophila melanogaster* tyramine receptor cascade to plant essential oils. **Insect Biochemistry and Molecular Biology**, v. 35, p. 309-321, 2005.

FARMER, E.E.; RYAN, C.A. Interplant communication: airborne methyl jasmonate induces synthesis of proteinase inhibitors in plant leaves. **Proc. Natl. Acad. Sci.**, v. 87, p. 7713-7716, 1990.

GEROLT, P. Insecticides: their route of entry, mechanism of transport and mode of action. **Biol. Rev. Camb. Philos. Soc.**, v. 58, p. 233-274, 1983.

GÓNZALEZ ARMIJOS, M.J.; JUMBO, L.V.; FARONI, L.R.D.; OLIVEIRA, E.E.; FLORES, A.F.; HELENO, F.F.; HADDI, K. Fumigant toxicity of eugenol and its negative effects on biological development of *Callosobruchus maculatus* L. **Revista de Ciências Agrícolas**, v. 36, n. 1, p. 5-15, 2019.

GREENE, G.L.; LEPPLA, N.C.; DICKERSON, W.A. Velvetbean caterpillar: a rearing procedure and artificial medium. **J. Econ. Entomol.**, v. 69, p. 487-488, 1976.

ISMAN, M.B. Pesticide based on plant essential oils: phytochemical and practical considerations. **Medicinal and aromatic crops: production, phytochemistry, and utilization**. American Chemical Society, 2016. p. 13-26 1218, p. 13-26, 2016.

ISMAN, M.B.; MIRESMAILLI, S.; MACHIAL, C. Commercial opportunities for pesticides based on plant essential oils in agriculture, industry and consumer products. **Phytochem. Rev.**, v. 10, p. 197-204, 2010.

MAIA, A. D. H.; LUIZ, A. J.; CAMPANHOLA, C. Statistical inference on associated fertility life table parameters using jackknife technique: computational aspects. **Journal of Economic Entomology**, v. 93, n. 2, p. 511-518, 2000.

MELO, C.R.; PICANÇO, M.C.; SANTOS, A.A.; SANTOS, I.B.; PIMENTEL, M.F.; SANTOS, A.C.C.; BLANK, A.F.; ARAÚJO, A.P.A.; CRISTALDO, P.F.; BACCI, L. Toxicity of essential oils of *Lippia gracilis* chemotypes and their major compounds on *Dyaphania hyalinata* and non-target species, **Crop Protection**, v. 104, p. 47-51, 2018. .

OLIVEIRA, S.D.S.; SILVA, A.M.O.; BLANK, A.F.; NOGUEIRA, P.C.L.; NIZIO, D.A.C.; PEREIRA, C.S.A.; PEREIRA, R.O.; MENEZES-SÁ, T.S.A.; SANTANA, M.H.S.; BLANK, M.F.A. Radical scavenging activity of the essential oils from *Croton grewoides* Baill accessions and the major compounds eugenol, methyl eugenol and chavicol. **J. Essential Oil Research.**, v. 33, p. 94-103, 2020.

PEREIRA, A.I.A.; SILVA, R.B.; TAVARES, W.S.; MALAQUIAS, J.B.; ZANUNCIO, J.C. Lightweight males of *Podisus nigrispinus* (Heteroptera: Pentatomidae) neglect lightweight females due low reproductive fitness. **Braz. J. Biol.**, v. 77, p. 267-276, 2017.

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

REGNAULT-ROGER, C.; VINCENT, C.; ARNASON, J.T. Essential oils in insect control: low-risk products in a high-stakes world. **Annu. Rev. Entomol.**, v. 57, p. 405-424, 2012.

RESENDE, G.C.; ALVARENGA, E.S.; ARAÚJO, T.A.; CAMPOS, J.N.D.; PICANÇO, M.C. Toxicity to *Diaphania hyalinata*, selectivity to non-target species and phytotoxicity of furanones and phthalide analogues. **Pest Manag. Sci.**, v. 72, p. 1772-1777. 2016.

SILVA, C.G.; ZAGO, H.B.; JÚNIOR, H.J.G.S.; CAMARA, C.A.; OLIVEIRA, J.V.; BARROS, R.; SCHWARTZ, M.O.E.; LUCENA, M.F.F. Composição e atividade inseticida do óleo essencial de *Croton grewoides* Baill. contra o gorgulho do feijão mexicano (*Zabrotes subfasciatus* Boheman). **Journal of Essential Oil Research**, v. 20, p. 179-182, 2008.

SILVA, G. A.; PICANÇO, M. C.; BACCI, L.; CRESPO, A. L. B.; ROSADO, J. F.; GUEDES, R. N. C. Control failure likelihood and spatial dependence of insecticide resistance in the tomato pinworm, *Tuta absoluta*. **Pest Management Science**, v. 67, n. 8, p. 913-920, 2011.

SILVA, J. S.; SALES, M.F.; GOMES, A.P.S.; CARNEIRO-TORRES, D.S. Sinopse das espécies de *Croton* L. (Euphorbiaceae) no estado de Pernambuco, Brasil. **Acta Botanica Brasilica**, v. 24, p. 441-453, 2010.

SOUZA, A. V. V. D.; DE BRITTO, D.; SOARES DOS SANTOS, U.; DOS PASSOS BISPO, L.; CRISTINA CASANOVA TURATTI, I.; PEPORINE LOPES, N.; ROBERTO, G. DA S. A. J. Influence of season, drying temperature and extraction time on the yield and chemical composition of 'marmeleiro' (*Croton sonderianus*) essential oil. **Journal of Essential oil research**, v. 29, n. 1, p. 76-84, 2017.

SPECHT, A.; PAULA-MORAES, S.V.; SOSA-GÓMEZ, D.R. Hosts plants of *Chrysodeixis includens* (Walker) (Lepidoptera: Noctuidae: Plusiinae). **Rev. Bras. Entomol**, v. 59, p. 343-345, 2015.

STACKE, R. F.; GIACOMELLI, T.; BRONZATTO, E. S.; HALBERSTADT, S. A.; GARLET, C. G.; MURARO, D. S.; BERNARDI, O. Susceptibility of Brazilian populations of *Chrysodeixis includens* (Lepidoptera: Noctuidae) to selected insecticides. **Journal of Economic Entomology**, v. 112, n. 3, p. 1378-1387, 2019.

STACKE, R.F.; GODOY, D.N.; PRETTO, V.E.; FÜHR, F.M.; GUBIANI, P.S.; HETTWER, B.L.; GARLET, C.G.; SOMAVILLA, J.C.; MURARO, D.S.; BERNARDI, O. Field-evolved resistance to chitin synthesis inhibitor insecticides by soybean looper, *Chrysodeixis includens* (Lepidoptera: Noctuidae), in Brazil. **Chemosphere**, doi: 10.1016/j.chemosphere.2020.127499, 2020.

SUJII, E. R.; BESERRA, V. A.; RIBEIRO, P. H.; DA SILVA-SANTOS, P. V.; PIRES, C. S. S.; SCHMIDT, F. G. V.; LAUMANN, R. A. Comunidade de inimigos naturais e controle biológico natural do pulgão, *Aphis gossypii* glover (Hemiptera: Aphididae) e do curuquerê, *Alabama argillacea* hübnler (Lepidoptera: Noctuidae) na cultura do algodoeiro no Distrito Federal. **Arquivos do Instituto Biológico**, v. 74, p. 329-336, 2022.

TAN, K.H.; NISHIDA, R. Methyl eugenol: its occurrence, distribution, and role in nature especially in relation to insect behavior and pollination. **J. Insec. Sci.** v. 12, p. 56, 2012.

THOMAS, J. D.; OTTEA, J. A.; BOETHEL, D. J.; IBRAHIM, S. Factors influencing pyrethroid resistance in a permethrin-selected strain of the soybean looper, *Pseudoplusia includens* (Walker). **Pesticide Biochemistry and Physiology**, v. 55, n. 1, p. 1-9, 1996.

VACARI, A. M.; OTUKA, A. K.; DE BORTOLI, S. A. Desenvolvimento de *Podisus nigrispinus* (Dallas, 1851)(Hemiptera: Pentatomidae) alimentado com lagartas de *Diatraea saccharalis* (Fabricius, 1794)(Lepidoptera: Crambidae). **Arquivos do Instituto Biológico**, v. 74, n. 3, p. 259-265, 2007.

VIVAN, L. M.; TORRES, J. B.; VEIGA, A. F. D. S. L.; ZANUNCIO, J. C. Comportamento de predação e conversão alimentar de *Podisus nigrispinus* sobre a traça-do-tomateiro. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 37, p. 581-587, 2002.

WYCKHUYS, K. A.; LU, Y.; MORALES, H.; VAZQUEZ, L.L.; LEGASPI, J.C.; ELIOPOULOS, P. A.; HERNANDEZ, L.M. Current status and potential of conservation biological control for agriculture in the developing world. **Biological Control**, v. 65, n. 1, p. 152-167, 2013.

ZANUNCIO, J. C.; SILVA, C. A. D. D.; LIMA, E. R. D.; PEREIRA, F. F.; RAMALHO, F. D. S.; SERRÃO, J. E. Predation rate of *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae) larvae with and without defense by *Podisus nigrispinus* (Heteroptera: Pentatomidae). **Brazilian Archives of Biology and Technology**, v. 51, p. 121-125, 2008.

5. ANEXOS

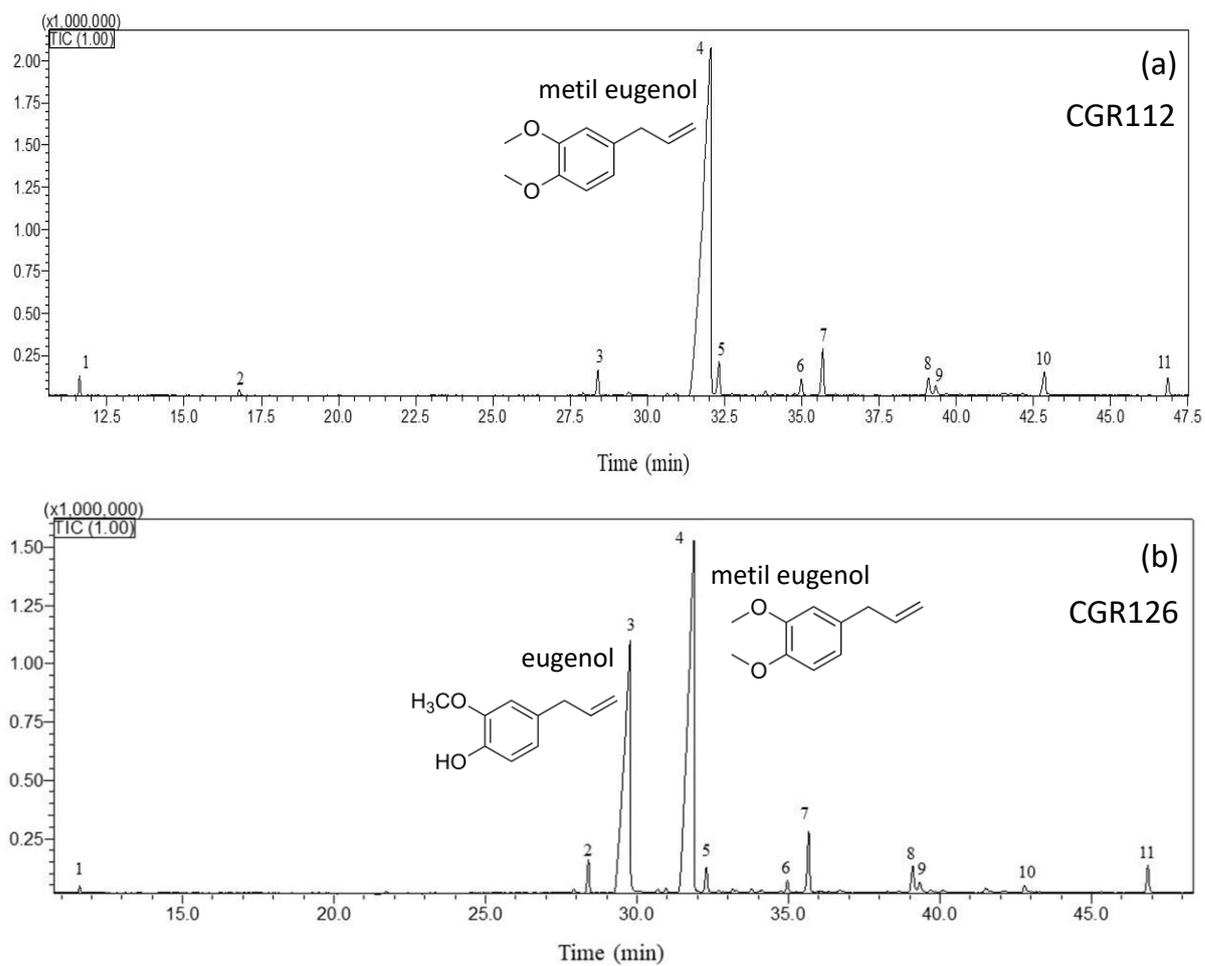


Fig. 1. Cromatogramas dos óleos essenciais dos acessos CGR112 (a) e CGR126 (b) de *Croton grewoides*.

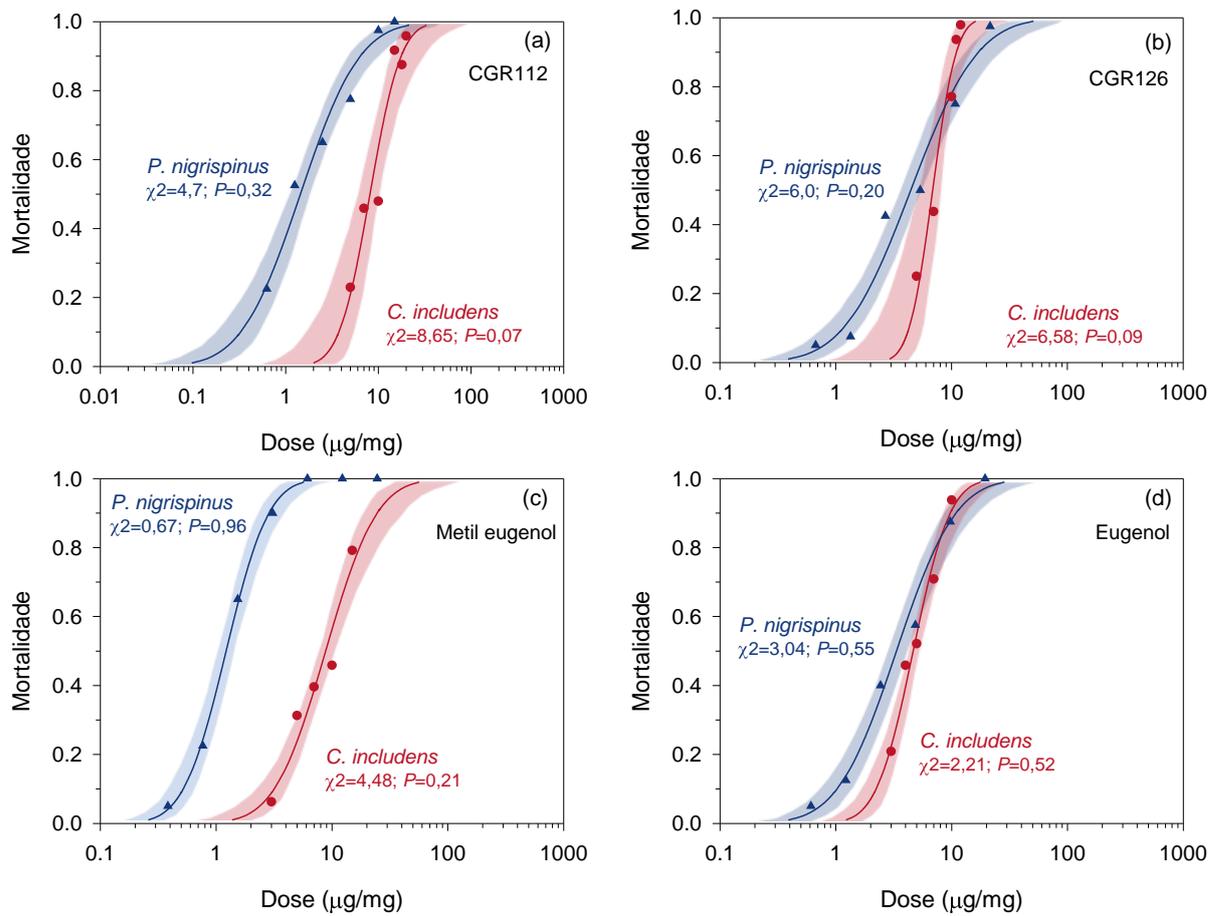


Fig. 2. Toxicidade e seletividade por aplicação tópica dos óleos essenciais dos acessos CGR112 (a) e CGR126 (b) de *Croton grewoides* e seus compostos majoritários metil eugenol (c) e eugenol (d) sobre lagartas de 2^o instar de *Chrysodeixis includens* (vermelho) e ninfas de 3^o instar de *Podisus nigrispinus* (azul). As doses letais (escala logarítmica) foram estimadas com base em bioensaios dose-resposta usando análise de probit. As áreas sombreadas representam intervalos de confiança de 95%. Círculos e triângulos indicam as médias das mortalidades observadas nos bioensaios para *C. includens* e *P. nigrispinus*, respectivamente. $N=240$ para cada tratamento e espécie.

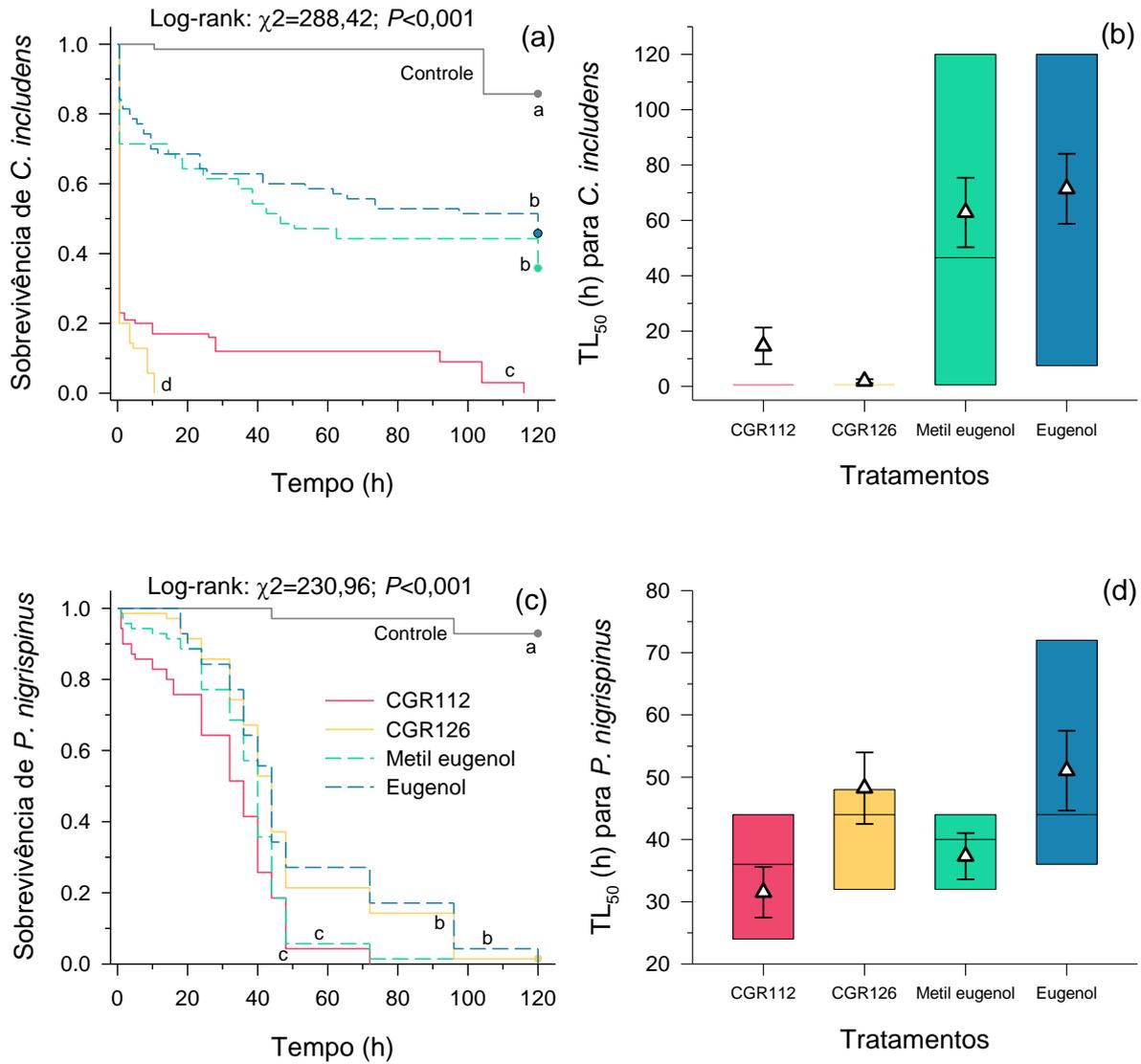


Fig. 3. Curvas de sobrevivência e tempo letal (TL₅₀) de lagartas de 2º instar de *Chrysodeixis includens* (a, b) e ninfas de 3º instar de *Podisus nigrispinus* (c, d) expostas às DLs₉₀ (ver Fig. 1) dos óleos essenciais dos acessos CGR112 e CGR126 de *Croton grewoides* e seus compostos majoritários metil eugenol e eugenol. TL₅₀ = tempo letal necessário para matar 50% da população. Curvas de sobrevivência seguidas pela mesma letra não diferem significativamente pelo método de Holm-Sidak. As extremidades das caixas representam os percentis 25 e 75% e a linha dentro da caixa a mediana. Os triângulos brancos representam a média e as linhas do erro o intervalo de confiança a 95%.

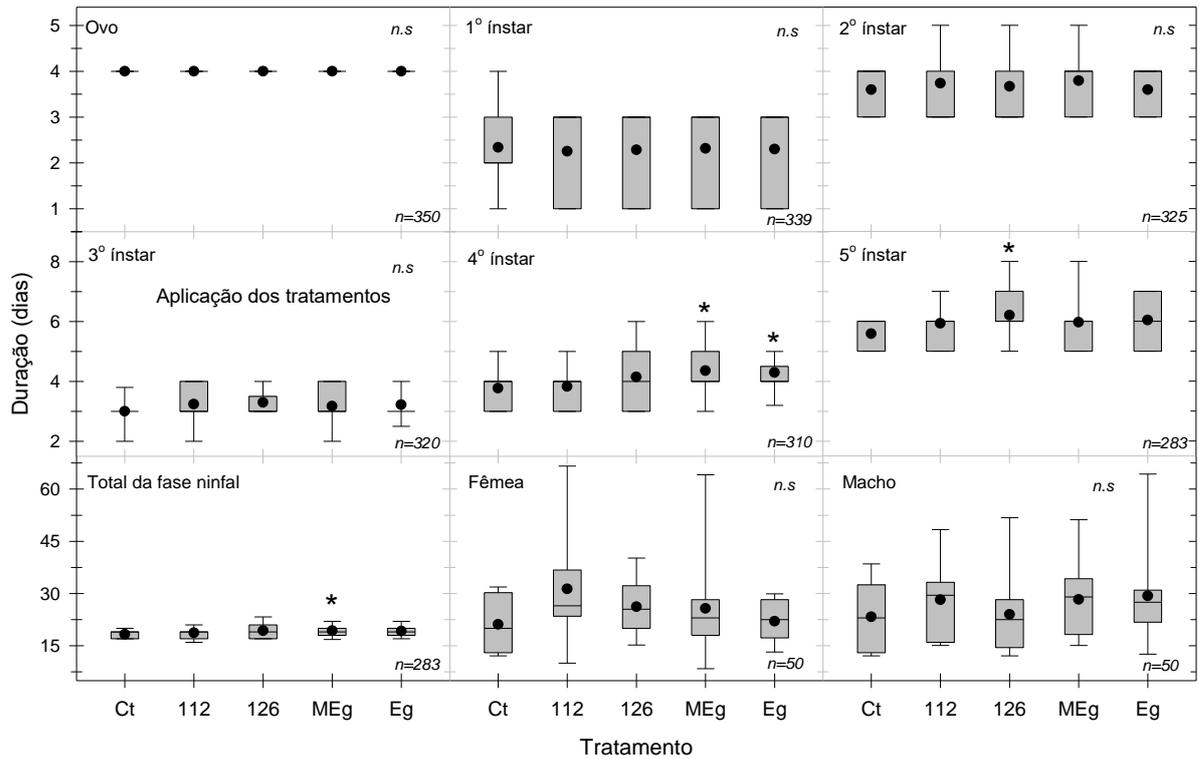


Fig. 4. Duração da fase de ovo; ninfas de 1º, 2º, 3º, 4º e 5º ínstars; total da fase ninfal e longevidade de fêmeas e machos de *Podisus nigrispinus* após a exposição das ninfas de 3º instar às DLs₃₀ dos óleos essenciais dos acessos CGR112 e CGR126 de *Croton grewoides* e seus compostos majoritários metil eugenol e eugenol. As linhas do erro representam os percentis 10 e 90 e as extremidades da caixa os percentis 25 e 75. A linha sólida dentro da caixa representa a mediana e o círculo preto a média. Médias com asterisco diferem do controle pelo método de comparação múltipla não-paramétrico de Dunn's a $P < 0,05$. Ct=controle, 112=acesso CGR112, 126=acesso CGR126, MEg=metil eugenol e Eg=eugenol.

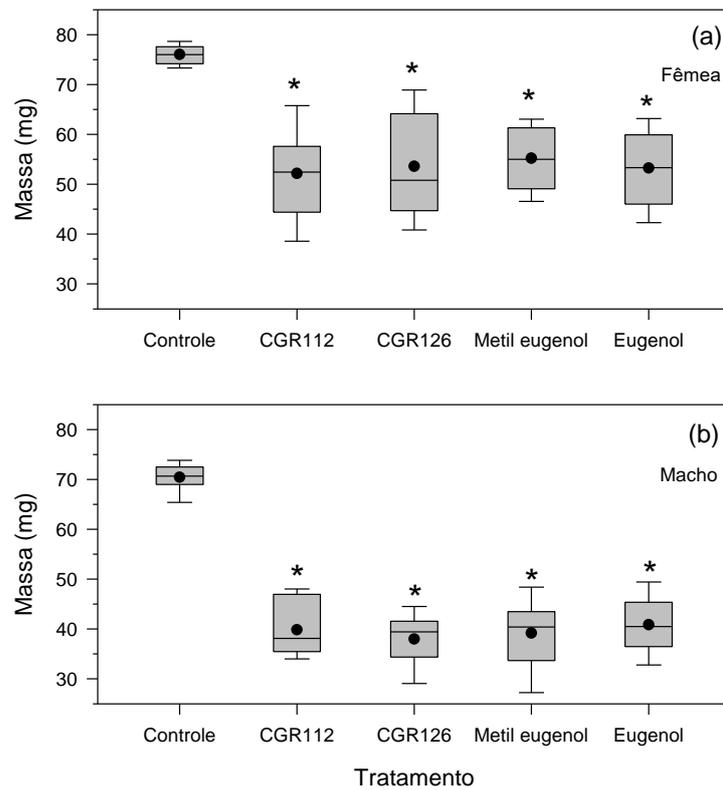


Fig. 5. Massa de fêmeas (a) e machos (b) de *Podisus nigrispinus* após exposição do 3º instar às DLs₃₀ dos óleos essenciais dos acessos CGR112 e CGR126 de *Croton grewoides* e seus compostos majoritários metil eugenol e eugenol. As linhas do erro representam os percentis 10 e 90 e as extremidades da caixa os percentis 25 e 75. A linha sólida dentro da caixa representa a mediana e o círculo preto a média. Médias seguidas por asterisco diferem do controle pelo método de comparação múltipla não-paramétrico de Dunn's $P < 0,05$.

Tabela 1. Parâmetros reprodutivos de *Podisus nigrispinus* após exposição de ninfas de 3º instar às DLs₃₀ dos óleos essenciais dos acessos CGR112 e CGR126 de *Croton grewoides* e seus compostos majoritários metil eugenol e eugenol.

Parâmetro reprodutivo	Tratamento				
	Controle	CGR112	CGR126	Metil eugenol	Eugenol
Período de pré-oviposição (dias) ^a	2,8 (±0,20)	2,7 (±0,26)	2,6 (±0,27)	4,4 (±0,65)	5,3 * (±1,25)
Período de oviposição (dias) ^{a n.s.}	17,3 (±2,48)	20,9 (±3,16)	16,3 (±3,51)	18,3 (±2,88)	21,9 (±4,03)
Número de ovos/fêmea ^b	189,9 (±5,71)	183,8 (±16,13)	151,8 (±22,29)	126,9 * (±15,83)	135,3 (±19,52)
Número de massas/fêmea ^{b n.s.}	12,0 (±1,07)	12,4 (±1,46)	10,5 (±1,62)	8,7 (±0,78)	9,3 (±1,16)
Número de ovos/massa de ovos ^{b n.s.}	16,76 (±1,21)	15,27 (±0,76)	14,76 (±0,79)	14,38 (±0,97)	14,66 (±0,81)
Número de ninfas / fêmea ^b	163,5 (±5,71)	160,4 (±14,33)	132,5 (±19,38)	109,9 * (±14,27)	116,6 (±17,15)
Número de ninfas/massa de ovos ^{b n.s.}	14,42 (±1,05)	13,30 (±0,66)	12,91 (±0,71)	12,42 (±0,89)	12,61 (±0,68)
Incubação dos ovos (dias) ^a	4,06 (±0,03)	4,04 (±0,02)	4,40 * (±0,06)	4,08 (±0,04)	4,04 (±0,03)
Viabilidade dos ovos (%) ^{b n.s.}	86,01 (±0,81)	87,12 (±1,01)	87,39 (±0,52)	86,25 (±0,76)	86,12 (±0,64)

^a Médias (±erro padrão) com asterisco diferem do controle pelo método de comparação múltipla não-paramétrico de Dunn's a $P < 0,05$. ^b Médias (±erro padrão) com asterisco diferem do controle pelo teste de Dunnett's a $P < 0,05$.

^{n.s.} não significativo a 5% de probabilidade.

Tabela 2. Parâmetros de tabela de vida de *Podisus nigrispinus* após exposição de ninfas de 3º instar às DLs₃₀ dos óleos essenciais dos acessos CGR112 e CGR126 de *Croton grewoides* e seus compostos majoritários metil eugenol e eugenol.

Parâmetros de tabela de vida	Tratamento				
	Controle	CGR112	CGR126	Metil eugenol	Eugenol
Taxa líquida reprodutiva (R_0) ^a	80,03 (±2,41)	69,58 (±6,11)	60,72 (±8,92)	51,67* (±6,45)	56,05 (±8,08)
Taxa intrínseca de aumento (r_m) (dia) ^a	0,143 (±0,002)	0,132 (±0,004)	0,131 (±0,005)	0,112* (±0,005)	0,106* (±0,007)
Tempo médio de geração (T) (dia) ^b	30,67 (±0,65)	32,06 (±1,34)	30,88 (±1,57)	35,06 (±1,62)	38,16* (±2,57)
Tempo de duplicação (TD) (dia) ^b	4,85 (±0,09)	5,28 (±0,17)	5,33 (±0,20)	6,33* (±0,36)	6,78* (±0,49)
Razão finita de aumento (λ) (dia) ^a	1,15 (±0,003)	1,14 (±0,005)	1,14 (±0,006)	1,12* (±0,006)	1,11* (±0,008)

^a Médias (±erro padrão) com asterisco diferem do controle pelo método de comparação múltipla não-paramétrico de Dunn's a $P < 0,05$. ^b Médias (±erro padrão) com asterisco diferem do controle pelo teste de Dunnett's a $P < 0,05$.

6. Considerações finais

Este estudo revela a compatibilidade do óleo essencial de *C. grewoides* (CGR126) com o percevejo predador *P. nigrispinus*. Além disso, o composto botânico eugenol se mostrou eficiente para o controle de *C. includens*.