



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

***Lippia gracilis* E SEUS COMPOSTOS MAJORITÁRIOS:
EFEITOS NA SOBREVIVÊNCIA, BIOLOGIA E
COMPORTAMENTO DE *Euschistus heros***

SWAMY ROCHA SIQUEIRA ABREU TAVARES

2023



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

SWAMY ROCHA SIQUEIRA ABREU TAVARES

***Lippia gracilis* E SEUS COMPOSTOS MAJORITÁRIOS:
EFEITOS NA SOBREVIVÊNCIA, BIOLOGIA E
COMPORTAMENTO DE *Euschistus heros***

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

Orientador
Prof. Dr. Leandro Bacci

SÃO CRISTÓVÃO
SERGIPE – BRASIL
2023

FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA BIBLIOTECA CENTRAL
UNIVERSIDADE FEDERAL DE SERGIPE

T2311 Tavares, Swamy Rocha Siqueira Abreu.
Lippia gracilis e seus compostos majoritários: efeitos na sobrevivência, biologia e comportamento de *Euschistus heros* / Swamy Rocha Siqueira Abreu Tavares; orientador Leandro Bacci – São Cristóvão, SE, 2023.
86 f.; il.

Tese (doutorado em Agricultura e Biodiversidade) –
Universidade Federal de Sergipe, 2023.

1. Agricultura. 2. Pragas. 3. Essência e óleos essenciais. 4. Toxicologia. 5. Inseticidas. I. *Lippia gracilis*. II. Bacci, Leandro, orient. III. Título.

CDU 633.812

SWAMY ROCHA SIQUEIRA ABREU TAVARES

***Lippia gracilis* E SEUS COMPOSTOS MAJORITÁRIOS:
EFEITOS NA SOBREVIVÊNCIA, BIOLOGIA E
COMPORTAMENTO DE *Euschistus heros***

Tese apresentada à Universidade Federal de Sergipe, como parte das exigências do Curso de Doutorado em Agricultura e Biodiversidade, área de concentração em Agricultura e Biodiversidade, para obtenção do título de Doutora em Ciências”.

APROVADA em 25 de agosto de 2023.

Dr. Alisson da Silva Santana	UNL
Dra. Ana Paula Albano Araújo	UFS
Dr. Gerson Adriano Silva	UENF
Dr. Jefferson Elias da Silva	UFS

Prof. Dr. Leandro Bacci
(Orientador)

SÃO CRISTÓVÃO
SERGIPE – BRASIL

Aos meus avós Evalda e Sandoval.
Dedico

AGRADECIMENTOS

A Deus, por não esquecer de sua filha, me manter determinada e sempre feliz, mesmo nos momentos difíceis.

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

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), pelos recursos financeiros para a realização deste trabalho.

Ao meu orientador, professor Dr. Leandro Bacci, por toda dedicação, conselhos, confiança e auxílio em minha formação acadêmica. À professora Dra. Ana Paula Albano Araújo, pela colaboração na escrita e correções. Ao professor Dr. Jefferson Elias da Silva pelos ensinamentos e auxílio com experimentos e escrita.

Aos meus pais Jailson Tavares e Rosângela da Rocha, que me criaram com muito amor e carinho, e me educaram para saber que meu lugar é onde eu desejo estar. Para vocês “meu amor infinito, amor mais bonito, amor sem limites”. Saibam que, mesmo que eu quisesse, não conseguiria retribuir todo amor dedicado a mim.

Aos meus avós paternos *in memoriam* Clodoaldo Tavares e Maria Eulina, e maternos Sandoval Barbosa e Evalda da Rocha, que são minha base, sempre me incentivando e orgulhosos de todas as conquistas. Às minhas tias, tio maternos e irmão Swan Rocha, sempre presentes em todas as ocasiões, aconselhando e motivando. Ao meu companheiro Anderson, que nunca largou minha mão e nunca me permitiu desistir.

A todos que constituem a Clínica Fitossanitária, Tainara, Camilla, Sandy, Lucas e Rômulo pela disponibilidade, trabalho (sem quebrar placas petri) e risadas. Em especial a Valfran e Heloisa, sou tão grata pela amizade de vocês, por todo carinho e zelo que sempre tiveram comigo, todas as lágrimas que secaram, surtos que aturaram (antes das 8 da manhã). Nada seria possível sem a contribuição de vocês, acho que é de bom tom eu dizer o quanto aprendi e como são importantes para mim, obrigada!

Às pessoas especiais que a UFS colocou em meu caminho Ana Paula, Emile, Itamara, Fernanda, Edson. Em especial, Aline Marques a quem sempre tive enorme carinho, e que nunca mediu esforços para contribuir com sugestões e ensinamentos.

À banca examinadora, pela disponibilidade e contribuições para esta tese.

BIOGRAFIA

SWAMY ROCHA SIQUEIRA ABREU TAVARES, filha de Jailson Tavares Abreu Costa e Rosângela da Rocha Siqueira Tavares, nascida em 26 de janeiro em Arapiraca, Alagoas, Brasil.

No ano de 2017 graduou-se em Agronomia pela Universidade Federal de Alagoas. Durante a graduação, foi bolsista de iniciação científica e monitora na área de Entomologia Agrícola. No ano de 2016 foi premiada com Excelência Acadêmica-PIBIC pelo trabalho apresentado.

Em 2019 obteve o título de mestre em Fitossanidade pela Universidade Federal de Pelotas, UFPel. No corrente ano ingressou no doutorado na Universidade Federal de Sergipe, pelo Programa de Pós-Graduação em Agricultura e Biodiversidade, UFS.

SUMÁRIO

	Página
LISTA DE FIGURAS	i
LISTA DE TABELAS	
LISTA DE ABREVIATURAS, SÍMBOLOS E SIGLAS	
RESUMO	
ABSTRACT	
1. INTRODUÇÃO GERAL	1
2. REVISÃO DE LITERATURA	2
2.1 Cultura da soja e perdas na produtividade.....	2
2.2 <i>Euschistus heros</i> como praga emergente na cultura da soja.....	2
2.3 Controle de <i>E. heros</i>	3
2.3.1 Resistência a inseticidas.....	3
2.3.2 Controle Biológico.....	5
2.3.3 Resistência de plantas.....	5
2.4 Óleos essenciais de plantas e propriedades bioativas.....	5
2.4.1 <i>Lippia gracilis</i> e seus quimiotipos.....	7
2.5 Compostos majoritários: timol e carvacrol.....	7
2.6 Efeitos subletais.....	8
2.6.1 Comportamento.....	9
2.6.2 Reprodução.....	10
2.7 Tabela de vida.....	11
3. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	12
4. ARTIGO 1: Explorando óleos essenciais de diferentes quimiotipos de <i>Lippia gracilis</i> para mitigar sobrevivência e reprodução de <i>Euschistus heros</i>	29
Resumo.....	29
4.1. Introdução	31
4.2. Material e Métodos	32
4.2.1 Obtenção dos insetos e manutenção da criação.....	32
4.2.2 Obtenção dos compostos.....	32
4.2.3 Bioensaios.....	32
4.2.3.1 Concentração-mortalidade.....	33
4.2.3.2 Curva de sobrevivência e tempo letal.....	33
4.2.3.3 Parâmetros biológicos.....	34
4.2.3.4 Tabela de vida de fertilidade.....	34
4.2.3.5 Preferência olfativa.....	34
4.2.4 Análise estatística.....	34
4.3. Resultados	35
4.3.1 Caracterização dos OEs.....	35
4.3.2 Toxicidade.....	35
4.3.3 Desenvolvimento e longevidade.....	36
4.3.4 Massa.....	36
4.3.5 Parâmetros reprodutivos.....	36
4.3.6 Parâmetros demográficos.....	36
4.4. Discussão	37
4.5. Referencias Bibliográficas	39
5. ARTIGO 2: Alterações comportamentais do percevejo-marro <i>Euschistus heros</i> mediante exposição aos óleos essenciais de <i>Lippia gracilis</i> e seus compostos majoritários	54
Resumo.....	54

5.1. Introdução	56
5.2. Material e Métodos	56
5.2.1 Obtenção dos compostos e análises químicas.....	56
5.2.2 Obtenção dos compostos e análises químicas.....	57
5.2.3 Bioensaios.....	57
5.2.3.1 Concentração-mortalidade.....	57
5.2.3.2 Repelência/irritabilidade e caminhamento.....	58
5.2.3.3. Autolimpeza.....	58
5.2.4 Análises estatísticas.....	59
5.3. Resultados	59
5.3.1 Toxicidade.....	59
5.3.2 Repelência/irritabilidade.....	59
5.3.3 Caminhamento.....	59
5.3.4 Autolimpeza.....	60
5.4. Discussão.....	60
5.5. Referências Bibliográficas	62
6. CONSIDERAÇÕES FINAIS	71

LISTA DE FIGURAS

ARTIGO 1

Figura	Página
1	64
<p>Curvas de sobrevivência e tempo letal (TL₅₀) para ninfas de terceiro instar de <i>Euschistus heros</i> após exposição de ninfas de terceiro instar às CL₃₀ dos quimiotipos timol (EO LgThy) e carvacrol (EO LgCar) de <i>Lippia gracilis</i>, seus compostos majoritários timol (Thy e Car) isolados e do inseticida imidacloprido (Imi). TL₅₀ = tempo letal necessário para matar 50% da população. Curvas seguidas pela mesma letra não diferem pelo teste de Holm-Sidak a $p < 0,05$.....</p>	
2	65
<p>Duração das fases de 3º, 4º, 5º instares; estágio ninfal total e longevidade de machos e fêmeas de <i>Euschistus heros</i> após a exposição de ninfas de terceiro instar aos óleos essenciais dos quimiotipos timol (EO LgThy) e carvacrol (EO LgCar) de <i>Lippia gracilis</i>, seus compostos majoritários timol (Thy e Car) isolados e do inseticida imidacloprido (Imi). As médias seguidas por um asterisco diferem do controle pelo método de comparação múltipla não paramétrica de Dunn's $P < 0,05$.</p>	
3	66
<p>Massa das fêmeas (a) e dos machos (b) de <i>Euschistus heros</i> após a exposição de ninfas de terceiro instar aos óleos essenciais dos quimiotipos timol (EO LgThy) e carvacrol (EO LgCar) de <i>Lippia gracilis</i>, seus compostos majoritários timol (Thy e Car) isolados e do inseticida imidacloprido (Imi). As médias seguidas por um asterisco diferem do controle pelo método de comparação múltipla não paramétrica de Dunn's $P < 0,05$.</p>	
4	69
<p>Resposta olfativa de machos de <i>Euschistus heros</i> a áreas tratadas com as CL₉₀ dos óleos essenciais dos quimiotipos timol (EO LgThy) e carvacrol (EO LgCar) de <i>Lippia gracilis</i> e seus compostos majoritários (Thy e Car) e do inseticida imidacloprido. Histogramas seguidos por asterisco indicam que houve diferença na escolha dos machos entre os lados de cada braço do olfatômetro de tubo Y durante um período de 600 s, pelo teste exato de Fisher ($P < 0,05$). EO LgThy = óleo essencial de <i>Lippia gracilis</i> quimiotipo timol; EO LgCar = óleo essencial de <i>Lippia gracilis</i> quimiotipo carvacrol; Thy = timol; Car = carvacrol e Imi = imidacloprido.....</p>	

ARTIGO 2

Figura		Página
1	<p>Toxicidade dos óleos essenciais dos quimiotipos timol (EO <i>LgThy</i>) e carvacrol (EO <i>LgCar</i>) de <i>Lippia gracilis</i>, seus compostos majoritários isolados e do inseticida imidacloprido sobre ninfas de terceiro instar de <i>Euschistus heros</i>. Histogramas representam as concentrações letais necessárias para matar 30, 50 e 90 % das populações e as linhas de erro os respectivos intervalos de confiança a 95%. A área sombreada indica a faixa do intervalo de confiança do controle positivo (imidacloprido). β= inclinação da curva \pm erro padrão.....</p>	84
2	<p>Tempo médio de permanência de ninfas de terceiro instar de <i>Euschistus heros</i> em cada lado da arena parcialmente tratadas com as CL30 dos óleos essenciais dos quimiotipos timol (EO <i>LgThy</i>) e carvacrol (EO <i>LgCar</i>) de <i>Lippia gracilis</i> e seus compostos majoritários (Thy e Car) e do inseticida imidacloprido. Histogramas seguidos por asterisco indicam que houve diferença no tempo de permanência das ninfas entre o lado tratado e o não tratado por um período de 600 s, pelo teste de Wilcoxon ($P < 0,05$). EO <i>LgThy</i> = óleo essencial de <i>Lippia gracilis</i> quimiotipo timol; EO <i>LgCar</i> = óleo essencial de <i>Lippia gracilis</i> quimiotipo carvacrol; Thy = timol; Car = carvacrol e Imi = imidacloprido.....</p>	85
3	<p>Comportamento de deslocamento de ninfas de terceiro instar de <i>Euschistus heros</i> expostas por 600 s às CL30 dos óleos essenciais dos quimiotipos timol (EO <i>LgThy</i>) e carvacrol (EO <i>LgCar</i>) de <i>Lippia gracilis</i> e seus compostos majoritários (Thy e Car) e do inseticida imidacloprido. Os círculos no gráfico representam 5° e 95° percentis. As linhas de erro representam os 10° 90° percentis e as bordas da caixa são os 25° e 75° percentis. As médias marcadas com asterisco diferem do controle pelo método de comparação múltipla paramétrica de Dunnett's ou não-paramétrica de Dunn's em $P < 0.05$. CRT = controle. EO <i>LgThy</i> = óleo essencial de <i>Lippia gracilis</i> quimiotipo timol; EO <i>LgCar</i> = óleo essencial de <i>Lippia gracilis</i> quimiotipo carvacrol; Thy = timol; Car = carvacrol e Imi = imidacloprido.....</p>	86
4	<p>Comportamento de autolimpeza do aparelho bucal de ninfas (A) e adultos (B e C) de <i>Euschistus heros</i> expostos aos óleos essenciais dos quimiotipos timol (EO <i>LgThy</i>) e carvacrol (EO <i>LgCar</i>) de <i>Lippia gracilis</i> e seus compostos majoritários (Thy e Car) e do inseticida imidacloprido. Os círculos no gráfico representam 5° e 95° percentis. As linhas de erro representam os 10° e 90° percentis e as bordas da caixa são os 25° e 75° percentis. . As médias marcadas com asterisco diferem do controle pelo método de comparação múltipla paramétrica de Dunnett's ou não-paramétrica de Dunn's em $P < 0.05$. CRT = controle. EO <i>LgThy</i> = óleo essencial de <i>Lippia gracilis</i> quimiotipo timol; EO <i>LgCar</i> = óleo essencial de <i>Lippia gracilis</i> quimiotipo carvacrol; Thy = timol; Car = carvacrol e Imi = imidacloprido.....</p>	87

LISTA DE TABELAS

ARTIGO 1

Tabela		Página
1	Composição dos óleos essenciais de dois acessos de <i>L. gracilis</i> (LgThy) e LgCarv).....	62
2	Toxicidade dos óleos essenciais dos quimiotipos timol e carvacrol de <i>Lippia gracilis</i> , seus compostos majoritários isolados e do inseticida imidacloprido bre ninfas de terceiro instar de <i>Euschistus heros</i>	63
3	Média (\pm erro padrão) dos parâmetros reprodutivos de <i>Euschistus heros</i> após exposição de ninfas de terceiro instar às CL ₃₀ dos quimiotipos timol e carvacrol de <i>Lippia gracilis</i> , seus compostos majoritários isolados e do inseticida imidacloprido.	67
4	Média (\pm erro padrão) dos parâmetros de tabela de vida de <i>Euschistus heros</i> após exposição de ninfas de terceiro instar às CL ₃₀ dos quimiotipos timol e carvacrol de <i>Lippia gracilis</i> , seus compostos majoritários isolados e do inseticida imidacloprido.	68

LISTA DE ABREVIATURAS, SÍMBOLOS E SIGLAS

PIB	Produto interno bruto
OEs	Óleos essenciais de plantas
MIP	Manejo Integrado de Pragas
PVs	Substâncias voláteis de plantas
GPP	Geranyl Pirofosfato
TPS	Enzima terpenoide sintase
LgThy	Quimiotipo de <i>L. gracillis</i> timol
LgCarv	Quimiotipo de <i>L. gracillis</i> carvacrol

RESUMO

TAVARES, Swamy Rocha Siqueira Abreu. *Lippia gracilis* e seus compostos majoritários: efeitos na sobrevivência, biologia e comportamento de *Euschistus heros*. São Cristóvão: UFS, 2023. 86p. (Tese –Doutorado em Agricultura e Biodiversidade).

Euschistus heros (Hemiptera:Pentatomidade) é um dos fitófagos mais expressivos encontrados em áreas de soja. Sua importância remete aos danos diretos ocasionados nas vagens das plantas, reduzindo a viabilidade das sementes, viabilidade dos grãos e o rendimento de óleo. O percevejo também ocasiona um desequilíbrio fisiológico conhecido como ‘soja louca’, que dificulta a colheita dos grãos. Atualmente, a principal medida empregada para seu controle é o uso de inseticidas sintéticos, incluindo os neonicotinoides como o imidacloprido; essa molécula é amplamente difundida para o seu manejo, embora falhas de controle em áreas de cultivo sejam relatadas. Isso se deve, provavelmente, a problemas relacionados à resistência. Como forma de encontrar novas moléculas inseticidas, o presente estudo avaliou os efeitos de doses subletais de óleos essenciais de acessos de *Lippia gracilis*, dos seus compostos majoritários timol e carvacrol, e do inseticida comercial imidacloprido na sobrevivência, nos parâmetros biológicos, demográficos e comportamentais do percevejo-marrom-da-soja. No primeiro capítulo, foi avaliado o efeito de uma concentração subletal dos óleos de *L. gracilis* quimiotipo timol e carvacrol, seus respectivos majoritários e imidacloprido no desenvolvimento, reprodução e nos parâmetros demográficos do percevejo. Entre os tratamentos avaliados, o composto majoritário timol e o inseticida comercial foram mais tóxicos para as ninfas de terceiro instar. Além disso, o timol reduziu significativamente o estágio ninfal, a quantidade de ninfas e a viabilidade dos ovos, enquanto o inseticida sintético manteve a mesma viabilidade do grupo controle. O timol também afetou os parâmetros da tabela de vida, reduzindo a taxa intrínseca de crescimento e a razão finita de aumento, além de aumentar o tempo necessário para a duplicação e o tempo médio de geração. No segundo capítulo, avaliamos os efeitos dos tratamentos no comportamento. De maneira geral, os óleos essenciais e seus compostos majoritários causaram irritabilidade nas ninfas e adultos do percevejo. Além disso, foram observadas alterações nos padrões de comportamento, onde o timol reduziu a velocidade média e a distância percorrida, aumentando a velocidade angular e os meandros. O inseticida manteve um comportamento similar ao grupo controle. A quantidade de autolimpeza também foi influenciada pelos tratamentos: em ninfas, todos os óleos e compostos majoritários aumentaram a quantidade de limpezas, enquanto que em adultos, apenas os óleos essenciais interferiram nesse processo.

Palavras-chave: ecotoxicologia, óleos essenciais, efeitos subletais, parâmetros demográficos, autogrooming.

* Comitê Orientador: Leandro Bacci – UFS (Orientador), Ana Paula Albano Araújo – UFS (Coorientadora).

ABSTRACT

TAVARES, Swamy Rocha Siqueira Abreu. *Lippia gracilis* and its major compounds: effects on survival, biology, and behavior of *Euschistus heros*. São Cristóvão: UFS, 2023 86p. (Dissertation – Doctor of Science in Agriculture and Biodiversity).

Euschistus heros (Hemiptera: Pentatomidae) is one of the most prominent phytophagous insects found in soybean areas. Its importance lies in the direct damage it causes to the plant pods, reducing seed viability, grain quality, and oil yield. The brown stink bug also leads to a physiological imbalance known as “crazy soybean”, which hinders grain harvest. The primary control method has been the use of synthetic insecticides, including neonicotinoids such as imidacloprid. Although this molecule is widely used for stink bug management, control failures in soybean growing areas have been reported, likely due to issues related to resistance. To discover new insecticidal molecules, the present study evaluated the effects of sublethal doses of essential oils from *Lippia gracilis* accessions, of the major compounds of *Lippia gracilis* – thymol and carvacrol, and of the commercial insecticide imidacloprid on the survival and on the biological, demographic, and behavioral parameters of the brown stink bug in soybean. In the first chapter, we evaluated the effect of a sublethal concentration of the essential oils of the *L. gracilis* chemotypes thymol and carvacrol, of their respective major compounds, and of imidacloprid on the development, reproduction, and demographic parameters of the insect. Among the treatments assessed, the major compound thymol and the commercial insecticide were most toxic to third-instar nymphs. Additionally, this major compound significantly reduced the nymphal stage, the number of nymphs, and egg viability, whereas the synthetic insecticide maintained the same viability as the control. Furthermore, thymol affected the life table parameters of the insect, reducing the intrinsic growth rate and the finite rate of increase, as well as extending the doubling time and average generation time. In the second chapter, we evaluated the effects of the treatments on behavior. In general, the essential oils and the major compounds caused irritability in nymphs and adults. Furthermore, changes in behavior patterns were observed; thymol reduced the average speed and distance traveled, while increasing angular speed and meandering behavior. The insecticide effects were similar to those of the control. In nymphs, all the oils and the major compounds increased the frequency of cleaning. For adults, only essential oils interfered with this process.

Keywords: ecotoxicology, essential oils, sublethal effects, demographic parameters, grooming

* Guidance Committee: Leandro Bacci (Advisor), Ana Paula Albano Araújo (Co-advisor).

1. INTRODUÇÃO GERAL

A soja tem se destacado na economia por ser uma das culturas oleaginosas mais produzidas mundialmente (Bianco *et al.*, 2012). No Brasil, somente no ano de 2022 a expansão do cultivo de soja gerou um aumento no PIB agrícola em torno de 6% (Pellegrina, 2022). No entanto, a produção da soja enfrenta sérios problemas fitossanitários, principalmente em relação ao ataque de insetos-praga. Várias características do atual sistema produtivo favorecem a proliferação destes insetos, incluindo a disponibilidade de recurso alimentar ao longo de todo o ano, a implementação de culturas transgênicas *Bt* que permitiram o controle populacional de lepidópteros e, conseqüentemente, menos aplicação de inseticidas, adicionado à falta de toxicidade do *Bt* sobre percevejos, além de características genômicas das próprias populações, podem ser responsáveis pelos surtos do hemíptero (Bueno *et al.*, 2015; Panizzi, 2013; Zucchi *et al.*, 2019). O incremento populacional de insetos-praga pode ser evidenciado pelo percevejo-marrom, *Euschistus heros*, que até o ano de 1970 apresentava baixa ocorrência no Brasil (Panizzi, 1997). Atualmente, tem se tornado uma das maiores ameaças à soja, inclusive nas principais zonas agrícolas do país (Hickmann *et al.*, 2022; Panizzi, 2013; Soares *et al.*, 2018; Soria *et al.*, 2017; Tillman *et al.*, 2009).

Euschistus heros se alimenta principalmente de vagens e sementes imaturas, ocasionando má formação, redução do vigor e atraso na maturação de grãos e sementes. As injúrias ocorrem pela inserção do seu aparelho bucal (estilete) nas plantas promovendo a injeção de enzimas digestivas, que podem degradar o tecido vegetal e causar o seu escurecimento, além de servir como porta de entrada para microrganismos fitopatogênicos (Corrêa-Ferreira e Azevedo, 2002; Tessmer *et al.*, 2022).

O controle populacional desse percevejo é realizado, principalmente, por meio do uso de inseticidas sintéticos com restritos ingredientes ativos (Castellanos *et al.*, 2021; Sosa-Gómez e Silva, 2010; Santos *et al.*, 2016; Sosa-Gomez, Corso e Morales, 2001; Tuelher *et al.*, 2017).

Desta maneira, a busca por novas moléculas para o manejo de pragas agrícolas tem impulsionado a investigação de substâncias capazes de afetar a sobrevivência, biologia e comportamento de insetos indesejados. Nesse contexto, os óleos essenciais de plantas (OEs) e seus compostos majoritários têm sido apontados como uma promissora ferramenta de controle, devido às suas propriedades biológicas. Além do seu efeito tóxico, OEs de plantas e seus compostos majoritários podem ocasionar efeitos subletais positivos ou negativos em relação ao desenvolvimento, reprodução, comportamento ou sobrevivência dos insetos. Tais efeitos podem influenciar diretamente a flutuação populacional de insetos praga (Giatropoulos *et al.*, 2022; Kucuk e Kaplan, 2023; Peneder e Koschier, 2011).

Os OEs de plantas do gênero *Lippia*, por exemplo, têm sido estudados quanto ao seu potencial inseticida, fungicida e acaricida (Cruz *et al.*, 2013; Melo *et al.*, 2018, 2022; Penha *et al.*, 2021). A toxicidade de OEs de *L. gracilis* já foi relatada para diferentes espécies (Born *et al.*, 2018; Monteiro *et al.*, 2021; Oliveira *et al.*, 2022). No entanto, não se tem nenhuma informação sobre sua toxicidade sobre percevejos da soja.

Neste projeto, temos como objetivo avaliar a toxicidade e os efeitos subletais de quimiotipos de OEs de *L. gracilis* e de seus compostos majoritários timol e carvacrol, sob os parâmetros reprodutivos, demográficos e comportamentais do percevejo *E. heros*.

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1 Cultura da soja e perdas na produtividade

A soja, *Glycine max* (L.) (Fabaceae), é a principal planta oleaginosa cultivada, representando uma importante *commodity* com destaque na economia mundial. Tal importância deve-se, principalmente, ao uso da soja como matéria-prima pelas agroindústrias. A soja é utilizada como fonte de proteína e óleo (Bianco *et al.*, 2012) e compõe até 70% das rações animais (Wang *et al.*, 2016). Adicionalmente, a soja é considerada um recurso renovável e sustentável na produção de biocombustível (Woyann *et al.*, 2019). Atualmente, os valores de importação e exportação da soja ultrapassam os de milho (*Zea mays*), arroz (*Oryza sativa*) e trigo (*Triticum* spp.) (Niwińska *et al.*, 2020).

Os estados com maior produção de soja são: Mato Grosso, Paraná, Rio Grande do Sul e Goiás; responsáveis por cerca de 82% da produção do Brasil. No entanto, as áreas produtoras têm avançado para a região conhecida como MATOPIBA (estados do Maranhão, Tocantins, Piauí e Bahia), que compreendem 13% da produção atual (Gavioli, 2013). Esse cenário foi um dos responsáveis pelo aumento da área produzida nacionalmente em 2020, que compreendeu 37 milhões de ha, superior à dos Estados Unidos (33 milhões de ha). Esta expansão gerou um aumento de 6% no PIB agrícola brasileiro (Pellegrina, 2022). A importância econômica não se restringe aos produtores, também influencia na geração de renda de maneira direta e indireta (Castro, Miranda e Lima, 2013), além de avanços na especialização e inovação agrícola (Pellegrina, 2022).

Apesar destes avanços, a produtividade das lavouras de soja tem sido comumente ameaçada pelo ataque de insetos-praga, por exemplo, percevejos da família Pentatomidae, sobretudo as espécies *Nezara viridula* (L., 1758), *Piezodorus guildinii* (Westwood) e *Euschistus heros* (Fabr., 1798). Dentre estes, o percevejo-marrom *E. heros* (Hemiptera: Heteroptera) tem se destacado pela alta capacidade reprodutiva, resistência aos inseticidas e danos ocasionados à cultura (Panizzi, 2000).

Estes insetos causam injúrias por meio da inserção das peças bucais (estilete), principalmente nas vagens e sementes de soja, mas também em ramos e folhas (Chocorosqui e Panizzi, 2004). Durante a alimentação, os insetos injetam enzimas amilases que facilitam a digestão (Depieri e Panizzi, 2011) dos tecidos vegetais. Essas substâncias estão presentes em quantidades elevadas em *E. heros*, cerca de 20 vezes mais do que em outros pentatomídeos, característica que pode facilitar sua alimentação e os danos que ocasionam nas vagens (Silva *et al.*, 2012). Ao succionarem o conteúdo dos grãos, ninfas e adultos de *E. heros* provocam redução da quantidade de óleo, diminuindo a massa e inviabilizando o poder germinativo de sementes (Sosa-Gómez *et al.*, 2020). Além disso, sob altas infestações, os danos destes insetos resultam em queda das vagens, impedem a formação dos hormônios de senescência, paralisam a fase reprodutiva e aumentam o estágio vegetativo, processo denominado “soja louca” (Silva, Canteri e Silva, 2013). Diante da importância do percevejo-marrom, o nível de dano recomendado para o controle é de dois insetos por metro linear para a produção de grãos e de um inseto por metro para a produção de sementes em plantios de soja (Bueno *et al.*, 2013).

Embora *E. heros* seja reconhecido como praga da soja preferencialmente (Corrêa-Ferreira e Azevedo, 2002; Bueno *et al.*, 2015), também pode ser encontrado em algodão (*Gossypium hirsutum*) (Hickmann *et al.*, 2022), girassol (*Helianthus annuus*) (Malaguido e Panizzi, 1999), feijão (*Phaseolus vulgaris*), milho (*Zea mays*), entre outros cultivos (Gomes, Hayashida e Bueno, 2020; Smaniotto e Panizzi, 2015).

2.2 *Euschistus heros* como praga emergente na cultura da soja

Até a década de 70, a densidade populacional de *E. heros* apresentava-se baixa no Brasil (Panizzi, 1997). Porém, esta espécie vem expandindo sua distribuição em áreas de cultivo de

soja, milho e algodão em todo o país (Hickmann *et al.*, 2022; Silva *et al.*, 2013; Soares *et al.*, 2018; Soria *et al.*, 2017; Tillman *et al.*, 2009).

O crescimento populacional do percevejo-marrom tem sido atribuído a diversos fatores. Sabe-se, por exemplo, que a redução da habilidade competitiva de outros percevejos heteroespecíficos que também fazem parte do complexo de percevejos da soja, pode ser um fator predominante para seu aumento populacional. As populações do percevejo *N. viridula*, por exemplo, vem reduzindo por diversas questões (manejo, biologia) (Panizzi e Lucini, 2016). Além disso, já existem evidências de que *E. heros* tem maior habilidade competitiva do que o percevejo *P. guildinii* (Tuelher *et al.*, 2016).

Outra característica que favorece o incremento populacional de *E. heros* deve-se à sua capacidade de entrar em dormência parcial, por períodos prolongados (até seis meses) sem alimentação. Esta habilidade constitui uma importante adaptação, permitindo que, mesmo em condições adversas, *E. heros* se mantenha nas áreas com a possibilidade de reestabelecer a população (Panizzi e Nivea, 1994). Sabe-se que existem diferentes linhagens de percevejo nas regiões brasileiras expostas a variadas condições climáticas e de manejo. Com a expansão das áreas de cultivo, essas linhagens podem estar se combinando e gerando indivíduos adaptados e de difícil controle (Soares *et al.*, 2018; Sosa-Gomez *et al.*, 2004).

O plantio direto também se mostra favorável para manutenção do inseto na área, uma vez que a biomassa vegetal fornece abrigo e condições para o inseto se manter até o início do novo plantio (Soria *et al.*, 2017). Esse cenário também favorece a pressão de seleção sobre ervas daninhas, principalmente pelo aumento das aplicações de herbicida (Benbrook, 2012). Essas plantas fornecem água e nutrientes para *E. heros* e, por isso, são reconhecidas como hospedeiras alternativas (Dalazen *et al.*, 2017). Com a dificuldade no controle, possivelmente, plantas daninhas estarão disponíveis para o percevejo, alterando a dinâmica populacional e seu *status* de praga (Cerdeira *et al.*, 2007; Panizzi e Lucini, 2022).

No entanto, as condições de manejo as quais o percevejo é frequentemente exposto é o fator mais decisivo para o seu crescimento populacional. O controle químico realizado de forma desordenada tem causado seleção de populações resistentes, principalmente as piretroides (p.ex. deltametrina) e neonicotinoides (p.ex. imidacloprido) (Somavilla *et al.*, 2020a; Somavilla *et al.*, 2020b; Sosa-Gómez *et al.*, 2020; Tuelher *et al.*, 2017).

Atualmente, a resistência a inseticidas é considerada o fator mais determinante no manejo da densidade populacional de insetos considerados pragas (Forgash, 1984; Moosdeen, 1997; Somavilla *et al.*, 2020b; Sparks *et al.*, 1989).

2.3 Controle de *E. heros*

2.3.1 Resistência a inseticidas

A introdução dos inseticidas sintéticos no mercado, na década de 1940, aumentou significativamente a eficiência do manejo de pragas, porém ao mesmo tempo, culminou no surgimento de casos de resistência de insetos aos inseticidas. Ao se tornar o principal método de controle de insetos fitófagos em áreas agrícolas, o controle químico, através de pulverizações foliares ou tratamento de sementes, passou a ser utilizado de forma inapropriada e, com isso, há uma exposição excessiva, causando pressão de seleção e falhas no controle (Bueno *et al.*, 2013; Panizzi, 2013).

A resistência de artrópodes a produtos químicos consiste em uma mudança hereditária que permite populações de insetos sobreviverem a concentrações que antes eram letais (Forgash, 1984; Moosdeen, 1997; Sparks *et al.*, 1989; Sparks e Nauen, 2015; Tabashnik *et al.*, 2014). A resistência pode ser influenciada por condições inerentes ao inseto, como os fatores genéticos (homozigotos suscetíveis, heterozigotos e homozigotos resistentes) ou por fatores bioecológicos (alta fecundidade e curto tempo de geração) e por ação antrópica (aplicação

desordenada de inseticidas) (Devine e Denholm, 2009). Atualmente, os mecanismos de resistência mais estudados em insetos incluem: insensibilidade ao local alvo (alterações da proteína-alvo, que a torna menos sensível às moléculas); desintoxicação metabólica (aumento da atividade enzimática responsável por sequestrar ou reduzir a toxicidade do inseticida); penetração reduzida (aumento da espessura da cutícula) e resistência comportamental (capacidade de detectar um composto tóxico e evitá-lo) (Denholm e Devine, 2013; Hemingway *et al.*, 2004; Nansen *et al.*, 2016; Panini *et al.*, 2016).

No caso de *E. heros*, a utilização contínua dos mesmos inseticidas durante anos (Tuelher *et al.*, 2017), principalmente piretroides e neonicotinoides, gerou uma redução da eficiência em seu manejo (Somavilla *et al.*, 2020a; Somavilla *et al.*, 2020b; Sosa-Gómez *et al.*, 2020; Tuelher *et al.*, 2017). Além disso, casos de resistência via contato tarsal em laboratório foram descritos para organofosforados (monocrotofos, metamidofos) e ciclodieno (endosulfan) (Sosa-Gomez *et al.*, 2009; Sosa-Gomez, Corso e Morales, 2001; Sosa-Gómez e Silva, 2010). A resistência metabólica parece ser o principal mecanismo responsável pelas falhas no controle de *E. heros*. Em populações resistentes, a enzima citocromo P450 atingiu até 72,3% maior eficiência do que a observada para populações suscetíveis tratadas com neonicotinoides (Azevedo *et al.*, 2022; Castellanos *et al.*, 2019). Esse é o mecanismo de resistência mais comum na desintoxicação dos compostos tóxicos de plantas e, subsequentemente, dos pesticidas pelos herbívoros (Després, David e Gallet, 2007).

O processo de seleção de populações de insetos resistentes a inseticidas está interligado à capacidade de sobrevivência e de reprodução dos insetos. Assim, a resistência não necessariamente é alcançada por meio de concentrações letais de inseticidas, mas pela exposição subletal (Franca *et al.*, 2017; Guedes, Walse e Throne, 2017). Em alguns casos, essa exposição pode afetar positivamente a aptidão dos indivíduos, alterando os parâmetros de sobrevivência e de reprodução, processo denominado hormese (Margus *et al.*, 2019; Sial *et al.*, 2018). O mecanismo de hormese já foi observado em populações de *E. heros*, estando relacionado aos surtos populacionais desse inseto em lavouras de soja. O aumento dessa aptidão ocorre tanto para machos quanto para fêmeas, havendo o crescimento das taxas de fecundidade e fertilidade devido à maior atividade locomotora e frequência de acasalamento de machos, em populações sob efeito de inseticidas (Haddi *et al.*, 2016; Santos *et al.*, 2016).

Adicionalmente ao desenvolvimento de resistência das pragas aos inseticidas, o uso abusivo tem ocasionado efeitos negativos ao meio ambiente e a organismos benéficos, como agentes de controle biológico (Sarwar, 2016).

O valioso trabalho de regulação de pragas fornecido pelos inimigos naturais pode ser comprometido em sistemas agrícolas, devido à exposição a pesticidas que afetam sua sobrevivência (Roubos, Rodriguez-Saona e Isaacs, 2014). Inseticidas e controle biológico são duas importantes estratégias de manejo (Liu *et al.*, 2016) e a integração bem-sucedida dessas estratégias depende de uma avaliação completa dos efeitos dos inseticidas sobre os inimigos naturais das pragas (Wanumen *et al.*, 2016). Apesar de ser uma importante questão para o MIP (Manejo Integrado de Pragas), a compatibilidade entre esses métodos de controle nem sempre ocorre.

2.3.2 Controle biológico

Atualmente, o controle biológico tem sido utilizado em pelo menos 30 milhões de hectares em todo o mundo, seja pelo uso de macroorganismos (parasitoides e predadores) e microrganismos (bactérias, fungos, nematoides e vírus entomopatogênicos) (Lenteren *et al.*, 2018). No Brasil, o uso do controle biológico cresce (Alves, 1998; Parra, 2014). Para o percevejo-marrom, destacam-se os controles biológicos em que há adição de inimigos naturais nas plantações, mas também existem estudos voltados ao controle natural, onde não há manejo pelo homem. Sabe-se, por exemplo, que o gambá-rato *Gracilinanus agilis* é um importante

inimigo natural de *E. heros*. A predação se destaca durante o período de entressafra e sua efetividade está diretamente relacionada à presença e proximidade de florestas naturais em áreas agrícolas (Camargo *et al.*, 2022).

Dentre os métodos de controle, sobressai a liberação de parasitoides de ovos. A espécie *Trissolcus basalis* (Wollaston), por exemplo, pode reduzir a densidade populacional do percevejo *E. heros* em até 58% (Corrêa-Ferreira e Moscardi, 1996). Além desse, *Ooencyrtus submetallicus* (Howard) também é tido como inimigo natural de *E. heros* (Chaves *et al.*, 2021). Atualmente, a vespa parasitoide *Telenomus podisi* (Ashmead) é a mais aplicada, devido a sua alta capacidade de parasitismo e eficácia no controle do percevejo (Pacheco e Corrêa-Ferreira, 2000; Silva *et al.*, 2018). Ao ser liberada em campo, a vespa tem capacidade de aumentar o número de ovos parasitados em até 70% (Bueno *et al.*, 2020). Observa-se que após a liberação, ocorre uma redução significativa no número de grãos de soja danificados, aumentando assim a sustentabilidade do agroecossistema (Parra *et al.*, 2023).

O controle biológico com o uso de entomopatógenos, principalmente *Beauveria bassiana* e *Metarhizium anisopliae*, pode causar a mortalidade de até 100% da população de *E. heros* durante um período de até 15 dias (Nora *et al.*, 2021; Oliveira *et al.*, 2016). Além de sua efetividade no controle do percevejo, esses entomopatógenos são considerados seletivos para fêmeas adultas da vespa parasitoide *T. podisi*, parâmetro importante ao tentar se estabelecer um controle no MIP (Battisti *et al.*, 2022).

2.3.3 Resistência de plantas

Diante das dificuldades de controle do *E. heros* novos métodos de manejo vêm sendo desenvolvidos. A identificação de genótipos de plantas menos suscetíveis, por exemplo, é uma possibilidade. As defesas de plantas podem interferir diretamente na fisiologia ou no comportamento do inseto. Essas defesas podem causar efeitos deletérios, alterações do desempenho em diferentes estágios de desenvolvimento do inseto fitófago e evitação do herbívoro à planta (Berlinger, 2008). De acordo com Souza *et al.* (2016), existem cultivares de soja consideradas resistentes ao complexo de percevejos da soja, que abrangem o *E. heros*, *Piezodorus guildinii*, *Nezara viridula*, *Edessa meditabunda* e *Diceraeus melacanthus*.

Sabe-se que plantas de soja respondem diferente mediante a presença do percevejo-marrom. Isso dependerá da fase de infestação e do tempo de interação com a planta. Os genótipos atualmente estudados destacam-se por expressar tolerância. A cultivar IAC 100, por exemplo, consegue manter o número de vagens quando infestada nas fases R5 e R7, o que pode estar relacionado à enzima peroxidase presente na planta (Victor *et al.*, 2022). Além disso, obteve maior produtividade após 21 dias de infestação (Mcpherson, Buss e Roberts, 2007). Testes de preferência de oviposição indicam que as plantas com maior presença de açúcares e ausência de isoflavonas são mais preferidas pelo percevejo (Silva *et al.*, 2013). Em plantas resistentes, os insetos passaram um período menor se alimentando indicando antixenose, a exemplo da cultivar BRS 1003 IPRO, que foi lançada recentemente pelo Centro de Pesquisa de Soja da Embrapa (Lucini, Panizzi e Bueno, 2021).

2.4 Óleos essenciais de plantas e suas propriedades bioativas

Segundo Berlinger (2008), a resistência das plantas aos insetos é um episódio natural relacionado à autodefesa das plantas, o qual é influenciado pela coevolução entre insetos e plantas (Hare, 2011).

Dentre os compostos do metabolismo secundário das plantas, três classes se destacam na composição de OEs de plantas: terpenos, compostos fenólicos e compostos nitrogenados (Aharoni e Galili, 2011). Os OEs consistem em uma mistura complexa de substâncias voláteis de plantas (PVs) que se dissolvem em álcool e alguns solventes orgânicos (Sadgrove e Jones,

2015), possuem alto índice de refração e atividade óptica alta, sendo responsáveis pelos aromas de plantas (Dhifi *et al.*, 2016).

A variação na composição química e os atributos biológicos dos óleos essenciais estão relacionados a fatores bióticos e abióticos. Assim, a composição química dos OEs da planta depende: da classificação taxonômica, estágio de desenvolvimento, parte da planta utilizada, do ambiente, época em que foi realizada a colheita, adubação, clima, incidência de pragas e doenças e o modo em que é realizada a extração (Demissie, Sarker e Mahmoud, 2011; Rehman e Asif Hanif, 2016; Smigielski *et al.*, 2018). Desse modo, é fundamental a escolha do método mais adequado para cada finalidade (Arrigoni-Blank *et al.*, 2020; Silva *et al.*, 2019). Nas plantas, os metabólitos secundários podem ser sintetizados por todos os órgãos: brotos, flores, folhas, caules, galhos, frutos, raízes e casca (Bakkali *et al.*, 2008).

Mais comumente, os OEs são constituídos por misturas de terpenos (monoterpenos, sesquiterpenos) e os fenilpropanoides (Stefanello, Pascoal e Salvador, 2011). A maior classe de voláteis são os terpenoides (monoterpenos e sesquiterpenos) fundamentais na comunicação planta-planta e planta-inseto. Os terpenos são classificados de acordo com a quantidade de isoprenoides com cinco átomos de carbono. Os monoterpenos possuem em sua estrutura básica duas unidades de isopreno ligadas, ou seja, uma cadeia curta de 10 carbonos e os sesquiterpenos são uma combinação de 15 carbonos. A diversidade de monoterpenos originários da ciclização dos precursores difosfato de geranyl ou neril difosfato, originam os monoterpenos (Davis, 2010; Zielińska-Błajet e Feder-Kubis, 2020). De maneira geral, os terpenos podem ser produzidos por duas vias, a do ácido mevalonato (MEV), que inicia a partir da acetilCoA ativa no citosol, e a via do metileritritol fosfato (MEP), ativa nos plastídios. As duas vias podem se comunicar e doar produtos para originar os Oes (Abbas *et al.*, 2017; Muhlemann, Klempien e Dudareva, 2014).

Após a produção, os compostos voláteis de plantas são armazenados em células secretoras, cavidades, células epidérmicas e tricomas glandulares (Bakkali *et al.*, 2008). Como exemplo de compostos produzidos, pode-se citar eugenol, timol, carvacrol, geraniol, entre outros (Bolouri *et al.*, 2022).

Os PVs podem ser constitutivos, quando presentes no organismo vegetal sem que haja estímulos externos, e induzidos, quando ativados a partir de incitações abióticas e bióticas (Fürstenberg-Hägg, Zagrobelny e Bak, 2013; Hanley *et al.*, 2007). Esses, tem a função da redução de estresse abiótico, defesa contra patógenos e herbívoros, atração de inimigos naturais e sinalização entre plantas (Arimura, Matsui e Takabayashi, 2009). Diante dessas características, os OEs vem sendo estudados para aumentar a eficácia do manejo de insetos-praga, uma vez que suas atividades biológicas interferem nas funções metabólicas, bioquímicas, comportamentais e fisiológicas dos insetos (Mossa, 2016; Stefanello, Pascoal e Salvador, 2011).

Atualmente, sabe-se que a exposição de insetos aos OEs e seus compostos majoritários, em diferentes vias, mata ou retarda o desenvolvimento do herbívoro (Hanley *et al.*, 2007). Esses resultados estão relacionados a alterações negativas nos vários sistemas do corpo do inseto. Dentre as alterações, as mais estudadas são as que envolvem o sistema digestivo (Braga *et al.*, 2020), reprodutor (Maroneze e Gallegos, 2009), imunológico (Ali e Ibrahim, 2018) e nervoso (Polsinelli *et al.*, 2010).

O canal alimentar representa uma área de contato entre o artrópode e o ambiente (Lehane, 1997; Nathan *et al.*, 2008). Mudanças nesse tecido, principalmente no mesêntero, afetam a absorção e transformação do alimento. Além disso, essa região também é responsável pela síntese e a secreção de enzimas e hormônios (Mordue (Luntz) e Nisbet, 2000). O intestino médio também pode sofrer negativamente, ocorrendo modificações estruturais como perdas das projeções citoplasmáticas, vacuolização de células colunares, surgimento de corpos residuais, dentre outras (Mohamed *et al.*, 2017). Modificações no aparelho digestivo são relatados para

os mais diversos insetos: gafanhotos, lagartas, heteropteras e crisopídeos (Braga *et al.*, 2020; Cossolin *et al.*, 2019; Mohamed *et al.*, 2017; Scudeler *et al.*, 2016; Sharaby *et al.*, 2012; Vinha *et al.*, 2021).

Também pode haver alterações no sistema reprodutor, estas são amplamente estudadas, em virtude de causarem distúrbios no comportamento sexual e reprodução (Ghazawy, 2012). Em lepidopteros, por exemplo, a exposição a OEs pode reduzir o número e o tamanho dos espermatozoides (Cruz *et al.*, 2015) e nas fêmeas causam alterações químicas no ovário (Alves *et al.*, 2014).

No sistema nervoso, alguns OEs atuam inibindo a acetilcolinesterase. Essa enzima é responsável por degradar o neurotransmissor acetilcolina, não ocorrendo o desacoplamento do neurotransmissor, causando acúmulo da acetilcolina e, assim, o inseto morre por hiperexcitação (Polsinelli *et al.*, 2010). Por fim, as reações negativas do sistema imunológico, onde ocorre redução da quantidade de hemócitos na hemolinfa, que são responsáveis pela defesa dos fitófagos contra os xenobióticos (Ghasemi *et al.*, 2014; Mohamad, Soltan e El-Dydamony, 2021; Sadeghi, Raeisi e Jamshidnia, 2017).

Diante dessas características, os OEs tornam-se alternativas como fonte de novos compostos bioativos com propriedades inseticidas (Dassanayake *et al.*, 2021), podendo ser implementados em programas de MIP (Cossolin *et al.*, 2019; Regnault-Roger, Vincent e Arnason, 2012; Tripathi *et al.*, 2009; Turchen *et al.*, 2016).

2.4.1 *Lippia gracilis* e seus quimiotipos

O gênero *Lippia*, um dos maiores da família Verbenaceae, compreende cerca de 200 espécies descritas em países da América do Sul, América Central e África. Muitas espécies são cientificamente reconhecidas por seu potencial medicinal no tratamento antiviral, citostático e antimalária (Pascual *et al.*, 2001). A espécie *Lippia gracilis* Schauer é uma planta arbustiva aromática, que apresenta resistência à seca e altas temperaturas, e é popularmente conhecida por “alecrim-da-serra” ou “alecrim-chapada” (Menezes *et al.*, 2012). No Nordeste do Brasil é usualmente encontrada no Piauí, Sergipe e Bahia, sendo utilizada no tratamento de sinusite, congestão nasal e bronquite (Albuquerque *et al.*, 2007).

Os óleos essenciais de diferentes espécies do gênero *Lippia* têm sido estudados quanto ao potencial inseticida, fungicida e acaricida (Cruz *et al.*, 2013; Melo *et al.*, 2018, 2022; Penha *et al.*, 2021). O quimiotipo carvacrol de *L. gracilis*, por exemplo, tem demonstrado bioatividade acaricida (toxicidade e repelência) contra *Aceria guerreronis* Keifer, uma das principais pragas do coqueiro (Teodoro *et al.*, 2021). Atividade bioinseticida também foi observada para *Spodoptera frugiperda* (Monteiro *et al.*, 2021), *Tetranychus urticae* (Born *et al.*, 2018), *Plutella xylostella* (Oliveira *et al.*, 2022), *Diaphania hyalinata* (Melo *et al.*, 2018) e *Damalinia ovis* (França *et al.*, 2021).

O óleo essencial de *L. gracilis* é constituído por uma série de compostos. Seus constituintes majoritários são o timol, carvacrol, o-cimeno, γ -terpinemo e β -cariofileno (Albuquerque *et al.*, 2007). A variação em sua composição química influencia em sua atividade inseticida (Melo *et al.*, 2018).

2.5 Compostos majoritários: timol e carvacrol

Timol (2-isopropil-5-metilfenol) e carvacrol (5-isopropil-2-metilfenol) são monoterpenos fenólicos. As vias biossintéticas desses monoterpenos fenólicos ainda não estão bem caracterizadas para todas as famílias vegetais que os produzem. Para *Thymus vulgaris* L. e *Origanum vulgare* L., espécies da família Lamiaceae, o γ -terpineno é apontado como precursor dos majoritários: timol e carvacrol (Krause *et al.*, 2021).

De maneira geral, os monoterpenos timol e carvacrol são originados pela via do mevalonato no citosol, nos peroxissomos e no retículo endoplasmático (Badi *et al.*, 2017). São

produzidos a partir da síntese de geranyl pirofosfato (GPP). Em seguida, o GPP produz o cátion α -terpinil, o qual é convertido pela enzima terpenoide sintase (TPS) e produz monoterpenos. A enzima γ -terpineno sintase sintetiza o γ -terpineno e p-cimeno, os quais produzem o timol e carvacrol (Lima *et al.*, 2013; Tohidi *et al.*, 2020). Durante o processo, a enzima monooxigenase do citocromo P450 atua alterando o esqueleto do γ -terpineno, onde a enzima *CYP71D178* origina timol e as enzimas *CYP71D178*, *CYP71D180* e *CYP71D181* originam o carvacrol (Kianersi *et al.*, 2021).

Perante a reconhecida bioatividade dos compostos majoritários timol e carvacrol, estudos voltados para seus efeitos letais têm sido realizados. Resultados mostram toxicidade desses compostos em ovos e larvas de *Culex pipiens* (L.) (Youssefi *et al.*, 2019) e toxicidade do timol em terceiro instar de *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith) (Lima *et al.*, 2020).

Os óleos essenciais e seus compostos majoritários, além de serem reconhecidos por seu efeito letal, também podem apresentar efeitos subletais, quando atuam positiva ou negativamente no desenvolvimento, reprodução ou sobrevivência dos indivíduos (Giatropoulos *et al.*, 2022; Kucuk e Kaplan, 2023; Peneder e Koschier, 2011). Em *Spodoptera littoralis* B. (Lepidoptera: Noctuidae) e *Grapholita molesta* B. (Lepidoptera: Tortricidae), o timol afetou negativamente o acasalamento (López *et al.*, 2021). Ademais, podem diminuir a atividade das enzimas detoxificantes carboxilases e citocromos P450 (Ruttanaphan e Bullangpoti, 2022).

2.6 Efeitos subletais

As implicações de xenobióticos em insetos estão relacionadas a efeitos letais agudos, porém respostas subletais podem ser tão decisivas quanto para o controle de fitófagos e sobrevivência de inimigos naturais (Cordeiro *et al.*, 2010; Desneux, Decourtye e Delpuech, 2007; Lima *et al.*, 2020), em virtude desses tóxicos, com o tempo, se degradarem no ambiente, as pragas e inimigos naturais ficam expostos por períodos mais longos a concentrações subletais do que a letais (Little, 1990).

Habitualmente, os inseticidas atuam em um alvo primário específico ou causam lesões bioquímicas (Casida e Durkin, 2013). Os bioinseticidas carvacrol e timol, por exemplo, podem, inicialmente, ter ação neurotóxica inibindo a enzima acetilcolinesterase (Anderson e Coats, 2012; Jukic *et al.*, 2007), assim como os neonicotinoides que, por sua vez, agem como moduladores competitivos de receptores nicotínicos da acetilcolina (Barilli *et al.*, 2019).

Além das consequências em alvos primários, os xenobióticos atuam, mesmo que involuntariamente, em locais secundários (Müller, 2018), distribuídos por todo o organismo como: no sistema digestivo causando alterações estruturais no intestino e inativação de enzimas digestivas (Ali *et al.*, 2017; Bigham *et al.*, 2010; Elpidina *et al.*, 2001; Jongsma e Bolter, 1997); no sistema reprodutor causam modificações químicas e danos nos ovários e redução da espermatogênese (Alves *et al.*, 2014; Cruz *et al.*, 2015), já no sistema imunológico provocam a redução de hemócitos (Ali e Ibrahim, 2018; Ghasemi *et al.*, 2014; Sadeghi, Raeisi e Jamshidnia, 2017).

Essas alterações foram observadas para óleo essencial cujo composto majoritário era o carvacrol que provocou edema neuronal intersticial do cérebro e necrose ovariana de *Tabanus megalops* (Leesombun *et al.*, 2022), já o timol causou danos nos tecidos glandulares e ruptura da lamela neural em fêmeas de *Rhipicephalus sanguineus*, esses resultados indicam que tóxicos podem agir, simultaneamente, em diferentes locais do organismo (Matos *et al.*, 2019). Para *E. heros* tratados com *Piper Aduncum*, foi observada uma redução no armazenamento de lipídeos e carboidratos, além disso aumentaram as células mitocondriais, o que sugere uma conservação energética, possivelmente em uma tentativa de desintoxicação. Este procedimento irá, possivelmente, permitir a sobrevivência e posteriormente a continuidade da população (Cossolin *et al.*, 2019).

Como visto, essas alterações, normalmente, não causam mortalidade do inseto, porém irão impactar as próximas gerações, afetando aspectos biológicos, fisiológicos, demográficos e comportamentais em indivíduos ou populações que conseguirem sobreviver (Desneux, Decourtye e Delpuech, 2007). Normalmente, insetos que se adaptam ou evitam a toxicidade de xenobióticos tem implicações deletérias ou horméticas em seu *fitness* (Feltham, Park e Goulson, 2014; Haddi *et al.*, 2016).

Além disso, o impacto causado por essas concentrações subletais pode ser ampliado a nível de comunidade, causando mudanças de habitat, contaminação de alimento e abrigo. Ademais, outros organismos que interagem com as pragas no mesmo ecossistema podem ser negativamente afetados, ocasionando resultados imprevisíveis nas taxas demográficas das espécies-alvo. Estes fatores são decisivos para agricultura, já que contribuirão para redução ou aumento das populações de fitófagos em campo, pois pragas e organismos não alvo sofrerão influência dos resíduos (Little, 1990; Guedes *et al.*, 2016).

2.6.1 Comportamento

Além dos efeitos letais causados por xenobióticos sobre insetos, também são conhecidos os efeitos subletais, este tipo de exposição implica em diversos parâmetros vitais para o inseto, dentre eles, no comportamento dos indivíduos (Desneux; Decourtye; Delpuech, 2007). Comportamento é qualquer ação realizada por um indivíduo em resposta a um estímulo (Hoy, 2019). Alterações mediadas pela exposição a inseticidas são ocasionadas pelo modo de ação do composto, ou como resultado de uma resposta inata do organismo, ou alterações no ambiente em que houve aplicação (Guedes *et al.*, 2016). Atualmente, estudos sobre efeitos comportamentais de pesticidas tem crescido, porém ainda há muito a ser estudado sobre esses resultados (Martinou; Seraphides; Stavrinides, 2014).

A avaliação dos efeitos subletais de compostos no comportamento dos insetos pode contribuir de forma significativa para o desenvolvimento de novas estratégias de manejo e sucesso no controle da densidade populacional de fitófagos (Franca *et al.*, 2017). Inseticidas e bioinseticidas podem alterar a atividade de locomoção (Costa *et al.*, 2019), causar repelência (Lima *et al.*, 2020; Teodoro *et al.*, 2021) ou irritabilidade, modificar a autolimpeza (Dantas *et al.*, 2023; Nadein; Gorb, 2022) e o comportamento de acasalamento (Haddi *et al.*, 2016; Tuelher *et al.*, 2017).

Alterações nos padrões de caminamento estão relacionadas, por exemplo, às ações neurotóxicas de xenobióticos. Estes podem estimular ou inibir a mobilidade dos insetos, afetando os padrões de caminhada (Plata-Rueda *et al.*, 2017; Vinha *et al.*, 2021), o timol, por exemplo, reduz a velocidade e aumenta o número de meandros, o que demonstra uma desorientação do artrópode exposto (Dantas *et al.*, 2023), já o imidacloprido aumentou a atividade locomotora de adultos do percevejo-marrom (Haddi *et al.*, 2016).

Os insetos também podem ter respostas comportamentais a fim de prevenir a intoxicação por xenobióticos são elas: repelência- o organismo não entra em contato com o composto- e irritabilidade- a fuga após rápido contato (Cordeiro *et al.*, 2010; Plata-Rueda *et al.*, 2017). A repelência está correlacionada à percepção do inseto por meio de receptores químicos distribuídos em seu corpo, nos tarsos, por exemplo, estes são responsáveis por avaliar as condições ambientais. Em contrapartida, a irritabilidade está associada à resposta neurotóxica mediante exposição (Haynes, 1988; Patrícia *et al.*, 2017; Soderlund e Bloomquist, 1989; Rogers e Newland, 2000). Nesse sentido, em trabalho realizado por Haddi *et al.* (2016), foi observado que adultos de *E. heros* foram capazes de reconhecer e evitar áreas tratadas com imidacloprido.

Após o contato com compostos tóxicos, os insetos desenvolveram mecanismos para se manterem limpos e reduzirem possíveis contaminações (Amador e Hu, 2015), o sistema de limpeza é constante e não requer nenhuma ação fisiológica do inseto, atua de maneira preventiva ou quando já há contaminantes. Acredita-se que, para coleóptero, os episódios de

limpeza dos tarsos não acontecem de maneira pacífica, mas de maneira dinâmica por meio do reconhecimento dos contaminantes e, principalmente, pela redução da força de atrito na superfície em que o inseto está (Hosoda e Gorb, 2011). Uma vez que a autolimpeza também pode ser essencial na fixação do inseto na superfície, Hymenópteros e Coccinelídeos, por exemplo, possuem órgãos adesivos capazes de mantê-los na superfície, a limpeza com almofadas lisas e peludas, desses órgãos, permite a retirada de partículas, aumentando capacidade adesiva (Orchard, Kohonen e Humphries, 2012). De maneira geral, a limpeza se dá pela eliminação de partículas bióticas ou abióticas que comprometerão a performance do inseto (Dantas *et al.*, 2023; Peng, Fang e Xv, 1987; Russo *et al.*, 2020). A movimentação de partículas contaminantes ocorre em áreas específicas do inseto, por exemplo, em *Pachnoda marginata*, a femora-tibial é responsável pela limpeza (Nadein e Gorb, 2022).

Além de influenciar no comportamento, inseticidas e bioinseticidas possuem capacidade de danificar o aparelho reprodutor dos insetos (Alves *et al.*, 2014; Ghazawy, 2012). A fim de superar esses danos, insetos podem modificar os padrões de comportamento, *E. heros* machos, por exemplo, aumentaram o número de cópulas quando tratados com imidacloprido e cloretaniliprole (Haddi *et al.*, 2016; Tuelher *et al.*, 2017). As características comportamentais isoladas ou em conjunto devem ser estudadas, pois esses fatores podem contribuir ou não para a exposição aos tóxicos (Guedes *et al.*, 2016).

2.6.2 Reprodução

A reprodução é considerada uma das atividades mais importantes para caracterizar sistemas vivos, sendo elemento fundamental na continuidade da vida. Normalmente, os organismos compensam sua capacidade limitada de sobrevivência com altas taxas de reprodução (Fusco e Minelli, 2019; Shcherbakov, 2010). Diferentes fatores podem afetar a reprodução e, conseqüentemente, os parâmetros biológicos e demográficos, dentre eles, a aplicação de inseticidas e bioinseticidas (Shuker e Burdfield-Steel, 2017).

A toxicidade de xenobióticos podem atingir machos e fêmeas, causando redução da aptidão por meio da redução de fertilidade; inviabilidade de ovos; lesões no sistema reprodutivo, dentre outros (Cremonez *et al.*, 2017; Straub *et al.*, 2016, 2022). Essas alterações influenciam na aptidão de um indivíduo e, conseqüentemente, na dinâmica de toda a população (Lumley *et al.*, 2015).

Efeitos na reprodução causados por xenobióticos são relatados na literatura, relacionando a modificações no sistema e comportamento reprodutivo. Neonicotinoide, por exemplo, reduziu o tamanho dos ovócitos e espessura do epitélio de *Spodoptera litura*, e interferiu na capacidade de orientação por plumas de feromônio de machos e comprometeu a liberação de feromônios pela fêmea (Navarro-Roldán *et al.*, 2019; Perveen, 2000).

Atualmente, essas alterações na reprodução são estudadas para o *E. heros* que, normalmente, quando exposto a compostos tóxicos, apresentam modificações no processo reprodutivo. Por vezes, machos e fêmeas aumentam sua aptidão sexual quando tratados com inseticidas, possivelmente, para superar o estresse fisiológico causado pela exposição (Rodrigues *et al.*, 2021).

Essas alterações são observadas para machos e fêmeas. Por exemplo, machos do percevejo, tratados com inseticida, aumentaram sua frequência de acasalamento e induziram maiores taxas de fecundidade em fêmeas não expostas (Haddi *et al.*, 2016). Assim como o neonicotinoide causou danos nas células do ovário de fêmeas recém-emergidas, porém favoreceu o desenvolvimento precoce do trato reprodutivo, implicando no aumento das taxas de fecundidade e fertilidade (Santos *et al.*, 2016). A exposição ao inseticida comercial clorantraniliprole aumentou os picos de oviposição e redução no tempo de incubação dos ovos (Tuelher *et al.*, 2016).

Segundo Arnqvist e Nilsson (2000) e Harano (2015), tais ganhos na aptidão podem ser responsáveis por melhorar as habilidades de acasalamento múltiplos, assim, aumentar o número de oportunidades de gerar descendentes. Desta maneira, haverá, possivelmente, aumento do crescimento populacional e eventualmente surtos populacionais (Santos *et al.*, 2018).

2.7 Tabela de vida

As implicações da aplicação de inseticidas em populações de insetos podem ser observadas por meio de experimentos de tabela de vida de fertilidade. Sabe-se que uma população cresce dependente de sua migração, mortalidade e reprodução (Ricklefs, 2010). Assim, a partir desses experimentos é possível compreender a dinâmica populacional, avaliando o desenvolvimento, fecundidade e sobrevivência de espécies (Henderson, 2015; Herrero *et al.*, 2018). Esses estudos, podem ser utilizados para expressar de maneira matemática a dinâmica da população estudada (Wagner *et al.*, 1984).

São parâmetros de tabela de vida e de fertilidade: (R_0) taxa reprodutiva líquida; (TD) tempo para a população dobrar em número; (T) duração de uma geração; (r_m) taxa intrínseca de crescimento populacional e (λ) razão finita de crescimento (Kakde, Patel e Tayade, 2014).

Esses dados darão informações sobre o padrão da biologia do inseto, sem nenhum tipo de interferência (Costa, Borges e Vilela, 1998) ou avaliar os efeitos de algum tratamento na biologia da população como temperatura, comparação entre substratos alimentares e exposição a inseticidas. A partir daí será possível determinar se os tratamentos estão fazendo a população estudada crescer ou não. Estudos como esse fornecem base para antecipar redução ou surtos populacionais (Rosa *et al.*, 2012; Lima *et al.*, 2020; Pereira, Diniz e Parra, 2023).

3. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABBAS, F.; KE, Y.; YU, R.; YUE, Y.; AMANULLAH, S.; JAHANGIR, M. M.; FAN, Y. Volatile terpenoids: multiple functions, biosynthesis, modulation and manipulation by genetic engineering. **Planta**, v. 246, n. 5, p. 803–816, 2017.

AHARONI, A.; GALILI, G. Metabolic engineering of the plant primary-secondary metabolism interface. **Current Opinion in Biotechnology**, v. 22, n. 2, p. 239–244, 2011.

ALBUQUERQUE, U. P. DE; MEDEIROS, P. M. DE; ALMEIDA, A. L. S. DE; MONTEIRO, J. M.; FREITAS LINS NETO, E. M. DE; MELO, J. G. DE; SANTOS, J. P. DOS. Medicinal plants of the caatinga (semi-arid) vegetation of NE Brazil: A quantitative approach. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 114, n. 3, p. 325–354, 3 dez. 2007.

ALI, A. M.; IBRAHIM, A. M. A. Castor and camphor essential oils alter hemocyte populations and induce biochemical changes in larvae of *Spodoptera littoralis* (Boisduval) (Lepidoptera: Noctuidae). **Journal of Asia-Pacific Entomology**, v. 21, n. 2, p. 631–637, 2018.

ALI, M. A.; DOAA, S. M.; EL-SAYED, H. S.; ASMAA, M. E. Antifeedant activity and some biochemical effects of garlic and lemon essential oils on *Spodoptera littoralis* (Boisduval) (Lepidoptera: Noctuidae). **Journal of Entomology and Zoology Studies**, v. 5, n. 3, p. 1476–1482, 2017.

ALVES, S. B. Produção de bactérias entomopatogênicas. *Em*: ALVES, SERGIO BATISTA (Ed.). **Controle Microbiano de Insetos**. 2. ed. Piracicaba: [1998] v. 4, p. 3–32.

ALVES, T. J. S.; CRUZ, G. S.; WANDERLEY-TEIXEIRA, V.; TEIXEIRA, A. A. C.; OLIVEIRA, J. V.; CORREIA, A. A.; CÂMARA, C. A. G.; CUNHA, F. M. Effects of *Piper hispidinervum* on spermatogenesis and histochemistry of ovarioles of *Spodoptera frugiperda*. **Biotechnic and Histochemistry**, v. 89, n. 4, p. 245–255, 2014.

AMADOR, G. J.; HU, D. L. Cleanliness is next to godliness: Mechanisms for staying clean. **Journal of Experimental Biology**, v. 218, n. 20, p. 3164–3174, 1 out. 2015.

ANDERSON, J. A.; COATS, J. R. Acetylcholinesterase inhibition by nootkatone and carvacrol in arthropods. **Pesticide Biochemistry and Physiology**, v. 102, n. 2, p. 124–128, fev. 2012.

ARIMURA, G. I.; MATSUI, K.; TAKABAYASHI, J. Chemical and molecular ecology of herbivore-induced plant volatiles: Proximate factors and their ultimate functions. **Plant and Cell Physiology**, v. 50, n. 5, p. 911–923, maio 2009.

ARNQVIST, G.; NILSSON, T. The evolution of polyandry: Multiple mating and female fitness in insects. **Animal Behaviour**, v. 60, n. 2, p. 145–164, 2000.

ARRIGONI-BLANK, M. DE F.; SANTOS, P. S.; BLANK, A. F.; BRITO, F. DE A.; ANDRADE, T. M.; NIZIO, D. A. DE C.; ALVES, P. B. Influence of storage temperatures and storage time of dry leaves on patchouli [*Pogostemon cablin* (Blanco) benth.] essential oil. **Bioscience Journal**, v. 36, n. 4, p. 1175–1184, 1 jul. 2020.

AZEVEDO, K. E. X.; CUNHA, G. R.; MANTILLA-AFANADOR, J. G.; FERRAZZA, L. B.; CASTELLANOS, N. L.; HADDI, K.; LIMA, G. D. A.; OLIVEIRA, E. E. Sex-dependent body

mass and respiratory responses on *Euschistus heros* individuals resistant to imidacloprid. **Agricultural and Forest Entomology**, p. 1–9, 1 maio 2022.

BAKKALI, F.; AVERBECK, S.; AVERBECK, D.; IDAOMAR, M. Biological effects of essential oils - A review. **Food and Chemical Toxicology**, v. 46, n. 2, p. 446–475, fev. 2008.

BARILLI, D.; PEDRO, C.; PINTO, G.; SILVA, J.; ROSSI, GUILHERME D. Modos de ação dos inseticidas comerciais. *Em*: CASTILHO, R. DE C.; REZENDE, G. F.; NASCIMENTO, J. DO; ROSSI, GUILHERME DUARTE (Eds.). **Tópicos em Entomologia Agrícola**. 12. ed. [s.l.] Multipress, 2019. p. 209–232.

BATTISTI, L.; WARMLING, J. V.; FREITAS VIEIRA, C. DE; OLIVEIRA, D. H. R. DE; LIMA, Y. R. A. DE; FREITAS BUENO, A. DE; POTRICH, M.; LOZANO, E. R. Selectivity of *Metarhizium anisopliae* and *Beauveria bassiana* to adults of *Telenomus podisi* (Hymenoptera: Scelionidae). **Semina: Ciências Agrárias**, v. 43, n. 2, p. 727–738, 2022.

BENBROOK, C.M. Impacts of genetically engineered crops on pesticide use in the U.S.- the first sixteen years. **Environmental Sciences Europe**, v. 24, p. 1–13, 2012.

BERLINGER, M.J. Plant Resistance to Insects. *Em*: **Encyclopedia of Entomology**. [2008.]. p. 2931–2935.

BIANCO, S.; CARVALHO, L. B.; BIANCO, M. S.; PITELLI, R. A. Acúmulo de massa seca e de macronutrientes por plantas de *Glycine max* e *Solanum americanum*. **Planta Daninha**, v. 30, p. 87–95, 2012.

BIGHAM, M.; HOSSEININAVEH, V.; NABAVI, B.; TALEBI, K.; ESMAEILZADEH, N. S. Effects of essential oil from *Teucrium polium* on some digestive enzyme activities of *Musca domestica*. **Entomological Research**, v. 40, n. 1, p. 37–45, 2010.

BOLOURI, P.; SALAMI, R.; KOUHI, S.; KORDI, M.; ASGARI LAJAYER, B.; HADIAN, J.; ASTATKIE, T. Applications of Essential Oils and Plant Extracts in Different Industries. **Molecules**, v. 27, n. 24, 1 dez. 2022.

BORN, F. DE S.; CAMARA, C. A. G. DA; MELO, J. P. R. DE; MORAES, M. M. DE. Acaricidal property of the essential oil from *Lippia gracilis* against *Tetranychus urticae* and a natural enemy, *Neoseiulus californicus*, under greenhouse conditions. **Experimental and Applied Acarology**, v. 75, n. 4, p. 491–502, 1 ago. 2018.

BRAGA, V. A.; SANTOS CRUZ, G. DOS; ARRUDA GUEDES, C.; SANTOS SILVA, C. T. DOS; SANTOS, A. A.; COSTA, H. N. DA; CAVALCANTI LAPA NETO, C. J.; AGUIAR COELHO TEIXEIRA, Á.; WANDERLEY TEIXEIRA, V. 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, 1 abr. 2020.

BUENO, A. DE F.; BRAZ, É. C.; FAVETTI, B. M.; BARROS FRANÇA-NETO, J. DE; SILVA, G. V. Release of the egg parasitoid *Telenomus podisi* to manage the Neotropical Brown Stink Bug, *Euschistus heros*, in soybean production. **Crop Protection**, v. 137, p. 105310, 2020.

BUENO, A. DE F.; CEOLIN BORTOLOTTI, O.; POMARI-FERNANDES, A.; FRANÇA-NETO, J. DE B. Assessment of a more conservative stink bug economic threshold for managing stink bugs in Brazilian soybean production. **Crop Protection**, v. 71, p. 132–137, 1 maio 2015.

- BUENO, A. F.; PAULA-MORAES, S. V.; GAZZONI, D. L.; POMARI, A. F. Economic Thresholds in Soybean-Integrated Pest Management: Old Concepts, Current Adoption, and Adequacy. **Neotropical Entomology**, v. 42, n. 5, p. 439–447, out. 2013.
- CAMARGO, N. F. DE; REIS, G. G. DOS; MENDONÇA, A. F.; LAUMANN, R. A.; NARDOTO, G. B.; CAMARGO, A. J. A. DE; VIEIRA, E. M. Native marsupial acts as an in situ biological control agent of the main soybean pest (*Euschistus heros*) in the Neotropics. **European Journal of Wildlife Research**, v. 68, n. 5, 1 out. 2022.
- CASIDA, J. E.; DURKIN, K. A. Neuroactive insecticides: Targets, selectivity, resistance, and secondary effects. **Annual Review of Entomology**, v. 58, p. 99–117, 7 jan. 2013.
- CASTELLANOS, N. L.; FERREIRA-FILHO, N. A.; RODRIGUES, H. S.; MARTÍNEZ, L. C.; SERRÃO, J. E.; OLIVEIRA, E. E. Imidacloprid-mediated alterations on the salivary glands of the Neotropical brown stink bug, *Euschistus heros*. **Ecotoxicology**, v. 30, n. 4, p. 678–688, 1 maio 2021.
- CASTELLANOS, N. L.; HADDI, K.; CARVALHO, G. A.; PAULO, P. D. DE; HIROSE, E.; GUEDES, R. N. C.; SMAGGHE, G.; OLIVEIRA, E. E. Imidacloprid resistance in the Neotropical brown stink bug *Euschistus heros*: selection and fitness costs. **Journal of Pest Science**, v. 92, n. 2, p. 847–860, 15 mar. 2019.
- CERDEIRA, A. L.; GAZZIERO, D. L. P.; DUKE, S. O.; MATALLO, M. B.; SPADOTTO, C. A. Review of potential environmental impacts of transgenic glyphosate-resistant soybean in Brazil. **Journal of Environmental Science and Health, Part B, Pesticides, Food Contaminants, and Agricultural Wastes**, v. 42, n. 5, p. 539–549, jun. 2007.
- CHAVES, V. F.; PEREIRA, F. F.; TORRES, J. B.; SILVA, I. F. DA; PASTORI, P. L.; OLIVEIRA, H. N. DE; COSTA, V. A.; CARDOSO, C. R. G. Thermal requirements of oencyrtus submetallicus (Hym.: Encyrtidae) and *Telenomus podisi* (hym.: Platygastridae) parasitizing *Euschistus heros* eggs (hem.: Pentatomidae). **Insects**, v. 12, n. 10, 1 out. 2021.
- CHOCOROSQUI, V. R.; PANIZZI, A. R. Impact of Cultivation Systems on *Dichelops melacanthus* (Dallas) (Heteroptera: Pentatomidae) Population and Damage and its Chemical Control on Wheat. **Neotropical Entomology**, v. 33, n. 4, p. 487–492, 2004.
- CORDEIRO, E. M. G.; CORRÊA, A. S.; VENZON, M.; GUEDES, R. N. C. Insecticide survival and behavioral avoidance in the lacewings *Chrysoperla externa* and *Ceraeochrysa cubana*. **Chemosphere**, v. 81, n. 10, p. 1352–1357, 2010.
- CORRÊA-FERREIRA, B. S.; AZEVEDO, J. DE. Soybean seed damage by different species of stink bugs. **Agricultural and Forest Entomology**, v. 4, n. 2, p. 145–150, 2002.
- CORRÊA-FERREIRA, B. S.; MOSCARDI, F. Biological control of soybean stink bugs by inoculative releases of *Trissolcus basal*. **Entomologia Experimentalis et Applicata**, v. 79, n. 1, p. 1–7, 1996.
- COSSOLIN, J. F. S.; PEREIRA, M. J. B.; MARTÍNEZ, L. C.; TURCHEN, L. M.; FIAZ, M.; BOZDOĞAN, H.; SERRÃO, J. E. Cytotoxicity of *Piper aduncum* (Piperaceae) essential oil in brown stink bug *Euschistus heros* (Heteroptera: Pentatomidae). **Ecotoxicology**, v. 28, n. 7, p. 763–770, 1 set. 2019.

COSTA, Â. C. F.; CAVALCANTI, S. C. H.; SANTANA, A. S.; LIMA, A. P. S.; SANTANA, E. D. R.; BRITO, T. B.; OLIVEIRA, R. R. B.; MACÊDO, N. A.; CRISTALDO, P. F.; BACCI, L. Formicidal activity of indole derivatives on *Atta opaciceps* (Borgmeier): Lethal, behavioural and locomotive effects. **Journal of Applied Entomology**, v. 143, n. 1–2, p. 58–68, 1 fev. 2019.

CASTRO, L.S.; MIRANDA, M. H.; LIMA, J. E. Indicadores sociais de desenvolvimento e a produção de soja: uma análise multivariada nos 150 maiores municípios produtores brasileiros. **Revista Brasileira de Gestão e Desenvolvimento Regional**, p. 69–87, 2013.

COSTA, M. L. M.; BORGES, M.; VILELA, E. F. Biologia reprodutiva de *Euschistus heros* (F.) (Heteroptera: Pentatomidae). **Anais da Sociedade Entomológica do Brasil**, v. 27, n. 4, p. 559–568, 1998.

CREMONEZ, P. S. G.; PINHEIRO, D. D. O.; FALLEIROS, Â. M. F.; NEVES, P. M. O. J. Performance of reproductive system of *Dichelops melacanthus* (Hemiptera: Pentatomidae) subjected to buprofezin and pyriproxyfen: Morphological analysis of ovarioles and testes. **Semina: Ciências Agrárias**, v. 38, n. 4, p. 2279–2292, 2017.

CRUZ, E. M. DE O.; COSTA-JUNIOR, L. M.; PINTO, J. A. O.; SANTOS, D. DE A.; ARAUJO, S. A. DE; ARRIGONI-BLANK, M. DE F.; BACCI, L.; ALVES, P. B.; CAVALCANTI, S. C. DE H.; BLANK, A. F. Acaricidal activity of *Lippia gracilis* essential oil and its major constituents on the tick *Rhipicephalus* (Boophilus) microplus. **Veterinary Parasitology**, v. 195, n. 1–2, p. 198–202, 1 jul. 2013.

CRUZ, G. DOS S.; TEIXEIRA, V. W.; OLIVEIRA, J. V. DE; TEIXEIRA, A. A. C.; ARAÚJO, A. C.; ALVES, T. J. D. S.; CUNHA, F. M. DA; BREDA, M. O. Histological and Histochemical Changes by Clove Essential oil Upon the gonads of *Spodoptera frugiperda* (JE Smith) (Lepidoptera:Noctuide). **International Journal of Morphology**, v. 33, n. 4, p. 1393–1400, 1 dez. 2015.

DALAZEN, G.; BIGOLIN, M.; VALMORBIDA, I.; STACKE, R. F.; CAGLIARI, D. Faunistic analysis of pest insects and their natural enemies associated with hairy fleabane in soybean crop. **Pesquisa Agropecuária Tropical**, v. 47, n. 3, p. 336–344, 1 jul. 2017.

DANTAS, J. O.; CAVALCANTI, S. C. H.; ARAÚJO, A. P. A.; SILVA, J. E.; BRITO, T. B.; ANDRADE, V. S.; PINHEIRO, H. S. S.; TAVARES, S. R. S. A.; BLANK, A. F.; BACCI, L. Formicidal Potential of Thymol Derivatives: Adverse Effects on the Survival and Behavior of *Acromyrmex balzani*. **Agriculture**, v. 13, n. 7, p. 1–17, 16 jul. 2023.

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, 2021.

DAVIS, E. M. Advances in the Enzymology of Monoterpene Cyclization Reactions. *Em: Comprehensive Natural Products II*. II ed. Washington: [2010]. v. 1, p. 585–606.

DEMISSIE, Z. A.; SARKER, L. S.; MAHMOUD, S. S. Cloning and functional characterization of β -phellandrene synthase from *Lavandula angustifolia*. **Planta**, v. 233, n. 4, p. 685–696, abr. 2011.

DENHOLM, I.; DEVINE, G. Insecticide Resistance. *Em: Encyclopedia of Biodiversity: Second Edition*. [s.l.] Elsevier Inc., 2013. v. 4, p. 298–307.

DEPIERI, R. A.; PANIZZI, A. R. Duration of feeding and superficial and in-depth damage to soybean seed by selected species of stink bugs (heteroptera: pentatomidae). **Neotropical Entomology**, v. 40, n. 2, p. 197–203, 2011.

DESNEUX, N.; DECOURTYE, A.; DELPUECH, J. M. The sublethal effects of pesticides on beneficial arthropods. **Annual Review of Entomology**, v. 52, p. 81–106, 2007.

DESPRÉS, L.; DAVID, J. P.; GALLET, C. The evolutionary ecology of insect resistance to plant chemicals. **Trends in Ecology and Evolution**, v. 22, n. 6, p. 298–307, jun. 2007.

DEVINE, G. J.; DENHOLM, I. Insecticide and Acaricide Resistance. *Em: Encyclopedia of Insects*. [s.l.] Elsevier Inc., 2009. p. 505–511.

DHIFI, W.; BELLILI, S.; JAZI, S.; BAHLOUL, N.; MNIF, W. Essential Oils' Chemical Characterization and Investigation of Some Biological Activities: A Critical Review. **Medicines**, v. 3, n. 4, p. 25, 22 set. 2016.

ELPIDINA, E. N.; VINOKUROV, K. S.; GROMENKO, V. A.; RUDENSKAYA, Y. A.; DUNAEVSKY, Y. E.; ZHUZHNIKOV, D. P. Compartmentalization of proteinases and amylases in *Nauphoeta cinerea* midgut. **Archives of Insect Biochemistry and Physiology**, v. 48, n. 4, p. 206–216, 2001.

FELTHAM, H.; PARK, K.; GOULSON, D. Field realistic doses of pesticide imidacloprid reduce bumblebee pollen foraging efficiency. **Ecotoxicology**, v. 23, n. 3, p. 317–323, 2014.

FORGASH, A. J. History, evolution, and consequences of insecticide resistance. **Pesticide Biochemistry and Physiology**, v. 186, p. 178–186, 1984.

FRANÇA, A. K. DE A. *et al.* Ação inseticida in vitro do óleo essencial de *Lippia gracilis* Schauer sobre *Damalinea Bovicola ovis* (Schrank, 1781). **Revista Brasileira de Ciência Veterinária**, v. 28, n. 2, p. 92–96, 2021.

FRANCA, S. M. DE; BREDA, M. O.; BARBOSA, D. R. S.; ARAUJO, A. M. N.; GUEDES, C. A. The Sublethal Effects of Insecticides in Insects. *Em: Biological Control of Pest and Vector Insects*. [s.l.] InTech, 2017. p. 23–39.

FÜRSTENBERG-HÄGG, J.; ZAGROBELNY, M.; BAK, S. Plant defense against insect herbivores. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 14, n. 5, p. 10242–10297, 2013.

FUSCO, G.; MINELLI, A. Introductory Concepts. *Em: The Biology of Reproduction*. [s.l.] Cambridge University Press, 2019. p. 6–46.

GAVIOLI, E. A. **Provisional chapter Explanations for the Rise of Soybean in Brazil**. [s.l.: s.n.].

GHASEMI, V.; YAZDI, A. K.; TAVALLAIE, F. Z.; SENDI, J. J. Effect of essential oils from *Callistemon viminalis* and *Ferula gummosa* on toxicity and on the hemocyte profile of *Ephesia kuehniella* (Lep.: Pyralidae). **Archives of Phytopathology and Plant Protection**, v. 47, n. 3, p. 268–278, fev. 2014.

GHAZAWY, N. Ultrastructural Observations on the Gonads and Neurosecretory Cells of *Schistocerca gregaria* after Treatment with Lufenuron (CGA-184699). **Journal of Orthoptera Research**, v. 21, n. 2, p. 141–148, out. 2012.

GIATROPOULOS, A.; KARAMAOUNA, F.; AMPATZI, A.; PAPACHRISTOS, D.; MICHAELAKIS, A. Sublethal effects of oregano essential oil and its major compound carvacrol on biological parameters of *Aedes albopictus* (Diptera: Culicidae). **Experimental Parasitology**, v. 242, 1 nov. 2022.

GOMES, E. C.; HAYASHIDA, R.; FREITAS BUENO, A. DE. *Dichelops melacanthus* and *Euschistus heros* injury on maize: Basis for re-evaluating stink bug thresholds for IPM decisions. **Crop Protection**, v. 130, 1 abr. 2020.

GUEDES, R. N. C.; SMAGGHE, G.; STARK, J. D.; DESNEUX, N. Pesticide-Induced Stress in Arthropod Pests for Optimized Integrated Pest Management Programs. **Annual Review of Entomology**, v. 61, p. 43–62, 11 mar. 2016.

GUEDES, R. N. C.; WALSE, S. S.; THRONE, J. E. Sublethal exposure, insecticide resistance, and community stress. **Current Opinion in Insect Science**, v. 21, p. 47–53, 1 jun. 2017.

HADDI, K.; MENDES, M. V.; BARCELLOS, M. S.; LINO-NETO, J.; FREITAS, H. L.; GUEDES, R. N. C.; OLIVEIRA, E. E. Sexual success after stress? Imidacloprid-induced hormesis in males of the neotropical stink bug *Euschistus heros*. **PLoS ONE**, v. 11, n. 6, p. 1–18, 1 jun. 2016.

HANLEY, M. E.; LAMONT, B. B.; FAIRBANKS, M. M.; RAFFERTY, C. M. Plant structural traits and their role in anti-herbivore defence. **Perspectives in Plant Ecology, Evolution and Systematics**, v. 8, n. 4, p. 157–178, 27 jul. 2007.

HARANO, T. Receptive females mitigate costs of sexual conflict. **Journal of Evolutionary Biology**, v. 28, n. 2, p. 320–327, 1 fev. 2015.

HARE, J. D. Ecological role of volatiles produced by plants in response to damage by herbivorous insects. **Annual Review of Entomology**, v. 56, p. 161–180, 7 jan. 2011.

HAYNES, K. F. Sublethal effects of neurotoxic insecticides on insect behavior. **Annual Review of Entomology**, p. 149–168, 1988.

HEMINGWAY, J.; HAWKES, N. J.; MCCARROLL, L.; RANSON, H. The molecular basis of insecticide resistance in mosquitoes. **Insect Biochemistry and Molecular Biology**, v. 34, n. 7, p. 653–665, 2004.

HENDERSON, P. A. **Ecological Methods**. [s.l.: s.n.].

HERRERO, M. I.; DAMI, L. C.; FOGLIATA, S. V.; CASMUZ, A. S.; SOSA GÓMEZ, D. R.; GASTAMINZA, G. A.; MURÚA, M. G. Fertility life table, population parameters and biotic potential of *Helicoverpa gelotopoeon* (Dyar) (Lepidoptera: Noctuidae). **Anais da Academia Brasileira de Ciências**, v. 90, n. 4, p. 3831–3838, 1 out. 2018.

HICKMANN, F.; G CORDEIRO, E. M.; SOUZA AURÉLIO, M. L.; VALDIR, A.; SOARES CORRÊA, A. Host preference and survivorship of *Euschistus heros* (Hemiptera: Pentatomidae) strains on cotton and soybean. **Entomology Experimentalis et Applicata**, p. 1–24, 2022.

HOSODA, N.; GORB, S. N. Friction force reduction triggers feet grooming behaviour in beetles. **Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences**, v. 278, n. 1712, p. 1748–1752, 2011.

HOY, M. A. Molecular Genetics of Insect Behavior. *Em*: **Insect Molecular Genetics**. [s.l.] Elsevier, 2019. p. 413–461.

JONGSMA, M. A.; BOLTER, C. The Adaptation of Insects to plants Protease Inhibitors. **J. Insect Physiol**, v. 43, n. 10, p. 885–895, 1997.

JUKIC, M.; POLITEO, O.; MAKSIMOVIC, M.; MILOS, MIA; MILOS, MLADEN. In Vitro Acetylcholinesterase Inhibitory Properties of Thymol, Carvacrol and their Derivatives Thymoquinone and Thymohydroquinone. **Phytotherapy Research**, v. 21, n. 21, p. 259–261, 2007.

KAKDE, A. M.; PATEL, K. G.; TAYADE, S. Role of Life Table in Insect Pest Management-A Review. **Journal of Agriculture and Veterinary Science**, v. 7, n. 1, p. 40–43, 2014.

KIANERSI, F.; POUR-ABOUGHADAREH, A.; MAJDI, M.; POCZAI, P. Effect of methyl jasmonate on thymol, carvacrol, phytochemical accumulation, and expression of key genes involved in thymol/carvacrol biosynthetic pathway in some Iranian thyme species. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 22, n. 20, p. 1–14, 2 out. 2021.

KRAUSE, S. T. *et al.* The biosynthesis of thymol, carvacrol, and thymohydroquinone in Lamiaceae proceeds via cytochrome P450s and a short-chain dehydrogenase. **Plant Biology**, v. 118, p. 1–10, 2021.

KUCUK, M. E.; KAPLAN, A. The effect of thymol on the development of *Drosophila melanogaster*. **Journal of Applied Biological Sciences**, v. 17, n. 2, p. 320–327, 2023.

LEESOMBUN, A.; SUNGPRADIT, S.; BOONMASAWAI, S.; WELUWANARAK, T.; KLINSRITHONG, S.; RUANGSITTICHAJ, J.; AMPAWONG, S.; MASMEATATHIP, R.; CHANGBUNJONG, T. Insecticidal Activity of *Plectranthus amboinicus* Essential Oil against the Stable Fly *Stomoxys calcitrans* (Diptera: Muscidae) and the Horse Fly *Tabanus megalops* (Diptera: Tabanidae). **Insects**, v. 13, n. 3, p. 1–14, 1 mar. 2022.

LEHANE, M. J. Peritrophic matrix structure and function. **Annual Review of Entomology**, v. 42, n. 100, p. 525–550, 1997.

LENTEREN, J. C. VAN; BOLCKMANS, K.; KÖHL, J.; RAVENSBERG, W. J.; URBANEJA, A. Biological control using invertebrates and microorganisms: plenty of new opportunities. **BioControl**, v. 63, n. 1, p. 39–59, 1 fev. 2018.

LIMA, A. P. S.; SANTANA, E. D. R.; SANTOS, A. C. C.; SILVA, J. E.; RIBEIRO, G. T.; PINHEIRO, A. M.; SANTOS, Í. T. B. F.; BLANK, A. F.; ARAÚJO, A. P. A.; BACCI, L. Insecticide activity of botanical compounds against *Spodoptera frugiperda* and selectivity to the predatory bug *Podisus nigrispinus*. **Crop Protection**, v. 136, p. 1–7, 1 out. 2020.

LIMA, A. S.; SCHIMMEL, J.; LUKAS, B.; NOVAK, J.; BARROSO, J. G.; FIGUEIREDO, A. C.; PEDRO, L. G.; DEGENHARDT, J.; TRINDADE, H. Genomic characterization, molecular cloning and expression analysis of two terpene synthases from *Thymus caespititius* (Lamiaceae). **Planta**, v. 238, n. 1, p. 191–204, jul. 2013.

LITTLE, E.E. Behavioral Toxicology: Stimulating challenges for a growing discipline. **Environmental Toxicology and Chemistry**, v. 9, p. 1–2, 1990.

LIU, Y.; LI, X.; ZHOU, C.; LIU, F.; MU, W. Toxicity of nine insecticides on four natural enemies of *Spodoptera exigua*. **Scientific Reports**, v. 6, p. 1–9, 13 dez. 2016.

LÓPEZ, S.; DOMÍNGUEZ, A.; GUERRERO, Á.; QUERO, C. Inhibitory effect of thymol on pheromone-mediated attraction in two pest moth species. **Scientific Reports**, v. 11, n. 1, p. 1–10, 1 dez. 2021.

LUCINI, T.; PANIZZI, A. R.; F. BUENO, A. DE. Evaluating resistance of the soybean block technology cultivars to the Neotropical brown stink bug, *Euschistus heros* (F.). **Journal of Insect Physiology**, v. 131, p. 1–9, 1 maio 2021.

LUMLEY, A. J.; MICHALCZYK, Ł.; KITSON, J. J. N.; SPURGIN, L. G.; MORRISON, C. A.; GODWIN, J. L.; DICKINSON, M. E.; MARTIN, O. Y.; EMERSON, B. C.; CHAPMAN, T.; GAGE, M. J. G. Sexual selection protects against extinction. **Nature**, v. 522, n. 7557, p. 470–473, 25 jun. 2015.

MALAGUIDO, A. A. B.; PANIZZI, A. R. Nymph and Adult Biology of *Euschistus heros* (Hemiptera: Pentatomidae) and its Abundance Related to Planting Date and Phenological Stages of Sunflower. **Arthropod Biology**, p. 424–429, 1999.

MARGUS, A.; PIROINEN, S.; LEHMANN, P.; TIKKA, S.; KARVANEN, J.; LINDSTRÖM, L. Sublethal Pyrethroid Insecticide Exposure Carries Positive Fitness Effects Over Generations in a Pest Insect. **Scientific Reports**, v. 9, n. 1, p. 1–10, 1 dez. 2019.

MARONEZE, D. M.; GALLEGOS, D. M. H. N. Effect of *Melia azedarach* aqueous extract on the development of immature and reproductive stages of *Spodoptera frugiperda* (J. E. Smith, 1797) (Lepidoptera: Noctuidae). **Semina: Ciências Agrárias**, v. 30, n. 3, p. 537–550, 2009.

MARTINOU, A. F.; SERAPHIDES, N.; STAVRINIDES, M. C. Lethal and behavioral effects of pesticides on the insect predator *Macrolophus pygmaeus*. **Chemosphere**, v. 96, p. 167–173, 2014.

MATOS, R. S.; DAEMON, E.; OLIVEIRA MONTEIRO, C. M. DE; SAMPIERI, B. R.; MARCHESINI, P. B. C.; DELMONTE, C.; CAMARGO-MATHIAS, M. I. Thymol action on cells and tissues of the synganglia and salivary glands of *Rhipicephalus sanguineus* sensu lato females (Acari: Ixodidae). **Ticks and Tick-borne Diseases**, v. 10, n. 2, p. 314–320, 1 fev. 2019.

MCPHERSON, R. M.; BUSS, G. R.; ROBERTS, P. M. Assessing Stink Bug Resistance in Soybean Breeding Lines Containing Genes from Germplasm IAC-100. **J. Econ. Entomol.**, v. 100, n. 4, p. 1456–1463, 2007.

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 *Diaphania hyalinata* and non-target species. **Crop Protection**, v. 104, p. 47–51, 1 fev. 2018.

MELO, J. O. DE; BLANK, A. F.; NUNES, R. DE S.; ALVES, P. B.; ARRIGONI-BLANK, M. DE F.; GAGLIARDI, P. R.; NASCIMENTO-JÚNIOR, A. F. DO; SAMPAIO, T. S.; LIMA, A. D.; NIZIO, D. A. DE C. Essential oils of *Lippia gracilis* and *Lippia sidoides* chemotypes and

their major compounds carvacrol and thymol: nanoemulsions and antifungal activity against *Lasiodiplodia theobromae*. **Research, Society and Development**, v. 11, n. 3, p. 1–13, 26 fev. 2022.

MENEZES, V.; PRADO, J.; REGINA DE SOUZA MORAES, V.; CESAR, P.; NOGUEIRA, L.; MÉRCIA, E.; CRUZ, O.; BLANK, A. F.; RODRIGUES PEREIRA-FILHO, E.; REGINA, L.; MARTINS, R. Caracterização de chás de genótipos de *Lippia gracilis Schauer* através de perfil cromatográfico por clae-dad combinado com análises quimiométricas. **Quim. Nova**, v. 35, n. 9, p. 1814–1818, 2012.

MOHAMAD, S.; SOLTAN, E.; EL-DYDAMONY, M. K. Haemocytes and biochemical changes in *Locusta migratoria* (Orthoptera: Acrididae) after treated with some essential oils Article History Haemocytes and biochemical changes in *Locusta migratoria* (Orthoptera: Acrididae) after treated with some essentia. **Egypt. J. Plant Prot. Res. Inst**, n. January, p. 131–143, 2021.

MOHAMED, D.; ALI, A. M.; SHAURUB, E.-S. H.; ELSAYED, A. M.; ALI ALI, C. M.; MOHAMED, D. S.; SHAURUB, E.-S. H. Antifeedant activity and some biochemical effects of garlic and lemon essential oils on *Spodoptera littoralis* (Boisduval) (Lepidoptera: Noctuidae) Entomology View project Antifeedant activity and some biochemical effects of garlic and lemon essential oils. **Journal of Entomology and Zoology Studies**, v. 5, n. 3, p. 1476–1482, 2017.

MONTEIRO, I. N.; FERREIRA, L. O. G.; OLIVEIRA, A. K. M. DE; FIGUEIREDO, P. L. B.; MAIA, J. G. S.; MONTEIRO, O. S.; MATIAS, R. Toxicity of the *Lippia gracilis* essential oil chemotype, pinene-cineole-limonene, on *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae). **International Journal of Tropical Insect Science**, v. 41, p. 181–187, 2021.

MOOSDEEN, F. The evolution of resistance to cephalosporins. **Clinical Infectious Diseases**, v. 24, n. 3, p. 487–493, 1997.

MORDUE(LUNTZ), A. J.; NISBET, A. J. Azadirachtin from the neem tree *Azadirachta indica*: its action against insects. **Anais da Sociedade Entomológica do Brasil**, v. 29, n. 4, p. 615–632, 2000.

MOSSA, A. T. H. Green Pesticides: Essential oils as biopesticides in insect-pest management. **Journal of Environmental Science and Technology**, v. 9, n. 5, p. 354–378, 2016.

MUHLEMANN, J. K.; KLEMPIEN, A.; DUDAREVA, N. Floral volatiles: from biosynthesis to function. **Plant, Cell and Environment**, v. 37, n. 8, p. 1936–1949, 2014.

MÜLLER, C. Impacts of sublethal insecticide exposure on insects — Facts and knowledge gaps. **Basic and Applied Ecology**, v. 30, p. 1–10, 1 ago. 2018.

NADEIN, K.; GORB, S. Smart joints: auto-cleaning mechanism in the legs of beetles. **Communications Biology**, v. 5, n. 1, p. 1–8, 1 dez. 2022.

BADI, H.N.; ABDOLLAHI, M.; MEHRAFARIN, A.; MEHRAFARIN, A.; GHORBANPOUR, M.; TOLYAT, M.; QADERI, A.; GHIACI YEKTA. An Overview on Two Valuable and Bioactive Compounds, Thymol and Carvacrol, in Medicinal Plants. **Journal of Medicinal Plants**, v. 16, p. 1–32, 2017.

NANSEN, C.; BAISSAC, O.; NANSEN, M.; POWIS, K.; BAKER, G. Behavioral avoidance - will physiological insecticide resistance level of insect strains affect their oviposition and movement responses? **Plos One**, v. 11, n. 3, p. 1–12, 2016.

NATHAN, S.S.; YOUNG CHOI, M.; YUL SEO, H.; HOON PAIK, C.; KALAIVANI, K.; DUK KIM, J. Effect of azadirachtin on acetylcholinesterase (AChE) activity and histology of the brown planthopper *Nilaparvata lugens* (Stål). **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 70, n. 2, p. 244–250, jun. 2008.

NAVARRO-ROLDÁN, M. A.; AMAT, C.; BAU, J.; GEMENO, C. Extremely low neonicotinoid doses alter navigation of pest insects along pheromone plumes. **Scientific Reports**, v. 9, n. 1, p. 1–9, 1 dez. 2019.

NIWIŃSKA, B.; WITASZEK, K.; NIEDBAŁA, G.; PILARSKI, K. Seeds of n-GM soybean varieties cultivated in poland and their processing products as high-protein feeds in cattle nutrition. **Agriculture (Switzerland)**, v. 10, n. 5, p. 1–13, 1 maio 2020.

NORA, D.D.; PIOVESAN, B. C.; BELLÉ, C.; STACKE, R. S.; BALARDIN, R. R.; GUEDES, J. V. C.; MICHAUD, J. P.; JACQUES, R. J. S. Isolation and evaluation of entomopathogenic fungi against the neotropical brown stink bug *Euschistus heros* (F.) (Hemiptera: Pentatomidae) under laboratory conditions. **Biocontrol Science and Technology**, v. 31, n. 1, p. 22–34, 2021.

OLIVEIRA, D. G. P.; DUDCZAK, A. C.; ALVES, L. F. A.; SOSA-GOMEZ, D. R. Biological Parameters of *Euschistus heros* (F.) (Heteroptera: Pentatomidae) and its Susceptibility to Entomopathogenic Fungi When Fed on Different Diets. **Brazilian Archives of Biology and Technology**, v. 59, p. 1–12, 1 jan. 2016.

OLIVEIRA, J. D. J.; PASSOS, E. M. DOS; ARAGÃO, R. M.; SANTOS, T. S.; CRUZ, E. M. O.; MENDONÇA, M. D. C. Control of diamondback moth with *Lippia gracilis* essential oil. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 57, n. 202085, p. 1–8, 2022.

ORCHARD, M. J.; KOHONEN, M.; HUMPHRIES, S. The influence of surface energy on the self-cleaning of insect adhesive devices. **Journal of Experimental Biology**, v. 215, n. 2, p. 279–286, jan. 2012.

PACHECO, D. J. P.; CORRÊA-FERREIRA, B. S. Parasitismo de *Telenomus podisi* Ashmead (Hymenoptera: Scelionidae) em Populações de Percevejos Pragas da Soja. **An. Soc. Entomol. Brasil**, v. 29, n. 2, p. 295, 2000.

PANINI, M.; MANICARDI, G. C.; MOORES, G. D.; MAZZONI, E. An overview of the main pathways of metabolic resistance in insects. **Invertebrate Survival Journal**, v. 13, p. 326–335, 2016.

PANIZZI, A. R. Wild Hots of Pentatomids: Ecological Significance and Role in Their Pest Status on Crops. **Annu. Rev. Entomol**, v. 42, p. 99–122, 1997.

PANIZZI, A. R. Suboptimal nutrition and feeding behavior of hemipterans on less preferred plant food sources. **Anais da Sociedade Entomológica do Brasil**, v. 29, n. 1, p. 1–12, 2000.

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, abr. 2013.

- PANIZZI, A. R.; LUCINI, T. What Happened to *Nezara viridula* (L.) in the Americas? Possible Reasons to Explain Populations Decline. **Neotropical Entomology**, v. 45, n. 6, p. 619–628, 1 dez. 2016.
- PANIZZI, A. R.; LUCINI, T. L. The overlooked role of weed plants affecting pest stink bug (Hemiptera: Heteroptera: Pentatomidae) bioecology in the Neotropics. **Arthropod-Plant Interactions**, v. 16, n. 1, p. 1–14, 1 fev. 2022.
- PANIZZI, A. R.; NIVEA C. CINTIA. Overwintering strategy of the brown stink bug in northern Paraná. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 29, p. 509–511, 1994.
- PARRA, J. R. P. Biological control in Brazil: An overview. **Scientia Agricola**, v. 71, n. 5, p. 420–429, 2014.
- PARRA, L. M.; PEREIRA, N. N. DA S.; HOBACK, W. W.; OLIVEIRA, R. C. DE. Release of adults and pupae of *Telenomus podisi* (Hymenoptera: Scelionidae) for the management of *Euschistus heros* (Hemiptera: Pentatomidae) in soybean. **Preprints**, 2023.
- PASCUAL, M. E.; SLOWING, K.; CARRETERO, E.; SÁNCHEZ MATA, D.; VILLAR, A. *Lippia*: Traditional uses, chemistry and pharmacology: A review. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 76, n. 3, p. 201–214, 2001.
- PATRÍCIA, C. H. G.; CLEUSA, A. M. B. K.; VIDICA, B.; ISLEDI, W. DA S.; ILAINE, T. S. G.; JÉSSYCA, B. C.; JOSÉ, A. G. DA S. Effects of *Schinus terebinthifolius* extracts on the control of *Sitophilus* species in stored wheat grains. **African Journal of Agricultural Research**, v. 12, n. 51, p. 3556–3561, 21 dez. 2017.
- PELLEGRINA, H. S. Trade, productivity, and the spatial organization of agriculture: Evidence from Brazil. **Journal of Development Economics**, v. 156, p. 1–19, 1 maio 2022.
- PENEDER, S.; KOSCHIER, E. H. Toxic and behavioural effects of carvacrol and thymol on *Frankliniella occidentalis* larvae. **Source: Journal of Plant Diseases and Protection**, v. 118, n. 1, p. 26–30, 2011.
- PENG, Y.; FANG, Y.; XV, S. The Resistance Mechanism of the Asian Honey Bee, *Apis cerana* Fabr., to an Ectoparasitic Mite, *Varroa jacobsoni* Oudemans. **Journal of Invertebrate Pathology**, v. 49, p. 54–60, 1987.
- PENHA, T.; COSTA, A. C. C.; LIMA, A. DA S.; CAMARGO-MATHIAS, M. I.; BLANK, A. F.; ABREU-SILVA, A. L.; COSTA-JÚNIOR, L. M. Effects of acaricidal essential oils from *Lippia sidoides* and *Lippia gracilis* and their main components on vitellogenesis in *Rhipicephalus microplus* (Canestrini, 1888) (Acari: Ixodidae). **Veterinary Parasitology**, v. 299, p. 1–8, 1 nov. 2021.
- PEREIRA, F. P.; DINIZ, A. J. F.; PARRA, J. R. P. Fertility Life Table, Thermal Requirements, and Ecological Zoning of *Anthonomus grandis grandis* Boheman (Coleoptera: Curculionidae) in Brazil. **Insects**, v. 14, n. 7, p. 582, 26 jun. 2023.
- PERVEEN, F. Sublethal effects of chlorfluazuron on reproductivity and viability of *Spodoptera litura* (F.) (Lep., Noctuidae). **J. Appl. Ent.**, v. 124, p. 223–231, 2000.

PLATA-RUEDA, A.; MARTÍNEZ, L. C.; SANTOS, M. H. DOS; FERNANDES, F. L.; WILCKEN, C. F.; SOARES, M. A.; SERRÃO, J. E.; ZANUNCIO, J. C. Insecticidal activity of garlic essential oil and their constituents against the mealworm beetle, *Tenebrio molitor* Linnaeus (Coleoptera: Tenebrionidae). **Scientific Reports**, v. 7, p. 1–11, 20 abr. 2017.

POLSINELLI, G. A.; SINGH, S. K.; MISHRA, R. K.; SURANYI, R.; RAGSDALE, D. W.; PANG, Y. P.; BRIMIJOIN, S. Insect-specific irreversible inhibitors of acetylcholinesterase in pests including the bed bug, the eastern yellowjacket, German and American cockroaches, and the confused flour beetle. **Chemico-Biological Interactions**, v. 187, n. 1–3, p. 142–147, 1 set. 2010.

REGNAULT-ROGER, C.; VINCENT, C.; ARNASON, J. T. Essential oils in insect control: Low-risk products in a high-stakes world. **Annual Review of Entomology**, v. 57, p. 405–424, 2012.

REHMAN, R.; ASIF HANIF, M. Biosynthetic Factories of Essential Oils: The Aromatic Plants. **Natural Products Chemistry & Research**, v. 04, n. 04, p. 1–12, 2016.

RICKLEFS, R. **Economia Natureza**. [s.l: s.n.].

RODRIGUES, H. S.; HADDI, K.; CAMPOS, M. O.; FERREIRA-FILHO, N. A.; GUEDES, R. N. C.; NEWLAND, P. L.; OLIVEIRA, E. E. Synergism and unintended effects of the association between imidacloprid and sodium chloride (NaCl) on the management of *Euschistus heros*. **Pest Management Science**, v. 77, n. 1, p. 417–424, 2021.

ROGERS, S.M.; NEWLAND, P.L. Local movements evoked by chemical stimulation of the hind leg in the locust *Schistocerca gregaria*. **The Journal of Experimental Biology**, v. 203, p. 423–433, 2000.

ROSA, A. P. A. DA; TRECHA, C. O.; ALVES, A. C.; GARCIA L.; GONÇALVES, V. P. Biologia e tabela de vida de fertilidade de *Spodoptera frugiperda* (J.E. SMITH) em linhagens de milho. **Arq. Inst. Biol**, v. 79, n. 1, p. 39–45, 2012.

ROUBOS, C. R.; RODRIGUEZ-SAONA, C.; ISAACS, R. Mitigating the effects of insecticides on arthropod biological control at field and landscape scales. **Biological Control**, v. 75, p. 28–38, 2014.

RUSSO, R. M.; LIENDO, M. C.; LANDI, L.; PIETRONAVE, H.; MERKE, J.; FAIN, H.; MUNTAABSKI, I.; PALACIO, M. A.; RODRÍGUEZ, G. A.; LANZAVECCHIA, S. B.; SCANNAPIECO, A. C. Grooming Behavior in Naturally Varroa-Resistant *Apis mellifera* Colonies From North-Central Argentina. **Frontiers in Ecology and Evolution**, v. 8, p. 1–14, 22 out. 2020.

RUTTANAPHAN, T.; BULLANGPOTI, V. The potential use of thymol and (R)- (+) -pulegone as detoxifying enzyme inhibitors against *Spodoptera litura* (Lepidoptera: Noctuidae). **Phytoparasitica**, v. 50, n. 4, p. 913–920, 1 set. 2022.

SADEGHI, R.; RAEISI, N. H.; JAMSHIDNIA, A. Immunological responses of *sesamia cretica* to *Ferula ovina* Essential oil. **Journal of Insect Science**, v. 17, n. 1, p. 1–5, 1 jan. 2017.

SADGROVE, N.; JONES, G. A Contemporary Introduction to Essential Oils: Chemistry, Bioactivity and Prospects for Australian Agriculture. **Agriculture**, v. 5, n. 1, p. 48–102, 1 mar. 2015.

SANTOS, M. F.; KRÜGER, A. P.; TURCHEN, L. M.; CUTLER, G. C.; OLIVEIRA, E. E.; GUEDES, R. N. C. Non-targeted insecticidal stress in a pest species: insecticides, sexual fitness and hormesis in the Neotropical brown stink bug *Euschistus heros*. **Annals of Applied Biology**, v. 172, n. 3, p. 375–383, 1 maio 2018.

SANTOS, M. F.; SANTOS, R. L.; TOMÉ, H. V. V.; BARBOSA, W. F.; MARTINS, G. F.; GUEDES, R. N. C.; OLIVEIRA, E. E. Imidacloprid-mediated effects on survival and fertility of the Neotropical brown stink bug *Euschistus heros*. **Journal of Pest Science**, v. 89, n. 1, p. 231–240, 1 mar. 2016.

SARWAR, M. A Glance at Pesticides Usage: Remunerations and Complications Associated with Insecticides Putting in Practice. **Agricultural and Food Science**, v. 2, p. 10–19, 2016.

SCUDELER, E. L.; GARCIA, A. S. G.; PADOVANI, C. R.; PINHEIRO, P. F. F.; SANTOS, D. C. DOS. Cytotoxic effects of neem oil in the midgut of the predator *Ceraeochrysa claveri*. **Mícron**, v. 80, p. 96–111, 2016.

SHARABY, A.; MONTASSER, S. A.; MAHMOUD, Y. A.; IBRAHIM, S. A. ECOLOGIA BALKANICA Natural Plant Essential Oils for Controlling the Grasshopper (*Heteracris littoralis*) and their Pathological Effects on the Alimentary Canal. **Ecologia Balkanica**, v. 4, n. 1, p. 39–52, 2012.

SHCHERBAKOV, V. P. Biological species is the only possible form of existence for higher organisms: The evolutionary meaning of sexual reproduction. **Biology Direct**, v. 5, p. 1–22, 22 mar. 2010.

SHUKER, D. M.; BURDFIELD-STEEL, E. R. Reproductive interference in insects. **Ecological Entomology**, v. 42, p. 65–75, 1 ago. 2017.

SIAL, M. U.; ZHAO, Z.; ZHANG, L.; ZHANG, Y.; MAO, L.; JIANG, H. Evaluation of Insecticides induced hormesis on the demographic parameters of *Myzus persicae* and expression changes of metabolic resistance detoxification genes. **Scientific Reports**, v. 8, n. 1, p. 1–8, 1 dez. 2018.

SILVA, A. J. DA; CANTERI, M. G.; SILVA, A. L. DA. Haste verde e retenção foliar na cultura da soja. **Summa Phytopathologica**, v. 39, n. 3, p. 151–156, 2013.

SILVA, D. C.; ARRIGONI-BLANK, M. DE F.; BACCI, L.; BLANK, A. F.; NUNES FARO, R. R.; OLIVEIRA PINTO, J. A.; GARCIA PEREIRA, K. L. Toxicity and behavioral alterations of essential oils of *Eplingiella fruticosa* genotypes and their major compounds to *Acromyrmex balzani*. **Crop Protection**, v. 116, p. 181–187, 1 fev. 2019.

SILVA, F. A. C.; O-PANIZZI, M. C. C.; BLASSIOLI-MORAES, M. C.; PANIZZI, A. R. Influence of volatile and nonvolatile secondary metabolites from soybean pods on feeding and on oviposition behavior of *Euschistus heros* (Hemiptera: Heteroptera: Pentatomidae). **Environmental Entomology**, v. 42, n. 6, p. 1375–1382, 2013.

SILVA, F. A. C.; SILVA, J. J. DA; DEPIERI, R. A.; PANIZZI, A. R. Feeding Activity, Salivary Amylase Activity, and Superficial Damage to Soybean Seed by Adult *Edessa meditabunda* (F.) and *Euschistus heros* (F.) (Hemiptera: Pentatomidae). **Neotropical Entomology**, v. 41, n. 5, p. 386–390, 1 out. 2012.

SILVA, G. V.; BUENO, A. D. F.; NEVES, P. M. O. J.; FAVETTI, B. M. Biological Characteristics and Parasitism Capacity of *Telenomus podisi* (Hymenoptera: Platygasteridae) on Eggs of *Euschistus heros* (Hemiptera: Pentatomidae). **Journal of Agricultural Science**, v. 10, n. 8, p. 210, 10 jul. 2018.

SMANIOTTO, L. F.; PANIZZI, A. R. Interactions of selected species of stink bugs (Hemiptera: Heteroptera: Pentatomidae) from leguminous crops with plants in the Neotropics. **Source: The Florida Entomologist**, v. 98, n. 1, p. 7–17, 2015.

SMIGIELSKI, K.; PRUSINOWSKA, R.; STOBIECKA, A.; KUNICKA-STYCZYŃSKA, A.; GRUSKA, R. Biological Properties and Chemical Composition of Essential Oils from Flowers and Aerial Parts of Lavender (*Lavandula angustifolia*). **Journal of Essential Oil-Bearing Plants**, v. 21, n. 5, p. 1303–1314, 3 set. 2018.

SOARES, P. L.; CORDEIRO, E. M. G.; SANTOS, F. N. S.; OMOTO, C.; CORREA, A. S. The reunion of two lineages of the Neotropical brown stink bug on soybean lands in the heart of Brazil. **Scientific Reports**, v. 8, n. 1, p. 1–12, 1 dez. 2018.

SODERLUND, D. M.; BLOOMQUIST, J. R. Neurotoxic actions of pyrethroid insecticides. **Annual Reviews Entomol**, v. 34, p. 77–96, 1989.

SOMAVILLA, J. C.; REIS, A. C.; GUBIANI, P. D. S.; GODOY, D. N.; STÜRMER, G. R.; BERNARDI, O.; ANDERSON, T. Susceptibility of *Euschistus heros* and *Dichelops furcatus* (Hemiptera: Pentatomidae) to Selected Insecticides in Brazil. **Journal of Economic Entomology**, v. 113, n. 2, p. 924–931, 6 abr. 2020a.

SOMAVILLA, J. C.; GUBIANI, P. DA S.; REIS, A. C.; FÜHR, F. M.; MACHADO, E. P.; BERNARDI, O. Susceptibility of *Euschistus heros* and *Dichelops furcatus* (Hemiptera: Pentatomidae) to insecticides determined from topical bioassays and diagnostic doses for resistance monitoring of *E. heros* in Brazil. **Crop Protection**, v. 138, p. 1–7, 1 dez. 2020b.

SORIA, M. F.; DEGRANDE, P. E.; PANIZZI, A. R.; TOEWS, M. D. Economic Injury Level of the Neotropical Brown Stink Bug *Euschistus heros* (F.) on Cotton Plants. **Neotropical Entomology**, v. 46, n. 3, p. 324–335, 1 jun. 2017.

SOSA-GÓMEZ, D. R.; CORRÊA-FERREIRA, B. S.; KRAEMER, B.; PASINI, A.; HUSCH, P. E.; DELFINO VIEIRA, C. E.; REIS MARTINEZ, C. B.; NEGRÃO LOPES, I. O. Prevalence, damage, management and insecticide resistance of stink bug populations (Hemiptera: Pentatomidae) in commodity crops. **Agricultural and Forest Entomology**, v. 22, n. 2, p. 99–118, 1 maio 2020.

SOSA-GOMEZ, D. R.; CORSO, I. C.; MORALES, L. Insecticide Resistance to Endosulfan, Monocrotophos and Metamidophos in the Neotropical Brown Stink Bug, *Euschistus heros* (F.). **Neotropical Entomology**, v. 30, n. 2, p. 317–320, 2001.

SOSA-GOMEZ, D. R.; DELPIN, K. E.; ALMEIDA, A. M. R.; HIROSE, E. Diferenciação genética entre populações de *Euschistus heros* (Fabricius) (Heteroptera: Pentatomidae) do Brasil mediante marcadores de RAPD. **Neotropical Entomology**, v. 33, n. 2, p. 179–187, 2004.

SOSA-GOMEZ, D. R.; GOMEZ, G.; SILVA, J. J. DA; OLIVEIRA, I. DE; LOPES, N.; CORSO, I. C.; ALMEIDA, A. M. R.; PIUBELLI DE MORAES, G. C.; BAUR, M. E. Insecticide resistance and resistance management Insecticide Susceptibility of *Euschistus heros* (Heteroptera: Pentatomidae) in Brazil. **J. Econ. Entomol**, v. 102, n. 3, p. 1209–1216, 2009.

SOSA-GÓMEZ, D.; SILVA, J.J. da. Notas Científicas Neotropical brown stink bug (*Euschistus heros*) resistance to methamidophos in Paraná, Brazil. **Pesq. Agropec. Bras**, n. 7, p. 767–769, 2010.

SOSA-GÓMEZ, D. R.; SILVA, J. J. DA. Notas Científicas Neotropical brown stink bug (*Euschistus heros*) resistance to methamidophos in Paraná, Brazil. **Pesq. Agropecuária Brasileira**, v. 45, n. 7, p. 767–769, 2010.

SOUZA, E. S.; SILVA, J. P. G. F.; BALDIN, E. L. L.; PIEROZZI, C. G.; CUNHA, L. S.; CANASSA, V. F.; PANNUTI, L. E. R.; LOURENÇÃO, A. L. Response of Soybean Genotypes Challenged by a Stink Bug Complex (Hemiptera: Pentatomidae). **Journal of Economic Entomology**, v. 109, n. 2, p. 898–906, 1 abr. 2016.

SPARKS, T. C.; LOCKWOOD, J. A.; BYFORD, R. L.; GRAVES, J. B.; LEONARD, B. R. The role of behavior in insecticide resistance. **Pesticide Science**, v. 26, n. 4, p. 383–399, 1989.

STEFANELLO, M. É. A.; PASCOAL, A. C. R. F.; SALVADOR, M. J. Essential oils from neotropical Myrtaceae: Chemical diversity and biological properties. **Chemistry and Biodiversity**, v. 8, n. 1, p. 73–94, 2011.

STRAUB, L.; MINNAMEYER, A.; CAMENZIND, D.; KALBERMATTEN, I.; TOSI, S.; OYSTAEYEN, A. VAN; WÄCKERS, F.; NEUMANN, P.; STROBL, V. Thiamethoxam as an inadvertent anti-aphrodisiac in male bees. **Toxicology Reports**, v. 9, p. 36–45, 1 jan. 2022.

STRAUB, L.; VILLAMAR-BOUZA, L.; BRUCKNER, S.; CHANTAWANNAKUL, P.; GAUTHIER, L.; KHONGPHINITBUNJONG, K.; RETSCHNIG, G.; TROXLER, A.; VIDONDO, B.; NEUMANN, P.; WILLIAMS, G. R. Neonicotinoid insecticides can serve as inadvertent insect contraceptives. **Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences**, v. 283, n. 1835, p. 1–8, 27 jul. 2016.

TABASHNIK, B. E.; MOTA-SANCHEZ, D.; WHALON, M. E.; HOLLINGWORTH, R. M.; CARRIÈRE, Y. Defining terms for proactive management of resistance to Bt crops and pesticides. **Journal of Economic Entomology**, v. 107, n. 2, p. 496–507, 2014.

TEODORO, A. V.; PINTO-ZEVALLOS, D. M.; MENEZES, M. S.; ARRIGONI-BLANK, M. DE F.; OLIVEIRA, E. M. C.; SAMPAIO, T. S.; VASCONCELOS, J. F.; BLANK, A. F. Toxicity and repellency of the essential oil from *Lippia gracilis* to the coconut mite *Aceria guerreronis* (Acari: Eriophyidae). **International Journal of Acarology**, v. 47, n. 5, p. 414–417, 2021.

TESSMER, M. A.; AZEVEDO KUHN, T. M. DE; APPEZZATO-DA-GLÓRIA, B.; LOPES, J. R. S.; ERLER, G.; BONANI, J. P. Histology of Damage Caused by *Euschistus heros* (F.)

Nymphs in Soybean Pods and Seeds. **Neotropical Entomology**, v. 51, n. 1, p. 112–121, 1 fev. 2022.

TILLMAN, P. G.; NORTHFIELD, T. D.; MIZELL, R. F.; RIDDLE, T. C. Spatiotemporal patterns and dispersal of stink bugs (Heteroptera: Pentatomidae) in peanut-cotton farmscapes. **Environmental Entomology**, v. 38, n. 4, p. 1038–1052, 2009.

TOHIDI, B.; RAHIMMALEK, M.; ARZANI, A.; TRINDADE, H. Sequencing and variation of terpene synthase gene (TPS2) as the major gene in biosynthesis of thymol in different *Thymus* species. **Phytochemistry**, v. 169, 1 jan. 2020.

TRIPATHI, A. K.; UPADHYAY, S.; BHUIYAN, M.; BHATTACHARYA, P. R. A review on prospects of essential oils as biopesticide in insect-pest management. **Journal of Pharmacognosy and Phytotherapy**, v. 1, n. 5, p. 52–63, 2009.

TUELHER, E. S.; SILVA, É. H. DA; FREITAS, H. L.; NAMORATO, F. A.; SERRÃO, J. E.; GUEDES, R. N. C.; OLIVEIRA, E. E. Chlorantraniliprole-mediated toxicity and changes in sexual fitness of the Neotropical brown stink bug *Euschistus heros*. **Journal of Pest Science**, v. 90, n. 1, p. 397–405, 1 fev. 2017.

TUELHER, E. S.; SILVA, É. H.; HIROSE, E.; GUEDES, R. N. C.; OLIVEIRA, E. E. Competition between the phytophagous stink bugs *Euschistus heros* and *Piezodorus guildinii* in soybeans. **Pest Management Science**, v. 72, n. 10, p. 1837–1843, 1 out. 2016.

TURCHEN, L. M.; GOLIN, V.; BUTNARIU, A. R.; GUEDES, R. N. C.; PEREIRA, M. J. B. Lethal and sublethal effects of insecticides on the egg parasitoid *Telenomus podisi* (Hymenoptera: Platygasteridae). **Journal of Economic Entomology**, v. 109, n. 1, p. 84–92, 2016.

VICTOR, V. S.; DIAS, W.; SANTOS, T. L. B.; MONTEIRO, G. C.; SARTORI, M. M. P.; LOURENÇÃO, A. L.; BALDIN, E. L. L. Tolerance of soybean genotypes to *Euschistus heros* (Fabricius) (Hemiptera: Pentatomidae). **Phytoparasitica**, v. 50, n. 5, p. 1011–1023, 1 nov. 2022.

VINHA, G. L.; PLATA-RUEDA, A.; SOARES, M. A.; ZANUNCIO, J. C.; SERRÃO, J. E.; MARTÍNEZ, L. C. Deltamethrin-mediated effects on locomotion, respiration, feeding, and histological changes in the midgut of *Spodoptera frugiperda* caterpillars. **Insects**, v. 12, n. 6, p. 1–13, 2021.

WAGNER, T. L.; WU, H.-I.; SHARPE, P. J. H.; SCHOOLFIELD, R. M.; COULSON, R. N. Modeling Insect Development Rates: A Literature Review and Application of a Biophysical Model. **Ann. Entomol. Soc. Am.**, v. 77, p. 208–225, 1984.

WANG, L. XIA *et al.* Genetic diversity center of cultivated soybean (*Glycine max*) in China – New insight and evidence for the diversity center of Chinese cultivated soybean. **Journal of Integrative Agriculture**, v. 15, n. 11, p. 2481–2487, 1 nov. 2016.

WANUMEN, A. C.; CARVALHO, G. A.; MEDINA, P.; VIÑUELA, E.; ADÁN, Á. Residual acute toxicity of some modern insecticides toward two mirid predators of tomato pests. **Journal of Economic Entomology**, v. 109, n. 3, p. 1079–1085, 1 jun. 2016.

WOYANN, L. G.; MEIRA, D.; ZDZIARSKI, A. D.; MATEI, G.; MILIOLI, A. S.; ROSA, A. C.; MADELLA, L. A.; BENIN, G. Multiple-trait selection of soybean for biodiesel production in Brazil. **Industrial Crops and Products**, v. 140, p. 1–7, 15 nov. 2019.

YOUSSEFI, M. R.; TABARI, M. A.; ESFANDIARI, A.; KAZEMI, S.; MOGHADAMNIA, A. A.; SUT, S.; DALL'ACQUA, S.; BENELLI, G.; MAGGI, F. Efficacy of Two Monoterpenoids, Carvacrol and Thymol, and Their Combinations against Eggs and Larvae of the West Nile Vector *Culex pipiens*. **Molecules**, v. 24, n. 10, p. 1–11, 2019.

ZIELIŃSKA-BLAJET, M.; FEDER-KUBIS, J. Monoterpenes and their derivatives—recent development in biological and medical applications. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 21, n. 19, p. 1–38, 1 out. 2020.

ZUCCHI, M. I.; CORDEIRO, E. M. G.; WU, X.; LAMANA, L. M.; BROWN, P. J.; MANJUNATHA, S.; VIANA, J. P. G.; OMOTO, C.; PINHEIRO, J. B.; CLOUGH, S. J. Population genomics of the neotropical brown stink bug, *Euschistus heros*: The most important emerging insect pest to soybean in Brazil. **Frontiers in Genetics**, v. 10, n. OCT, 2019.

4. ARTIGO 1

EXPLORANDO ÓLEOS ESSENCIAIS DE DIFERENTES QUIMIOTIPOS DE *Lippia gracilis* PARA MITIGAR SOBREVIVÊNCIA E REPRODUÇÃO DE *Euschistus heros*

Periódico a ser submetido: *Crop Protection*

RESUMO

Lavouras de soja enfrentam expressivos problemas fitossanitários ocasionados pelo ataque do percevejo-marrom *Euschistus heros* (Hemiptera: Pentatomidae). Esta praga compromete a produtividade de grãos, inviabiliza as sementes e causa desequilíbrio fisiológico nas plantas. O controle desse herbívoro, amplamente realizado com o uso de neonicotinoides, tem apresentado falhas, possivelmente devido ao aumento do potencial biótico do percevejo e à sua resistência metabólica e comportamental aos inseticidas. Óleos essenciais de plantas e seus compostos isolados têm sido apontados como alternativas para o manejo de diferentes insetos-praga. Neste estudo analisamos os efeitos letais e subletais de óleos essenciais dos quimiotipos timol e carvacrol de *Lippia gracilis*, bem como seus compostos majoritários isolados na sobrevivência, desenvolvimento e parâmetros reprodutivos de *E. heros*. Para isso, ninfas de terceiro instar de *E. heros* foram tratadas com os compostos para determinar as curvas de concentração-mortalidade. As CL_{90} e CL_{30} obtidas nestes experimentos foram utilizadas para determinar as TL_{50} e os efeitos subletais no desenvolvimento e nos parâmetros reprodutivos de *E. heros*, respectivamente. Nossos resultados comprovaram a bioatividade dos óleos essenciais dos quimiotipos timol e carvacrol de *L. gracilis* e seus compostos majoritários sobre *E. heros*. Dentre eles, timol foi o composto mais tóxico, como CL_{50} semelhante ao inseticida imidacloprido. De forma geral, os tratamentos alteraram pouco o desenvolvimento de *E. heros*. No entanto, os inseticidas botânicos afetaram negativamente a reprodução do percevejo, com redução da viabilidade dos ovos. O timol foi o composto mais promissor por prejudicar os parâmetros demográficos relacionados com o crescimento populacional de *E. heros*. Os resultados indicam que os compostos botânicos, especialmente o timol, podem ser promissores para o manejo de *E. heros*, em detrimento do inseticida comercial imidacloprido.

Palavras chave: Insecta, parâmetros reprodutivos, timol, respostas olfativas.

REDUCTION IN SURVIVAL AND REPRODUCTIVE POTENTIAL OF THE BROWN STINK BUG *Euschistus heros*: ESSENTIAL OILS FROM CHEMOTYPES OF *Lippia gracilis*

ABSTRACT

Soybean crops are subject to significant phytosanitary problems due to attack from the brown stink bug *Euschistus heros* (Hemiptera: Pentatomidae). This pest compromises grain productivity, renders seeds unviable, and causes physiological imbalance in plants. Control measures against this herbivore, primarily relying on neonicotinoids, have proven unsuccessful, possibly due to increased biotic potential of the insect and to its metabolic and behavioral resistance to insecticides. Plant essential oils and compounds isolated from them have been proposed as alternatives for managing various insect pests. In this study, we analyzed the lethal and sublethal effects of essential oils of the thymol and carvacrol chemotypes of *Lippia gracilis* and the major compounds isolated from *Lippia gracilis* on the survival, development, and reproductive parameters of *E. heros*. For that purpose, third-instar *E. heros* nymphs were treated with the compounds to establish the concentration-mortality curves. The LC₉₀ and LC₃₀ obtained from these experiments were used to determine the LT₅₀ and sublethal effects, respectively, on the development and reproductive parameters of *E. heros*. Our results confirmed the bioactivity of the essential oils of the thymol and carvacrol chemotypes of *L. gracilis*, as well as the major compounds, on *E. heros*. Among them, thymol exhibited the highest toxicity, with a LC₅₀ similar to that of the insecticide imidacloprid. Generally, the treatments had minimal impact on the development of *E. heros*. However, the botanical insecticides negatively affected the reproduction of the brown stink bug, with reduced egg viability. Thymol was most promising in terms of negatively affecting demographic parameters related to the population growth of *E. heros*. The results suggest that botanical compounds, particularly thymol, hold promise for managing *E. heros*, potentially surpassing the effectiveness of the commercial insecticide imidacloprid.

Keywords: Insecta, reproductive parameters, thymol, olfactory responses.

4.1. Introdução

A cultura da soja *Glycine max* L. está entre os produtos agrícolas de maior destaque na exportação brasileira e constitui uma das principais *commodities* comercializadas no mundo. O potencial produtivo desta cultura no Brasil resulta da grande extensão de terras cultivadas, uso de mão de obra qualificada e desenvolvimento de novas tecnologias, que permitem maior monitoramento e previsões que auxiliam no manejo (Eugenio et al., 2020; Lutz & Coradi, 2022; Torsoni et al., 2023). No entanto, mesmo diante dos avanços tecnológicos, problemas fitossanitários reduzem a produtividade das lavouras. Dentre estes, o percevejo-marrom - *Euschistus heros* (Fabricius) (Hemiptera: Pentatomidae) - é um dos herbívoros mais importantes, estando presente desde a região nordeste até o sul do país (Corrêa-Ferreira & De Azevedo, 2002; Depieri & Panizzi, 2011; Sosa-Gómez et al., 2020).

Os danos causados pelo percevejo-marrom decorrem de seu hábito de sugar o conteúdo das vagens da soja, resultando em murcha e má formação dos grãos. Em altas densidades, ocorre a queda das vagens e o impedimento da formação dos hormônios de senescência, o que resulta na paralisia do processo reprodutivo e no prolongamento do estágio vegetativo, ocasionando a desordem fisiológica denominada “soja louca”. Esse distúrbio impede a colheita da soja e afeta diretamente a produtividade e lucratividade da cultura (Silva et al., 2013; Silva et al., 2012). Além disso, ocorre redução da produção de óleo e da taxa de germinação, bem como uma maior disseminação de patógenos (Corrêa-Ferreira & De Azevedo, 2002; Depieri & Panizzi, 2011; Nunes & Corrêa-Ferreira, 2002).

A utilização de inseticidas organossintéticos tem sido a principal forma de controle desta praga. Embora a aplicação de inseticidas sintéticos seja frequentemente utilizada (Somavilla, et al., 2020; Song & Swinton, 2009; Zalucki & Furlong, 2017), estudos demonstram falhas no controle de populações do percevejo-marrom nas principais regiões produtoras de soja no Brasil (Somavilla et al., 2020; Sosa-Gomez et al., 2009; Sosa-Gómez et al., 2020; Sosa-Gómez & Silva, 2010), possivelmente devido à aquisição de resistência aos inseticidas (Tuelher et al., 2017). A resistência de herbívoros a inseticidas é atualmente um dos principais desafios no manejo de pragas no Brasil, e reverter esse processo é muitas vezes difícil e inviável (Sparks et al., 2021; Sparks, Lockwood, Byford, Graves & Roger Leonard, 1989; Sparks & Nauen, 2015). Portanto, é imprescindível que haja uma contínua busca por estratégias de manejo que sejam eficientes e ambientalmente sustentáveis.

Os óleos essenciais de plantas (OEs) e seus compostos majoritários são considerados bons precursores de novas moléculas, representando alternativas aos inseticidas já amplamente utilizados. Os OEs são ricos em monoterpenos e sesquiterpenos, sintetizados por diferentes vias do metabolismo secundário vegetal, e exercem diversas funções, incluindo a defesa contra herbivoria (Bouwmeester et al., 1998; Cane, 1999). A planta medicinal e aromática *Lippia gracilis* Schauer (Verbenaceae), amplamente distribuída no Brasil, possui propriedades inseticidas (Born et al., 2018; Cruz et al., 2013; Melo et al., 2018) contra diferentes espécies de pragas agrícolas (Santos et al., 2019; Melo et al., 2018; Oliveira et al., 2022). Dependendo da proporção de seu composto majoritário, o OE desta planta pode ser caracterizado em três quimiotipos: timol, carvacrol e intermediário (quando possui ambos monoterpenos em elevadas proporções) (Melo et al., 2018). Os monoterpenos fenólicostimol e carvacrol são compostos isômeros que possuem bioatividade reconhecida contra diversos organismos de importância médica e agrícola.

No entanto, ao utilizar qualquer inseticida, seja sintético ou natural, é importante considerar as consequências das doses recebidas pelos insetos. Além da mortalidade *per se*, os resíduos após as aplicações expõem os insetos a doses subletais desses inseticidas (Costa et al., 2023; Dantas et al., 2023; Santos et al., 2023), o que pode acarretar mudanças no desenvolvimento, reprodução e parâmetros demográficos desses organismos. Tais mudanças

nos indivíduos podem refletir em impactos no tamanho das populações de pragas e ser um importante indicativo do potencial de uma nova molécula inseticida (Lima et al., 2020; Santos et al., 2023).

Dessa forma, hipotetizamos que os inseticidas botânicos apresentam efeitos letais e subletais que, em conjunto, são promissores para o controle populacional de *E. heros* em comparação aos inseticidas sintéticos comerciais. Para testar esta hipótese, avaliamos os efeitos letais e subletais de óleos essenciais dos quimiotipos timol e carvacrol de *L. gracilis*, bem como de seus compostos majoritários isolados, na sobrevivência, desenvolvimento e parâmetros reprodutivos de *E. heros* e comparamos com os efeitos do inseticida comercial imidacloprido.

4.2. Material e Métodos

4.2.1 Obtenção dos insetos e manutenção da criação

Para estabelecimento da criação, cerca de 6000 ovos de *E. heros* foram obtidos da empresa Pragas.com (Rua Princesa Isabel, Jardim Pacaembu, Piracicaba, SP). A criação foi mantida em condições laboratoriais, em sala climatizada com temperatura de $25 \pm 2^\circ\text{C}$, umidade relativa de $70 \pm 10\%$ e fotoperíodo de 12h, na Universidade Federal de Sergipe (UFS), São Cristóvão- SE ($10^\circ 54' \text{ S}$, $37^\circ 04' \text{ W}$, 7 m de altitude), Brasil.

Os ovos assim que chegaram foram separados em grupos de 200 e colocados em placas de Petri (Global Trade Technology, Monte Alto, SP, Brasil) ($\varnothing 9 \times 1,5 \text{ cm}$) forradas com disco de papel filtro (Unifil) e um pedaço de algodão umedecido com 200 μL de água destilada preso à tampa para manter a umidade no interior da placa. Após a eclosão dos ovos, as ninfas de primeiro instar foram mantidas na placa sem alimentação e com adição de água destilada no algodão quando necessário até atingirem o segundo instar.

Cada placa contendo as ninfas de segundo instar foi transferida para gaiolas de plástico transparente (32 cm de comprimento x 23 cm de largura x 10 cm de altura), contendo papel filtro no fundo e tecido organza na tampa para impedir a fuga dos insetos e permitir trocas gasosas (Marilurdes et al., 2006). Nas gaiolas foi adicionada uma placa de Petri com algodão umedecido com 100 ml de água destilada e alimentação *ad libitum*, que consistiu em uma mistura de vagens de feijão verde (*Phaseolus vulgaris* L.), grãos de soja (*Glycine max* L.), amendoim cru (*Arachis hypogaea* L.) e sementes de girassol (*Helianthus annuus* L.). As gaiolas foram limpas e a alimentação, a água destilada e o papel filtro foram trocados a cada três dias até a fase adulta.

Os adultos foram transferidos para uma gaiola maior (50 cm de comprimento x 30 cm de largura x 15 cm de altura), nas mesmas condições das gaiolas de ninfas. Como substrato de ovoposição, retalhos de algodão cru foram dispostos no interior das gaiolas. Os ovos foram retirados diariamente e acondicionados em placas de Petri ($\varnothing 9 \times 1,5 \text{ cm}$) forradas com disco de papel filtro (Unifil) e um pedaço de algodão umedecido com 200 μL de água destilada preso à tampa.

4.2.2 Obtenção dos compostos

Os OEs dos quimiotipos timol e carvacrol de *L. gracilis* foram obtidos dos acessos LGRA106 e LGRA109, mantidos no banco de germoplasma no Campus Rural da UFS, São Cristóvão, SE, Brasil ($10^\circ 55' \text{ S}$, $37^\circ 11' \text{ W}$, 18 m de altitude).

As folhas dos acessos foram retiradas e secas em estufa a $40 \pm 1^\circ\text{C}$ por quatro dias. Os OEs foram extraídos por meio de hidrodestilação em aparelho do tipo Clevenger modificado e acondicionados em frascos de vidro de âmbar no freezer a -4°C . As análises químicas para identificação e quantificação dos compostos foram realizadas de acordo com Oliveira et al. (2017). Os compostos majoritários timol e carvacrol foram adquiridos da empresa Sigma-Aldrich (Saint Louis, Missouri, EUA) e o inseticida organossintético imidacloprido (700 g

i.a/Kg (Evidence® 700 WG; Bayer CropScience, São Paulo-SP, Brasil)) foi adquirido comercialmente.

4.2.3 Bioensaios

Todos os bioensaios foram realizados em condições laboratoriais, em sala climatizada com temperatura de $25\pm 2^{\circ}\text{C}$, umidade relativa de $70\pm 10\%$ e fotoperíodo de 12h, na Universidade Federal de Sergipe (UFS), São Cristóvão- SE ($10^{\circ}54' \text{ S}$, $37^{\circ}04' \text{ W}$, 7 m de altitude), Brasil.

Os tratamentos utilizados foram os OEs dos quimiotipos timol e carvacrol de *L. gracilis*, seus compostos majoritários timol e carvacrol e o inseticida imidacloprido como controle positivo. O solvente utilizado para diluição dos compostos foi acetona (Panreac, UV-IR-HPLC-GPCPAI-ACS, 99,9%).

4.2.3.1 Concentração-mortalidade

Para obtenção das curvas de concentração-mortalidade, ninfas de terceiro instar de *E. heros* recém emergidas foram pesadas individualmente em balança de precisão (Shimadzu corporation, AUW220D, Barueri, São Paulo, Brazil) para manter um padrão no tamanho ($0,004301 \pm 0,000456 \text{ g}$) utilizado nos bioensaios. O delineamento experimental foi inteiramente casualizado com 12 repetições. Cada repetição foi composta por cinco ninfas de terceiro instar de *E. heros*, totalizando 60 ninfas/concentração/tratamento. A unidade experimental consistiu em uma placa de Petri (Global Trade Technology, Monte Alto, SP, Brasil) ($\varnothing 6 \times 1,5 \text{ cm}$), com a borda interna coberta por uma fina camada de vaselina sólida atóxica (Vasemax, 25 mg) e o fundo forrado com disco de papel filtro (Unifil). A vaselina foi empregada para evitar a subida das ninfas e mantê-las em contato com o tratamento, e o disco de papel filtro (Unifil) foi utilizado como substrato para receber os tratamentos.

As curvas foram estabelecidas utilizando inicialmente quatro concentrações (1, 5, 10 e 20 mg do composto por ml de solução) de cada tratamento. Em seguida, concentrações intermediárias (de cinco a oito) foram utilizadas para traçar as curvas de concentração-mortalidade. O papel filtro foi tratado com 200 μL de cada combinação tratamento x concentração com o uso de micropipeta de 100 a 1000 μL (Labmate pro). No controle foi aplicado somente acetona. Após a aplicação dos tratamentos, as placas contendo o papel filtro tratados foram mantidas por 5 min em câmara de exaustão para permitir a evaporação do solvente. Em seguida, as ninfas de terceiro instar de *E. heros* foram transferidas para cada uma das placas, as quais foram cobertas com tecido do tipo organza, a fim de impedir a fuga e facilitar a troca gasosa dos insetos. Testes preliminares indicaram que a acetona e a vaselina não afetaram a sobrevivência ou comportamento das ninfas de *E. heros*.

A mortalidade das ninfas foi avaliada 72h após a montagem do experimento. Foram considerados mortos os insetos que não apresentaram movimentação após o estímulo de um pincel.

4.2.3.2 Curva de sobrevivência e tempo letal

Para determinar as curvas de sobrevivência e o tempo letal para matar 50% da população (TL_{50}) de ninfas *E. heros*, os procedimentos adotados foram semelhantes à do bioensaio anterior, com exceção do número de repetições, concentração e tempo de avaliação da mortalidade. Foram utilizadas 20 repetições (100 ninfas/tratamento) e as CL_{90} obtidas para cada tratamento no bioensaio concentração-mortalidade. No controle foi utilizado apenas o solvente acetona.

A mortalidade foi avaliada a cada 10, 30 e 60 min até completar 1, 4 e 6h, respectivamente. As avaliações seguintes foram realizadas a cada 2 e 4h até completar 24 e 48h,

respectivamente. Posteriormente, foram realizadas avaliações com intervalos de 24h até completar 144h, desde o início da aplicação dos tratamentos.

4.2.3.3 Parâmetros biológicos

Para avaliar os efeitos dos compostos nos parâmetros biológicos de *E. heros*, 200 ninfas de terceiro instar (5/placa de Petri), por tratamento, foram expostas às CL₃₀ obtidas nos bioensaios de concentração-mortalidade. O controle consistiu em ninfas expostas apenas ao solvente acetona. Inicialmente os procedimentos adotados foram semelhantes aos do bioensaio de concentração-mortalidade. Após 72h de exposição, as ninfas foram individualizadas em placas de Petri (Ø 6 x 1,5 cm) e foi fornecido *ad libitum*, os mesmos alimentos utilizados na criação. A mortalidade e a duração de cada instar foram avaliadas diariamente e os alimentos trocados a cada dois dias.

Os indivíduos que chegaram à fase adulta foram sexados, pesados. Em seguida, foram estabelecidos 10 casais provenientes de cada tratamento, considerando-se diferença de idade máxima de 48h. Cada casal foi acondicionado em um pote plástico de 250 ml, contendo alimentação *ad libitum* e vedados com tecido organza.

O número de ovos/fêmea, número de massa de ovos, eclosão de ovos, período de pré-ovoposição, ovoposição, pós-ovoposição, longevidade de machos e fêmeas, taxas de sobrevivência de cada sexo foram registrados diariamente, até a morte dos casais.

4.2.3.4 Tabela de vida de fertilidade

A partir dos dados de sobrevivência e reprodução obtidos, por meio da exposição das ninfas à CL₃₀ dos tratamentos, foram calculados os parâmetros de tabela de vida de fertilidade: x = idade média dos insetos, considerada desde a fase de ovo, lx = taxa de sobrevivência (taxa de sobrevivência a partir da idade zero ao início da idade x), mx = fertilidade específica (número de fêmeas produzidas por fêmea sobrevivente no intervalo da idade x) e $lx.mx$ = número total de fêmeas nascidas na idade x .

Para obtenção da tabela de vida de fertilidade foram calculados os seguintes parâmetros: taxa reprodutiva líquida (R_0) (número de fêmeas adicionadas por fêmea durante sua vida), tempo médio de geração (T) (tempo entre o nascimento dos pais e dos filhos), taxa intrínseca de crescimento (rm) (taxa de aumento populacional por unidade de tempo), razão finita de crescimento (λ) e tempo necessário para a população duplicar em número (TD), seguindo a metodologia (Santos et al., 2023).

4.2.3.5 Preferência olfativa

O bioensaio foi conduzido a fim de verificar se há mudança na preferência olfativa de machos em relação à fonte alimentar e odor da fêmea na presença dos tratamentos. Os testes foram conduzidos em olfatômetro em “Y”. A velocidade da corrente de ar em cada braço do olfatômetro foi de 1,0 L/min. Cada braço foi conectado a um pote hermeticamente fechado contendo uma mistura de uma vagem, dois grãos, duas sementes (*Phaseolus vulgaris* L., *Glycine max* L., *Arachis hypogaea* L. e *Helianthus annuus* L.) e uma fêmea virgem de *E. heros* em maturidade sexual (idade de 13 dias). Em um dos braços, além do alimento e da fêmea, também foi inserido um papel filtro (Unifil, Ø 6 cm) tratado com 0,2 mL das CL₉₀ de um dos tratamentos (OEs, compostos majoritários, imidacloprido e acetona - controle) determinadas nos bioensaios de concentração-mortalidade. No outro braço, foi inserido um papel filtro contendo apenas acetona. O delineamento foi inteiramente casualizado e com 35 repetições.

Machos virgens, também em maturidade sexual (11 dias), foram colocados na abertura inicial do tubo. Cada observação foi encerrada quando o inseto atingiu o final de um dos braços do olfatômetro, ou quando se atingiu o tempo limite de 10 min de observação. Os machos foram trocados a cada repetição.

4.2.4 Análise estatística

Os dados de mortalidade obtidos nos bioensaios de toxicidade para cada um dos tratamentos foram submetidos à análise de Probit para determinação das curvas de concentração-resposta utilizando o protocolo PROC PROBIT (SAS Institute, 2008). Foram obtidas curvas com probabilidade de aceitação da hipótese de nulidade (de que os dados apresentam distribuição de Probit) maior que 0,05 pelo teste de qui-quadrado. A partir dessas curvas foram obtidas as concentrações subletais 30, 50 e 90 (CL₃₀, CL₅₀ e CL₉₀) e seus respectivos limites de confiança a 95% de probabilidade (LC₉₅).

As análises de sobrevivência foram realizadas usando estimadores de Kaplan-Meier por meio do teste de Log-Rank (SigmaPlot, versão 13.0). Por meio dessa análise, foram obtidas as curvas de sobrevivência e tempos letais capazes de causar mortalidade em 50% dos indivíduos (TL₅₀), com seus respectivos intervalos de confiança a 95% (IC_{95%}). As curvas foram comparadas pelo método de comparações múltiplas de Holm-Sidak a 5% de probabilidade (SigmaPlot, versão 13.0).

Os dados dos parâmetros biológicos e de tabela de vida de fertilidade foram submetidos inicialmente aos testes de Shapiro-Wilk e Levene para verificar se apresentavam normalidade dos dados e homogeneidade de variação. Dados que apresentaram normalidade e homogeneidade foram submetidos à análise de variância seguida pelo teste de Dunnett's ($P < 0,05$). Já os dados que não passaram nos testes de Shapiro-Wilk e Levene foram submetidos à análise não paramétrica de Kruskal-Wallis, seguida do teste comparação múltipla de Dunn's ($P < 0,05$), para verificar diferenças entre os tratamentos e o controle (SigmaPlot 13.0). Os parâmetros de tabela de vida de fertilidade foram estimados utilizando a técnica Jackknife no Programa estatístico SAS (Maia & Luiz, 2006).

4.3. Resultados

4.3.1 Caracterização dos OEs

Foram identificados 15 e 17 compostos nos OEs do acesso LgThy e LgCar representando 99,5 e 98,9% da composição química dos óleos, respectivamente. Os OEs destes acessos foram denominados pelo composto majoritário, sendo o timol encontrado na proporção 44,91% (LgThy – quimiotipo timol) e o carvacrol na proporção 44,34% (LgCar – quimiotipo carvacrol) (Tabela 1).

4.3.2 Toxicidade

Os OEs dos quimiotipos timol e carvacrol de *L. gracilis* e seus compostos majoritários isolados foram tóxicos para ninfas de terceiro instar de *E. heros*. As CL₅₀ variaram de 0,20 a 0,77 mg/ml. Timol foi o composto mais tóxico, entre os botânicos, sendo necessárias 0,20 mg/ml para matar 50% da população de *E. heros*. A sua CL₅₀ foi inferior à observada para seu respectivo OE (0,53 mg/ml) e semelhante ao inseticida imidacloprido (0,16 mg/ml). Já as toxicidades do OE do quimiotipo carvacrol de *L. gracilis* e seu composto isolado não diferiram pelo critério de sobreposição do intervalo de confiança (IC_{95%}) com a origem do intervalo (Tabela 2).

A sobrevivência de ninfas de terceiro instar de *E. heros* expostas à CL₉₀ dos tratamentos foi significativamente reduzida com o passar do tempo (Teste de log-rank: $X^2 = 213,5$; $g.l. = 5$; $p < 0,001$) (Fig. 1). As curvas de sobrevivência de ninfas de *E. heros* expostas aos tratamentos não diferiram, com exceção da curva do timol. Este composto causou mortalidade mais lenta, com TL₅₀ de 68,6h. O inseticida botânico que causou mortalidade mais rápida foi o carvacrol (TL₅₀ = 47,9), não diferindo do inseticida organossintético imidacloprido (TL₅₀ = 43,2). Os tempos letais dos OEs dos quimiotipos LgThy e LgCar não diferiram, na média, estes compostos levaram 54h para causar 50% de mortalidade na população de *E. heros* (Fig. 1).

4.3.3 Desenvolvimento e longevidade

Antes das aplicações dos tratamentos, os estádios de desenvolvimento de *E. heros* de ovo e ninfas de primeiro e segundo instares, não apresentaram diferenças no desenvolvimento. As médias observadas para esses estádios foram de $6,0 \pm 0,0$; $4,0 \pm 0,0$ e $6,0 \pm 0,0$ dias ($P = 1,00$), respectivamente.

Com a exposição de ninfas de terceiro instar de *E. heros* às CL₃₀ dos tratamentos, a duração deste instar foi aumentada em todos os tratamentos em relação ao controle, com exceção para ninfas expostas ao OE do quimiotipo carvacrol de *L. gracilis* ($H = 167,82$; g.l. = 5; $p < 0,001$). Na média, o OE do quimiotipo timol, timol, carvacrol e imidacloprido aumentaram 0,9; 1,2; 1,2 e 2,1 dias a duração deste instar em relação ao controle (4,1 dias), respectivamente (Fig. 2a). No quarto instar, apenas as ninfas expostas ao OE do quimiotipo timol de *L. gracilis* diferiu do controle ($H = 61,09$; g.l. = 5; $P < 0,01$). A duração deste instar reduziu 0,9 dias (Fig. 2b). Não houve diferenças na duração do quinto instar das ninfas tratadas em relação ao controle ($H = 9,45$; g.l. = 5; $P < 0,09$) (Fig. 2c), porém as alterações ocorridas no terceiro e quarto instares alteraram o desenvolvimento total do estágio ninfal ($H = 67,14$; g.l. = 5; $P < 0,001$) (Fig. 2d). O desenvolvimento total das ninfas de *E. heros* foi aumentado quando os insetos foram expostos aos compostos timol e carvacrol e ao inseticida imidacloprido. Na média, a duração passou de $34,7 \pm 0,41$ dias (controle) para $37,1 \pm 0,67$; $36,9 \pm 0,50$ e $38,4 \pm 0,56$ dias, respectivamente (Fig. 2d). Não foram observadas diferenças significativas nas longevidades de machos ($F = 1,55$; g.l. = 5; $P = 0,189$) (Fig. 2e) e fêmeas ($F = 0,30$; g.l. = 5; $P = 0,912$) (Fig. 2f).

4.3.4 Massa

A exposição de ninfas de terceiro instar de *E. heros* às CL₃₀ do OE do quimiotipo timol de *L. gracilis* e do carvacrol resultou na formação de fêmeas ($H = 17,66$; g.l. = 5; $P = 0,003$) (Fig. 3a) e machos ($H = 21,02$; g.l. = 5; $P < 0,001$) (Fig. 3b) com maior massa em relação ao controle, respectivamente. A massa de fêmeas e machos de *E. heros* aumentaram 3,5 e 4,7% quando as ninfas de terceiro instar foram submetidas a estes compostos (Fig. 3).

4.3.5 Parâmetros reprodutivos

Não houveram diferenças entre os tratamentos e o controle no período de pré-ovoposição ($H = 8,66$; g.l. = 5; $P = 0,12$), período de ovoposição ($F = 1,38$; g.l. = 5; $P = 0,25$), número de ovos por fêmea ($F = 0,54$; g.l. = 5; $P = 0,74$), massas de ovos por fêmea ($F = 0,86$; g.l. = 5; $P = 0,52$), número de ovos por massa de ovos ($F = 3,58$; g.l. = 5; $P = 0,008$) e ninfas por fêmea ($F = 1,11$; g.l. = 5; $P = 0,37$) (Tabela 2). Todos os inseticidas botânicos reduziram a viabilidade dos ovos em relação ao controle ($91,3 \pm 2,05$) ($H = 28,13$; g.l. = 5; $P < 0,001$). Os OEs dos quimiotipos timol e carvacrol e seus compostos isolados – timol e carvacrol, reduziram este parâmetro em 37, 27, 32 e 29%, respectivamente (Tabela 3).

4.3.6 Parâmetros demográficos

A taxa reprodutiva líquida (R_0) não foi afetada pelos tratamentos ($F = 0,99$; g.l. = 5; $P = 0,44$). A taxa intrínseca de crescimento (rm) ($F = 2,62$; g.l. = 5; $P = 0,03$) e razão finita de aumento (λ) ($H = 2,61$; g.l. = 5; $P = 0,03$) diminuíram com a exposição das ninfas ao timol. Por outro lado, o tempo médio de geração (T) ($H = 11,47$; g.l. = 5; $P = 0,04$) e o tempo de duplicação (TD) ($H = 10,07$; g.l. = 5; $P = 0,07$) de ninfas expostas ao timol aumentaram. Os demais tratamentos não afetaram os parâmetros demográficos (Tabela 4).

4.4. Discussão

Este estudo demonstrou o potencial letal e subletal dos OEs de *L. gracilis* e dos seus compostos majoritários timol e carvacrol sobre o percevejo *E. heros*. Resultados semelhantes de toxicidade foram observados em relação a *Diaphania hyalinata* (Linnaeus) (Melo et al., 2018). O composto isolado timol mostrou-se semelhante ao inseticida organossintético imidacloprido, uma vez que, além dos efeitos letais e alterações no desenvolvimento, também causou redução significativa nos parâmetros reprodutivos e no crescimento populacional da praga.

A toxicidade dos OEs pode resultar da ação complexa de seus constituintes ou da bioatividade específica de alguns de seus componentes (Bakkali et al., 2008), os quais podem variar de acordo com o quimiotipo vegetal (Demissie, Sarker & Mahmoud, 2011; Rehman & Asif Hanif, 2016; Smigielski et al., 2018) (Tabela 1). No presente trabalho, os óleos dos quimiotipos de *L. gracilis* foram menos tóxicos que seus respectivos compostos majoritários, possivelmente, por em sua constituição haver menor presença de timol (44,91%) e carvacrol (44,34%) (Tabela 2). Ademais, os compostos isolados podem ter sido mais tóxicos por sua composição ser pura e pela maior capacidade de penetração na cutícula do inseto (Tak et al., 2016). Sabe-se que o timol penetra facilmente na cutícula, porém sua velocidade de ação é mais lenta do que outros compostos (Waliwitiya et al., 2010), a lipoficidade do carvacrol é maior do que para o timol, o que explicaria o carvacrol ter reduzido 50% da população mais rapidamente (Fig. 1) (Gaire et al., 2019).

Embora o mecanismo de ação do timol ainda não seja totalmente compreendido, acredita-se que este possa reduzir a atividade das enzimas carboxilesterases e do citocromo P₄₅₀ (Ruttanaphan & Bullangpoti, 2022), além de atuar no neurotransmissor do GABA (Waliwitiya et al., 2010). Provavelmente, esse composto majoritário reduz de maneira significativa as atividades enzimáticas, interrompendo respostas metabólicas e a sobrevivência (Shahriari et al., 2017), além de inibir a enzima acetilcolinesterase (Jukic et al., 2007).

Por sua vez, o mecanismo de detoxificação dos insetos pode gerar *trade-offs* importantes que interferem na capacidade reprodutiva (Loof De, 2011). Embora os inseticidas botânicos não tenham causado mudanças no período de oviposição e no número de ovos por fêmeas, a viabilidade dos ovos foi significativamente reduzida (Tabela 3). Estes resultados podem indicar que os indivíduos de *E. heros* expostos a esses compostos alocaram mais energia para sobrevivência, ao invés de destinarem a energia para a maturação de oócitos. Tanto as fêmeas quanto os machos, por exemplo, acumularam maior massa sob efeitos do OE do quimiotipo timol de *L. gracilis* e do carvacrol, respectivamente (Fig. 3). O corpo gorduroso de insetos desempenha diversas atividades e funções metabólicas que envolvem aspectos endócrinos, nutricionais, reprodutivos e de detoxificação.

O custo energético para detoxificação dos compostos bioativos também parece ter ocorrido durante o estágio ninfal, uma vez que as ninfas tratadas com os compostos bioativos gastaram maior tempo para desenvolvimento (Fig. 2) (Santos et al., 2023). Além disso, o maior tempo nesse estágio pode ter relação com a resposta imune adaptativa, pela capacidade de “lembrar” do composto ou produzir uma defesa de acordo com o elicitador (Cooper & Eleftherianos, 2017).

Outra hipótese que pode explicar a redução no *fitness* pode estar relacionada à ação direta dos compostos sobre os sistemas vitais do inseto. Sabe-se que os OEs de plantas podem interferir no sistema nervoso por meio da inibição da acetilcolinesterase (Polsinelli et al., 2010), no sistema digestivo por meio da inativação de enzimas (Bigham et al., 2010; Elpidina et al., 2001), também causar alterações no corpo gorduroso (Cossolin et al., 2019) e distúrbios no aparelho reprodutor (Ghazawy, 2012; Maroneze & Gallegos, 2009). Como resultado, OEs e seus compostos, como o timol, podem causar efeitos prejudiciais em parâmetros reprodutivos, como fertilidade como observado neste estudo e em outros estudos com diferentes grupos de

insetos (De Souza et al., 2021; Guedes et al., 2006; Haddi et al., 2016; Hategekimana & Erler, 2020).

Bioensaios focados em parâmetros demográficos fornecem estimativas dos impactos causados por xenobióticos em insetos de importância agrícola, pois avaliam os efeitos que um produto pode ter em uma população (De Franca et al., 2017). Desta maneira, nossos resultados demonstraram o potencial do OE de *L. gracilis* e, principalmente, do timol, como alternativas ao manejo de *E. heros*. Além dos efeitos letais, houve um aumento no tempo de desenvolvimento do inseto, bem como uma redução no potencial de crescimento populacional, aumentando o tempo médio para duplicação da população (Tabela 4). Pode-se prever que, em condições naturais, a redução no crescimento populacional seja ainda mais evidente, uma vez que o aumento do tempo de desenvolvimento das ninfas pode tornar os insetos mais vulneráveis aos diferentes tipos de fatores de mortalidade, sejam bióticos ou abióticos. Por outro lado, estudos indicam que os inseticidas organossintéticos utilizados no controle de *E. heros* têm demonstrado falhas, mesmo com altas quantidades de aplicações (Bueno et al., 2015; Tuelher et al., 2018). Essas falhas parecem estar principalmente relacionadas à resistência de *E. heros* via contato tarsal (Castellanos et al., 2019). Estudos voltados para efeitos subletais são importantes no Manejo Integrado de Pragas, pois embora não causem a morte do inseto, interferem em características biológicas responsáveis pela redução populacional nas gerações seguintes (Pal et al., 2023).

Observamos aqui que, apesar da alta toxicidade, o imidacloprido não afetou negativamente os aspectos de desenvolvimento (Fig. 2) e reprodutivos (Tabela 3) e, conseqüentemente, não teve efeito sobre os parâmetros demográficos da população do percevejo (Tabela 4). Embora não tenha causado consequências negativas na biologia do percevejo, neonicotinoides são descritos por não serem seletivos a organismos não alvo como predadores (Resende-Silva et al., 2023), comprometem o parasitismo e emergência do seu principal parasitoide *Telonomus podisi* (Turchen et al., 2016) e polinizadores, principalmente a capacidade de locomoção e orientação de voo, enquanto o timol pouco afeta estes parâmetros (Christen et al., 2021; Matos et al., 2021). O que comprometeria a regulação da população de percevejos em união ao controle biológico.

Ademais, quando dada a oportunidade de escolha, os machos adultos mostraram preferência pelas áreas sem tratamento de bioinseticidas (Fig.4), possivelmente devido à detecção dos compostos voláteis presentes na área em uma tentativa de evitá-los (Brito et al., 2020), isso se dá, possivelmente, pela presença de um complexo de proteínas presentes nas antenas do inseto, (Laughlin et al., 2008; Tszakowski et al., 2023) em machos de *E. heros* a maior expressão dessas proteínas do que em fêmeas (Farias et al., 2014). Essas pistas olfativas são utilizadas pelos insetos para localizar parceiros sexuais e plantas hospedeiras, neste caso, as plumas de odor emitidas pelos OEs e compostos majoritários podem ter atuado como disruptor de informações para comunicação química, assim como ocorre para outros fitófagos (Lürling & Scheffer, 2007), se o inseto não consegue identificar o substrato alimentar e o parceiro para acasalamento há redução das chances reprodutivas (Tricoire-Leignel et al., 2012).

Por sua vez, se os insetos não ficam confusos e chegam até as áreas em que há resíduos de imidacloprido (Fig.4), não haverá comprometimento do acasalamento, acrescentado aos fatos de os machos aumentarem hormeticamente sua aptidão sexual quando estimulado pelo neonicotinoide (Haddi et al., 2016). Assim, além da influência sobre os indivíduos que foram diretamente expostos aos tratamentos, estes podem afetar as gerações subsequentes (Rebora et al., 2021).

Desta forma, este estudo evidencia o potencial do OE de *L. gracilis*, principalmente o composto majoritário timol, por seus efeitos deletérios na biologia e resposta olfativa do percevejo, como uma alternativa promissora para novas moléculas inseticidas no manejo de *E. heros*.

4.5. Referências Bibliográficas

- Bakkali, F., Averbeck, S., Averbeck, D., & Idaomar, M. (2008). Biological effects of essential oils - A review. *Food and Chemical Toxicology*, 46(2), 446–475. <https://doi.org/10.1016/j.fct.2007.09.106>
- Bigham, M., Hosseininaveh, V., Nabavi, B., Talebi, K., & Esmaeilzadeh, N. S. (2010). Effects of essential oil from *Teucrium polium* on some digestive enzyme activities of *Musca domestica*. *Entomological Research*, 40(1), 37–45. <https://doi.org/10.1111/j.1748-5967.2009.00260.x>
- Borges Marilurdes, Silva Cleonor, Laumann Raul Alberto, & Moraes Maria Carolina Blassioli. (2006). Metodologias de criação e manejo de colônias de percevejos da soja (Hemiptera-Pentatomidae) para estudos de comportamento e ecologia química. *Documentos/ Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia*, 1–19.
- Born, F. de S., da Camara, C. A. G., de Melo, J. P. R., & de Moraes, M. M. (2018). Acaricidal property of the essential oil from *Lippia gracilis* against *Tetranychus urticae* and a natural enemy, *Neoseiulus californicus*, under greenhouse conditions. *Experimental and Applied Acarology*, 75(4), 491–502. <https://doi.org/10.1007/s10493-018-0286-3>
- Brito, F. de A., Bacci, L., Santana, A. da S., Silva, J. E. da, Nizio, D. A. de C., Nogueira, P. C. de L., Arrigoni-Blank, M. de F., Melo, C. R., Melo, J. O. de, & Blank, A. F. (2020). Toxicity and behavioral alterations caused by essential oils of *Croton tetradenius* and their major compounds on *Acromyrmex balzani*. *Crop Protection*, 137. <https://doi.org/10.1016/j.cropro.2020.105259>
- Bueno, A. F., Paula-Moraes, S. V., Gazzoni, D. L., & Pomari, A. F. (2013). Economic Thresholds in Soybean-Integrated Pest Management: Old Concepts, Current Adoption, and Adequacy. *Neotropical Entomology*, 42(5), 439–447. <https://doi.org/10.1007/s13744-013-0167-8>
- Cane, D. E. (1999). Sesquiterpene Biosynthesis: Cyclization Mechanisms. *Comprehensive Natural Products Chemistry*, 155–200. <https://doi.org/10.1016/b978-0-08-091283-7.00039-4>
- Castellanos, N. L., Haddi, K., Carvalho, G. A., de Paulo, P. D., Hirose, E., Guedes, R. N. C., Smagghe, G., & Oliveira, E. E. (2019). Imidacloprid resistance in the Neotropical brown stink bug *Euschistus heros*: selection and fitness costs. *Journal of Pest Science*, 92(2), 847–860. <https://doi.org/10.1007/s10340-018-1048-z>
- Christen, V., Grossar, D., Charrière, J.-D., Eyer, M., & Jeker, L. (2021). Correlation Between Increased Homing Flight Duration and Altered Gene Expression in the Brain of Honey Bee Foragers After Acute Oral Exposure to Thiacloprid and Thiamethoxam. *Frontiers in Insect Science*, 1, 1–15. <https://doi.org/10.3389/finsec.2021.765570>
- Cooper, D., & Eleftherianos, I. (2017). Memory and specificity in the insect immune system: Current perspectives and future challenges. *Frontiers in Immunology*, 8(MAY), 1–6. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2017.00539>
- Corrêa-Ferreira, B. S., & De Azevedo, J. (2002). Soybean seed damage by different species of stink bugs. *Agricultural and Forest Entomology*, 4(2), 145–150. <https://doi.org/10.1046/j.1461-9563.2002.00136.x>

- Cossolin, J. F. S., Pereira, M. J. B., Martínez, L. C., Turchen, L. M., Fiaz, M., Bozdoğan, H., & Serrão, J. E. (2019). Cytotoxicity of *Piper aduncum* (Piperaceae) essential oil in brown stink bug *Euschistus heros* (Heteroptera: Pentatomidae). *Ecotoxicology*, 28(7), 763–770. <https://doi.org/10.1007/s10646-019-02072-8>
- Costa, T. L., Santos, R. C. dos, Santos, A. A., Pimentel, E. de S., Lima, E., Batista, C. V., Bacci, L., Freitas, D. R. de, & Picanço, M. C. (2023). Lethal and Sublethal Effects of an Essential Oil-Based Emulsion of Patchouli, *Pogostemon cablin* (Lamiaceae), on the Tomato Leafminer. *Agriculture*, 13(8), 1540. <https://doi.org/10.3390/agriculture13081540>
- Cruz, E. M. de O., Costa-Junior, L. M., Pinto, J. A. O., Santos, D. de A., Araujo, S. A. de Arrigoni-Blank, M. de F., Bacci, L., Alves, P. B., Cavalcanti, S. C. de H., & Blank, A. F. (2013). Acaricidal activity of *Lippia gracilis* essential oil and its major constituents on the tick *Rhipicephalus* (Boophilus) microplus. *Veterinary Parasitology*, 195(1–2), 198–202. <https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2012.12.046>
- Silva, A. J., Canteri, M. G., & da Silva, A. L. (2013). Haste verde e retenção foliar na cultura da soja. *Summa Phytopathologica*, 39(3), 151–156. <https://doi.org/10.1590/S0100-54052013000300001>
- Dantas, J. O., Cavalcanti, S. C. H., Araújo, A. P. A., Silva, J. E., Brito, T. B., Andrade, V. S., Pinheiro, H. S. S., Tavares, S. R. S. A., Blank, A. F., & Bacci, L. (2023). Formicidal Potential of Thymol Derivatives: Adverse Effects on the Survival and Behavior of *Acromyrmex balzani*. *Agriculture*, 13(7), 1–17. <https://doi.org/10.3390/agriculture13071410>
- de Franca, S. M., Breda, M. O., Barbosa, D. R. S., Araujo, A. M. N., & Guedes, C. A. (2017). The Sublethal Effects of Insecticides in Insects. In *Biological Control of Pest and Vector Insects* (pp. 23–39). InTech. <https://doi.org/10.5772/66461>
- Maia, A de Holanda Nunes., & José Barreto Luiz, A. (2006). *Programa SAS para Análise de Tabelas de Vida e Fertilidade de Artrópodes: o Método Jackknife*. www.cnpma.embrapa.br/public/comunicado33.html
- Loof, A. (2011). Longevity and aging in insects: Is reproduction costly; cheap; beneficial or irrelevant? A critical evaluation of the “trade-off” concept. *Journal of Insect Physiology*, 57(1), 1–11. <https://doi.org/10.1016/j.jinsphys.2010.08.018>
- de Souza, M. T., de Souza, M. T., Bernardi, D., de Melo, D. J., Zarbin, P. H. G., & Zawadneak, M. A. C. (2021). Insecticidal and oviposition deterrent effects of essential oils of *Baccharis* spp. and histological assessment against *Drosophila suzukii* (Diptera: Drosophilidae). *Scientific Reports*, 11(1), 1–15. <https://doi.org/10.1038/s41598-021-83557-7>
- Demissie, Z. A., Sarker, L. S., & Mahmoud, S. S. (2011). Cloning and functional characterization of β -phellandrene synthase from *Lavandula angustifolia*. *Planta*, 233(4), 685–696. <https://doi.org/10.1007/s00425-010-1332-5>
- Depieri, R. A., & Panizzi, A. R. (2011). Duration of feeding and superficial and in-depth damage to soybean seed by selected species of stink bugs (heteroptera: pentatomidae). *Neotropical Entomology*, 40(2), 197–203. <https://doi.org/10.1590/S1519-566X2011000200007>

- Santos, M. C., Teodoro, A. V., Menezes, M. S., Pinto-Zevallos, D. M., de Fátima Arrigoni-Blank, M., Cruz Oliveira, E. M., Sampaio, T. S., Farias, A. P., Coelho, C. R., & Blank, A. F. (2019). Bioactivity of essential oil from *Lippia gracilis* Schauer against two major coconut pest mites and toxicity to a non-target predator. *Crop Protection*, *125*. <https://doi.org/10.1016/j.cropro.2019.104913>
- Elpidina, E. N., Vinokurov, K. S., Gromenko, V. A., Rudenskaya, Y. A., Dunaevsky, Y. E., & Zhuzhikov, D. P. (2001). Compartmentalization of proteinases and amylases in *Nauphoeta cinerea* midgut. *Archives of Insect Biochemistry and Physiology*, *48*(4), 206–216. <https://doi.org/10.1002/arch.10000>
- Eugenio, F. C., Grohs, M., Venancio, L. P., Schuh, M., Bottega, E. L., Ruoso, R., Schons, C., Mallmann, C. L., Badin, T. L., & Fernandes, P. (2020). Estimation of soybean yield from machine learning techniques and multispectral RPAS imagery. *Remote Sensing Applications: Society and Environment*, *20*. <https://doi.org/10.1016/j.rsase.2020.100397>
- Farias, L. R., Paula, D. P., Zhou, J. J., Liu, R., Pappas, G. J., Moraes, M. C. B., Laumann, R. A., Borges, M., Birkett, M. A., Pickett, J. A., Field, L. M., & B ao, S. N. (2014). Identification and Expression Profile of Two Putative Odorant-Binding Proteins from the Neotropical Brown Stink Bug, *Euschistus heros* (Fabricius) (Hemiptera: Pentatomidae). *Neotropical Entomology*, *43*(2), 106–114. <https://doi.org/10.1007/s13744-013-0187-4>
- Bueno, A Freitas. de, Ceolin Bortolotto, O., Pomari-Fernandes, A., & França-Neto, J. de B. (2015). Assessment of a more conservative stink bug economic threshold for managing stink bugs in Brazilian soybean production. *Crop Protection*, *71*, 132–137. <https://doi.org/10.1016/j.cropro.2015.02.012>
- Gaire, S., Scharf, M. E., & Gondhalekar, A. D. (2019). Toxicity and neurophysiological impacts of plant essential oil components on bed bugs (Cimicidae: Hemiptera). *Scientific Reports*, *9*(1), 1–12. <https://doi.org/10.1038/s41598-019-40275-5>
- Ghazawy, N. (2012). Ultrastructural Observations on the Gonads and Neurosecretory Cells of *Schistocerca gregaria* after Treatment with Lufenuron (CGA-184699). *Journal of Orthoptera Research*, *21*(2), 141–148. <https://doi.org/10.1665/034.021.0202>
- Guedes, R. N. C., Oliveira, E. E., Guedes, N. M. P., Ribeiro, B., & Serrão, J. E. (2006). Cost and mitigation of insecticide resistance in the maize weevil, *Sitophilus zeamais*. *Physiological Entomology*, *31*(1), 30–38. <https://doi.org/10.1111/j.1365-3032.2005.00479.x>
- Haddi, K., Mendes, M. V., Barcellos, M. S., Lino-Neto, J., Freitas, H. L., Guedes, R. N. C., & Oliveira, E. E. (2016). Sexual success after stress? Imidacloprid-induced hormesis in males of the neotropical stink bug *Euschistus heros*. *PLoS ONE*, *11*(6), 1–18. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0156616>
- Hategekimana, A., & Erler, F. (2020). Fecundity and fertility inhibition effects of some plant essential oils and their major components against *Acanthoscelides obtectus* Say (Coleoptera: Bruchidae). *Journal of Plant Diseases and Protection*, *127*(5), 615–623. <https://doi.org/10.1007/s41348-020-00311-3>
- Jukic, M., Politeo, O., Maksimovic, M., Milos, M., & Milos, M. (2007). In Vitro Acetylcholinesterase Inhibitory Properties of Thymol, Carvacrol and their Derivatives

- Thymoquinone and Thymohydroquinone. *Phytotherapy Research*, 21(21), 259–261. <https://doi.org/10.1002/ptr>
- Laughlin, J. D., Ha, T. S., Jones, D. N. M., & Smith, D. P. (2008). Activation of Pheromone-Sensitive Neurons Is Mediated by Conformational Activation of Pheromone-Binding Protein. *Cell*, 133(7), 1255–1265. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2008.04.046>
- Lima, A. P. S., Santana, E. D. R., Santos, A. C. C., Silva, J. E., Ribeiro, G. T., Pinheiro, A. M., Santos, Í. T. B. F., Blank, A. F., Araújo, A. P. A., & Bacci, L. (2020). Insecticide activity of botanical compounds against *Spodoptera frugiperda* and selectivity to the predatory bug *Podisus nigrispinus*. *Crop Protection*, 136, 1–7. <https://doi.org/10.1016/j.cropro.2020.105230>
- Little, E. E. (1990). Behavioral toxicology: stimulating challenges for a growing discipline. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 9, 1–2.
- Lürling, M., & Scheffer, M. (2007). Info-disruption: pollution and the transfer of chemical information between organisms. *Trends in Ecology and Evolution*, 22(7), 374–379. <https://doi.org/10.1016/j.tree.2007.04.002>
- Lutz, É., & Coradi, P. C. (2022). Applications of new technologies for monitoring and predicting grains quality stored: Sensors, Internet of Things, and Artificial Intelligence. In *Measurement: Journal of the International Measurement Confederation* (Vol. 188). Elsevier B.V. <https://doi.org/10.1016/j.measurement.2021.110609>
- Maroneze, D. M., & Gallegos, D. M. H. N. (2009). Effect of *Melia azedarach* aqueous extract on the development of immature and reproductive stages of *Spodoptera frugiperda* (J. E. Smith, 1797) (Lepidoptera: Noctuidae). *Semina: Ciências Agrárias*, 30(3), 537–550. <https://doi.org/10.5433/1679-0359.2009v30n3p537>
- Matos, W. B., Santos, A. C. C., Lima, A. P. S., Santana, E. D. R., Silva, J. E., Blank, A. F., Araújo, A. P. A., & Bacci, L. (2021). Potential source of ecofriendly insecticides: Essential oil induces avoidance and cause lower impairment on the activity of a stingless bee than organosynthetic insecticides, in laboratory. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 209, 1–9. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2020.111764>
- 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. (2018). Toxicity of essential oils of *Lippia gracilis* chemotypes and their major compounds on *Diaphania hyalinata* and non-target species. *Crop Protection*, 104, 47–51. <https://doi.org/10.1016/j.cropro.2017.10.013>
- Nunes, M. C., & Corrêa-Ferreira, B. S. (2002). Desempenho alimentar e sobrevivência de *Euschistus heros* parasitado por *Hexacladia smithii* em sementes de soja. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, 37(9), 1219–1224. <https://doi.org/10.1590/s0100-204x2002000900003>
- Oliveira, A. P., Santana, A. S., Santana, E. D. R., Lima, A. P. S., Faro, R. R. N., Nunes, R. S., Lima, A. D., Blank, A. F., Araújo, A. P. A., Cristaldo, P. F., & Bacci, L. (2017). Nanoformulation prototype of the essential oil of *Lippia sidoides* and thymol to population management of *Sitophilus zeamais* (Coleoptera: Curculionidae). *Industrial Crops and Products*, 107, 198–205. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2017.05.046>

- Oliveira, J. D. J., Passos, E. M. Dos, Aragão, R. M., Santos, T. S., Cruz, E. M. O., & Mendonça, M. D. C. (2022). Control of diamondback moth with *Lippia gracilis* essential oil. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, 57(202085), 1–8. <https://doi.org/10.1590/S1678-3921.pab2022.v57.02085>
- Pal, E., Allison, J. D., Hurley, B. P., Slippers, B., & Fourie, G. (2023). Life History Traits of the Pentatomidae (Hemiptera) for the Development of Pest Management Tools. *Forests*, 14(5), 1–26. <https://doi.org/10.3390/f14050861>
- Polsinelli, G. A., Singh, S. K., Mishra, R. K., Suranyi, R., Ragsdale, D. W., Pang, Y. P., & Brimijoin, S. (2010). Insect-specific irreversible inhibitors of acetylcholinesterase in pests including the bed bug, the eastern yellowjacket, German and American cockroaches, and the confused flour beetle. *Chemico-Biological Interactions*, 187(1–3), 142–147. <https://doi.org/10.1016/j.cbi.2010.01.036>
- Rebora, M., Salerno, G., Piersanti, S., Gorb, E. V., & Gorb, S. N. (2021). Attachment devices and the tarsal gland of the bug *Coreus marginatus* (Hemiptera: Coreidae). *Zoomorphology*, 140(1), 85–102. <https://doi.org/10.1007/s00435-020-00515-z>
- Rehman, R., & Asif Hanif, M. (2016). Biosynthetic Factories of Essential Oils: The Aromatic Plants. *Natural Products Chemistry & Research*, 04(04), 1–12. <https://doi.org/10.4172/2329-6836.1000227>
- Resende-Silva, G. A., Bravim, J. N., Haro, M. M., Cutler, G. C., Silva, A. A., & Guedes, R. N. C. (2023). Imidacloprid seed treatment in soybean-associated arthropod food webs: Reason for concern, or justifiable neglect? *Journal of Pest Science*, 96(1), 129–139. <https://doi.org/10.1007/s10340-022-01503-6>
- Ruttanaphan, T., & Bullangpoti, V. (2022). The potential use of thymol and (R)- (+) -pulegone as detoxifying enzyme inhibitors against *Spodoptera litura* (Lepidoptera: Noctuidae). *Phytoparasitica*, 50(4), 913–920. <https://doi.org/10.1007/s12600-022-00989-1>
- Santos, M. F., Krüger, A. P., Turchen, L. M., Cutler, G. C., Oliveira, E. E., & Guedes, R. N. C. (2018). Non-targeted insecticidal stress in a pest species: insecticides, sexual fitness and hormesis in the Neotropical brown stink bug *Euschistus heros*. *Annals of Applied Biology*, 172(3), 375–383. <https://doi.org/10.1111/aab.12428>
- Santos, N. C., Silva, J. E. da, Santos, A. C. C., Dantas, J. de O., Tavares, S. R. S. A., Andrade, V. S., Oliveira, S. D. da S., Blank, A. F., Araújo, A. P. A., & Bacci, L. (2023). Bioactivity of essential oils from *Croton grewiioides* and its major compounds: toxicity to soybean looper *Chrysodeixis includens* and selectivity to the predatory stink bug *Podisus nigrispinus*. *Environmental Science and Pollution Research*, 30(7), 18798–18809. <https://doi.org/10.1007/s11356-022-23414-w>
- Shahriari, M., Sahbzadeh, N., Zibae, A., Khani, A., & Senthil-Nathan, S. (2017). Metabolic response of *Ephestia kuehniella* Zeller (Lepidoptera: Pyralidae) to essential oil of Ajwain and thymol. *Toxin Reviews*, 36(3), 204–209. <https://doi.org/10.1080/15569543.2017.1294605>
- Silva, F. A. C., da Silva, J. J., Depieri, R. A., & Panizzi, A. R. (2012). Feeding Activity, Salivary Amylase Activity, and Superficial Damage to Soybean Seed by Adult *Edessa*

- meditabunda* (F.) and *Euschistus heros* (F.) (Hemiptera: Pentatomidae). *Neotropical Entomology*, 41(5), 386–390. <https://doi.org/10.1007/s13744-012-0061-9>
- Silva, F. A. C., O-Panizzi, M. C. C., Blassioli-Moraes, M. C., & Panizzi, A. R. (2013). Influence of volatile and nonvolatile secondary metabolites from soybean pods on feeding and on oviposition behavior of *Euschistus heros* (Hemiptera: Heteroptera: Pentatomidae). *Environmental Entomology*, 42(6), 1375–1382. <https://doi.org/10.1603/EN13081>
- Smigielski, K., Prusinowska, R., Stobiecka, A., Kunicka-Styczyńska, A., & Gruska, R. (2018). Biological Properties and Chemical Composition of Essential Oils from Flowers and Aerial Parts of Lavender (*Lavandula angustifolia*). *Journal of Essential Oil-Bearing Plants*, 21(5), 1303–1314. <https://doi.org/10.1080/0972060X.2018.1503068>
- Somavilla, J. C., da S Gubiani, P., Reis, A. C., Führ, F. M., Machado, E. P., & Bernardi, O. (2020). Susceptibility of *Euschistus heros* and *Dichelops furcatus* (Hemiptera: Pentatomidae) to insecticides determined from topical bioassays and diagnostic doses for resistance monitoring of *E. heros* in Brazil. *Crop Protection*, 138, 1–7. <https://doi.org/10.1016/j.cropro.2020.105319>
- Song, F., & Swinton, S. M. (2009). Returns to integrated pest management research and outreach for soybean aphid. *Journal of Economic Entomology*, 102(6), 2116–2125. <https://doi.org/10.1603/029.102.0615>
- Sosa-Gómez, D. R., Corrêa-Ferreira, B. S., Kraemer, B., Pasini, A., Husch, P. E., Delfino Vieira, C. E., Reis Martinez, C. B., & Negrão Lopes, I. O. (2020). Prevalence, damage, management and insecticide resistance of stink bug populations (Hemiptera: Pentatomidae) in commodity crops. *Agricultural and Forest Entomology*, 22(2), 99–118. <https://doi.org/10.1111/afe.12366>
- Sosa-Gomez, D. R., Gomez, G., Da Silva, J. J., De Oliveira, I., Lopes, N., Corso, I. C., Almeida, A. M. R., Piubelli De Moraes, G. C., & Baur, M. E. (2009). Insecticide resistance and resistance management insecticide susceptibility of *Euschistus heros* (Heteroptera: Pentatomidae) in Brazil. *J. Econ. Entomol*, 102(3), 1209–1216. <https://academic.oup.com/jee/article/102/3/1209/2199196>
- Sosa-Gómez, D. R., & Silva, J. J. da. (2010). Notas Científicas Neotropical brown stink bug (*Euschistus heros*) resistance to methamidophos in Paraná, Brazil. *Pesq. Agropecuária Brasileira*, 45(7), 767–769. <http://extranet.agricultura.gov.br/>
- Sparks, T. C., Lockwood, J. A., Byford, R. L., Graves, J. B., & Leonard, B. R. (1989). The role of behavior in insecticide resistance. *Pesticide Science*, 26(4), 383–399. <https://doi.org/10.1002/ps.2780260406>
- Sparks, T. C., & Nauen, R. (2015). IRAC: Mode of action classification and insecticide resistance management. *Pesticide Biochemistry and Physiology*, 121, 122–128. <https://doi.org/10.1016/j.pestbp.2014.11.014>
- Sparks, T. C., Storer, N., Porter, A., Slater, R., & Nauen, R. (2021). Insecticide resistance management and industry: the origins and evolution of the Insecticide Resistance Action Committee (IRAC) and the mode of action classification scheme. In *Pest Management Science* (Vol. 77, Issue 6, pp. 2609–2619). John Wiley and Sons Ltd. <https://doi.org/10.1002/ps.6254>

- Tak, J. H., Jovel, E., & Isman, M. B. (2016). Comparative and synergistic activity of *Rosmarinus officinalis* L. essential oil constituents against the larvae and an ovarian cell line of the cabbage looper, *Trichoplusia ni* (Lepidoptera: Noctuidae). *Pest Management Science*, 72(3), 474–480. <https://doi.org/10.1002/ps.4010>
- Taszakowski, A., Masłowski, A., Daane, K. M., & Brożek, J. (2023). Closer view of antennal sensory organs of two *Leptoglossus* species (Insecta, Hemiptera, Coreidae). *Scientific Reports*, 13(1), 1–16. <https://doi.org/10.1038/s41598-023-27837-4>
- Torsoni, G. B., de Oliveira Aparecido, L. E., dos Santos, G. M., Chiquitto, A. G., da Silva Cabral Moraes, J. R., & de Souza Rolim, G. (2023). Soybean yield prediction by machine learning and climate. *Theoretical and Applied Climatology*, 151(3–4), 1709–1725. <https://doi.org/10.1007/s00704-022-04341-9>
- Tricoire-Leignel, H., Thany, S. H., Gadenne, C., & Anton, S. (2012). Pest insect olfaction in an insecticide-contaminated environment: Info-disruption or hormesis effect. In *Frontiers in Physiology: Vol. 3 MAR* (pp. 1–6). <https://doi.org/10.3389/fphys.2012.00058>
- Tuelher, E. S., da Silva, É. H., Freitas, H. L., Namorato, F. A., Serrão, J. E., Guedes, R. N. C., & Oliveira, E. E. (2017). Chlorantraniliprole-mediated toxicity and changes in sexual fitness of the Neotropical brown stink bug *Euschistus heros*. *Journal of Pest Science*, 90(1), 397–405. <https://doi.org/10.1007/s10340-016-0777-0>
- Tuelher, E. S., da Silva, É. H., Rodrigues, H. S., Hirose, E., Guedes, R. N. C., & Oliveira, E. E. (2018). Area-wide spatial survey of the likelihood of insecticide control failure in the neotropical brown stink bug *Euschistus heros*. *Journal of Pest Science*, 91(2), 849–859. <https://doi.org/10.1007/s10340-017-0949-6>
- Turchen, L. M., Golin, V., Butnariu, A. R., Guedes, R. N. C., & Pereira, M. J. B. (2016). Lethal and sublethal effects of insecticides on the egg parasitoid *Telenomus podisi* (Hymenoptera: Platygasteridae). *Journal of Economic Entomology*, 109(1), 84–92. <https://doi.org/10.1093/jee/tov273>
- Waliwitiya, R., Belton, P., Nicholson, R. A., & Lowenberger, C. A. (2010). Effects of the essential oil constituent thymol and other neuroactive chemicals on flight motor activity and wing beat frequency in the blowfly *Phaenicia sericata*. *Pest Management Science*, 66(3), 277–289. <https://doi.org/10.1002/ps.1871>
- Zalucki, M. P., & Furlong, M. J. (2017). Behavior as a mechanism of insecticide resistance: evaluation of the evidence. *Current Opinion in Insect Science*, 21, 19–25. <https://doi.org/10.1016/j.cois.2017.05.00>

Tabela1. Composição dos óleos essenciais de dois acessos de *L. gracilis* (LgThy e LgCarv).

Composto	Índice de retenção	Acessos	
		LgThy	LgCar
α -thujene	924	1,74	1,49
Myrcene	988	2,97	1,63
α -terpinene	1014	0,45	0,72
ρ -cymene	1020	10,22	10,37
o -cymene	1022	6,07	5,56
γ -terpinene	1054	5,81	10,74
Thymol, methyl ether	1232	12,38	7,53
Thymol	1289	44,91	3,14
Carvacrol	1289	0,48	44,34
Carvacrol acetate	1370	-	0,61
E-caryophyllene	1417	8,08	6,31
α -trans-bergamotene	1432	-	0,45
Aromadendrene	1239	-	0,46
α -humulene	1452	0,68	0,47
Butylated hydroxy anisole	1488	-	2,35
Spathulenol	1577	-	0,85
Caryophyllene oxide	1582	1,78	1,83
Limonene	1024	0,53	-
1,8-cineole	1026	2,05	-
Terpinen-4-ol	1174	1,33	-
Total detectado (%)		99,5	98,9

Tabela 2. Toxicidade dos óleos essenciais dos quimiotipos timol e carvacrol de *Lippia gracilis*, seus compostos majoritários isolados e do inseticida imidacloprido sobre ninfas de terceiro instar de *Euschistus heros*.

Compounds	n^a	LC ₃₀ (IC 95%) ^b	LC ₅₀ (IC 95%) ^b	LC ₉₀ (IC 95%) ^b	Slope (± SE)	χ^2	P
		----- mg/ml -----					
EO LgThy	480	0.10 (0.04-0.18)	0.53 (0.31-0.82)	32.11 (17.44-75.90)	0.72±0.07	5.95	0.43
EO LgCar	419	0.18 (0.08-0.32)	0.77 (0.48-1.11)	24.46 (13.23-64.16)	0.85±0.10	2.63	0.75
Thymol	300	0.071 (0.023-0.13)	0.20 (0.10-0.33)	2.82 (1.83-5.42)	1.13±0.16	4.43	0.21
Carvacrol	360	0.12 (0.04-0.23)	0.50 (0.26-0.80)	17.50 (9.90-41.23)	0.83±0.11	4.06	0.40
Imidacloprido	352	0.05 (0.01-0.11)	0.16 (0.05-0.28)	3.32 (2.08-7.78)	0.97±0.18	6.32	0.18

^a número de insetos testados.

^b Concentrações letais necessárias para matar 30, 50 e 90 % das populações e seus respectivos intervalos de confiança a 95%.

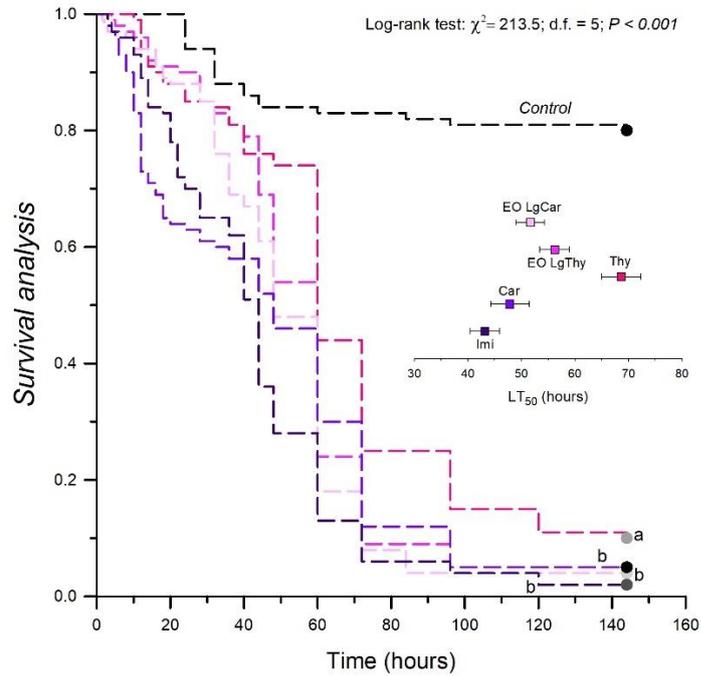


Fig 1. Curvas de sobrevivência e tempo letal (TL₅₀) para ninfas de terceiro instar de *Euschistus heros* após exposição de ninfas de terceiro instar às CL₃₀ dos quimiotipos timol (EO LgThy) e carvacrol (EO LgCar) de *Lippia gracilis*, seus compostos majoritários timol (Thy e Car) isolados e do inseticida imidacloprido (Imi). TL₅₀ = tempo letal necessário para matar 50% da população. Curvas seguidas pela mesma letra não diferem pelo teste de Holm-Sidak a $p < 0,05$.

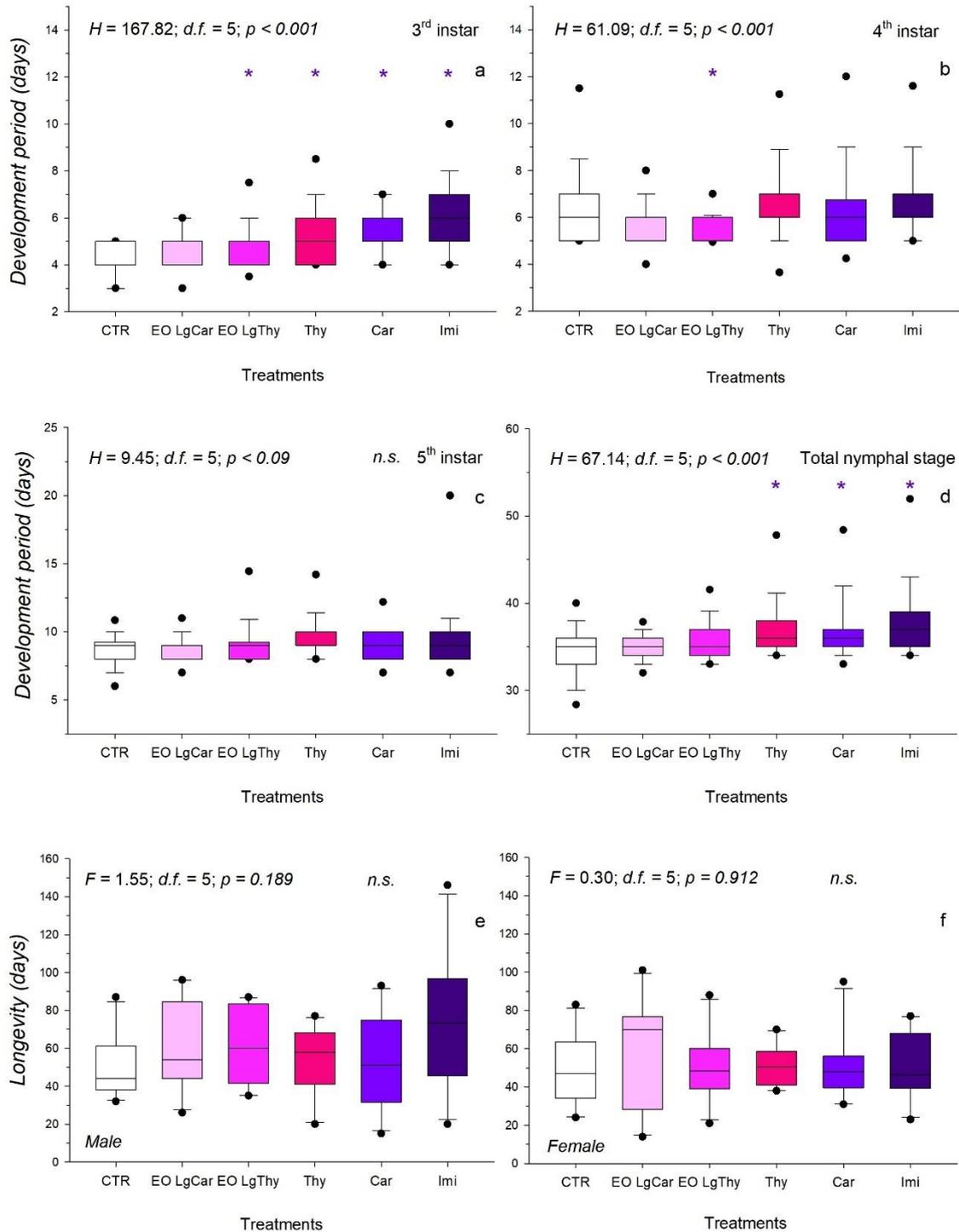


Fig 2. Duração das fases de 3^o, 4^o, 5^o instares; estágio ninfal total e longevidade de machos e fêmeas de *Euschistus heros* após a exposição de ninfas de terceiro instar aos óleos essenciais dos quimiotipos timol (EO LgThy) e carvacrol (EO LgCar) de *Lippia gracilis*, seus compostos majoritários timol (Thy e Car) isolados e do inseticida imidacloprido (Imi). As médias seguidas por um asterisco diferem do controle pelo método de comparação múltipla não paramétrica de Dunn's $P < 0,05$.

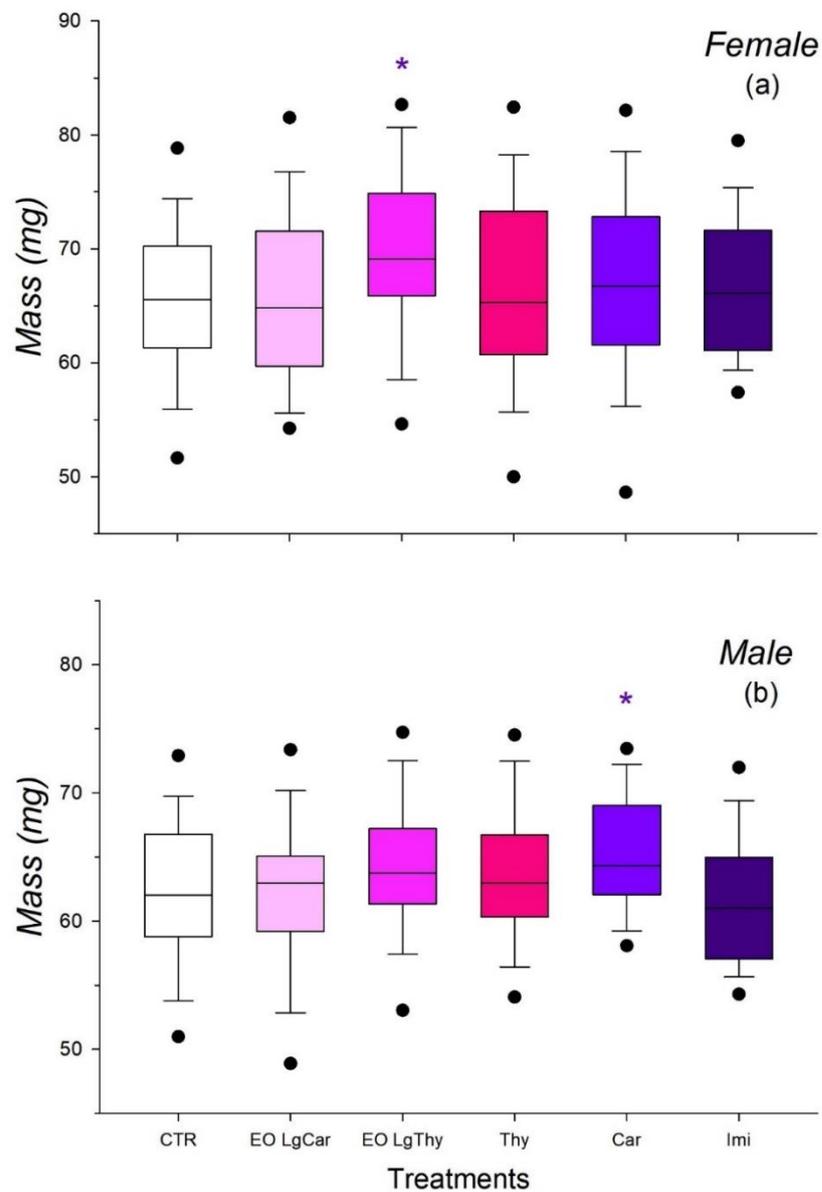


Fig 3. Massa das fêmeas (a) e dos machos (b) de *Euschistus heros* após a exposição de ninfas de terceiro instar aos óleos essenciais dos quimiotipos timol (EO LgThy) e carvacrol (EO LgCar) de *Lippia gracilis*, seus compostos majoritários timol (Thy e Car) isolados e do inseticida imidacloprido (Imi). As médias seguidas por um asterisco diferem do controle pelo método de comparação múltipla não paramétrica de Dunn's $P < 0,05$.

Tabela 3. Média (\pm erro padrão) dos parâmetros reprodutivos de *Euschistus heros* após exposição de ninfas de terceiro instar às CL₃₀ dos quimiotipos timol e carvacrol de *Lippia gracilis*, seus compostos majoritários isolados e do inseticida imidacloprido.

Reproductive parameters	Treatments					
	Control	EO thymol chemotype	EO carvacrol chemotype	Thymol	Carvacrol	Imidacloprid
Pre-oviposition period (days)**	9.9 (\pm 0.38)	9.2 (\pm 0.79)	10.0 (\pm 0.65)	13.8 (\pm 2.82)	9.8 (\pm 0.44)	9.3 (\pm 0.50)
Oviposition period (days)*	35.3 (\pm 4.65)	36.7 (\pm 3.96)	43.5 (\pm 6.65)	38.1 (\pm 4.11)	38.2 (\pm 4.57)	33.9 (\pm 5.43)
Number of eggs/female*	209.5 (\pm 29.64)	215.4 (\pm 27.43)	231.7 (\pm 32.88)	179.9 (\pm 25.12)	241.8 (\pm 37.21)	216.9 (\pm 33.11)
Number of egg masses/female*	27.2 (\pm 3.45)	30.6 (\pm 4.09)	34.2 (\pm 5.05)	28.7 (\pm 3.63)	33.0 (\pm 3.54)	34.9 (\pm 4.52)
Number of eggs/egg dough*	7.71 (\pm 0.33)	7.12 (\pm 0.19)	7.29 (\pm 0.67)	6.27 (\pm 0.37)	7.38 (\pm 0.78)	6.58 (\pm 0.66)
Number of nymphs/female*	191.5 (\pm 27.52)	119.9 (\pm 21.51)	161.3 (\pm 34.06)	119.0 (\pm 21.93)	163.8 (\pm 32.25)	183.7 (\pm 30.60)
Viability of eggs (%)**	91.34 (\pm 2.05)	57.33* (\pm 8.05)	66.40* (\pm 7.72)	61.73* (\pm 6.89)	65.24* (\pm 2.57)	82.41 (\pm 3.93)

*Médias com asteriscos indicam diferenças entre os tratamentos e o controle pelo teste de Dunnett's a $P < 0,05$.

**Médias com asteriscos indicam diferenças entre os tratamentos e o controle pelo método de comparação múltipla não paramétrica de Dunn's a $P < 0,05$.

Tabela 4. Média (\pm erro padrão) dos parâmetros de tabela de vida de *Euschistus heros* após exposição de ninfas de terceiro instar às CL₃₀ dos quimiotipos timol e carvacrol de *Lippia gracilis*, seus compostos majoritários isolados e do inseticida imidacloprido.

Life table parameter	Treatments					
	Control	EO Lgthy	EO LgCar	Thymol	Carvacrol	Imidacloprid
Net reproductive rate (R_0) (Offspring/individual) *	89.40 (± 12.65)	83.12 (± 10.59)	95.19 (± 14.18)	68.01 (± 9.50)	79.44 (± 12.23)	84.92 (± 12.96)
Intrinsic rate of increase (r_m) (day ⁻¹) *	0.074 (± 0.002)	0.075 (± 0.002)	0.071 (± 0.002)	0.060* (± 0.002)	0.07 (± 0.003)	0.071 (± 0.002)
Mean generation time (T) (day ⁻¹)**	59.53 (± 1.98)	58.12 (± 1.102)	61.78 (± 1.88)	68.34* (± 2.83)	61.51 (± 2.75)	61.45 (± 2.09)
Doubling time (DT) (day ⁻¹)**	9.38 (± 0.26)	9.35 (± 0.26)	9.80 (± 0.31)	11.64* (± 0.36)	10.03 (± 0.43)	9.91 (± 0.32)
Finite rate of increase (λ) (dia)**	1.08 (± 0.002)	1.08 (± 0.002)	1.07 (± 0.002)	1.06* (± 0.002)	1.07 (± 0.003)	1.07 (± 0.002)

*Médias com asteriscos indicam diferenças entre os tratamentos e o controle pelo teste de Dunnett's a $P < 0,05$.

*Médias com asteriscos indicam diferenças entre os tratamentos e o controle pelo método de comparação múltipla não paramétrica de Dunn's a $P < 0,05$.

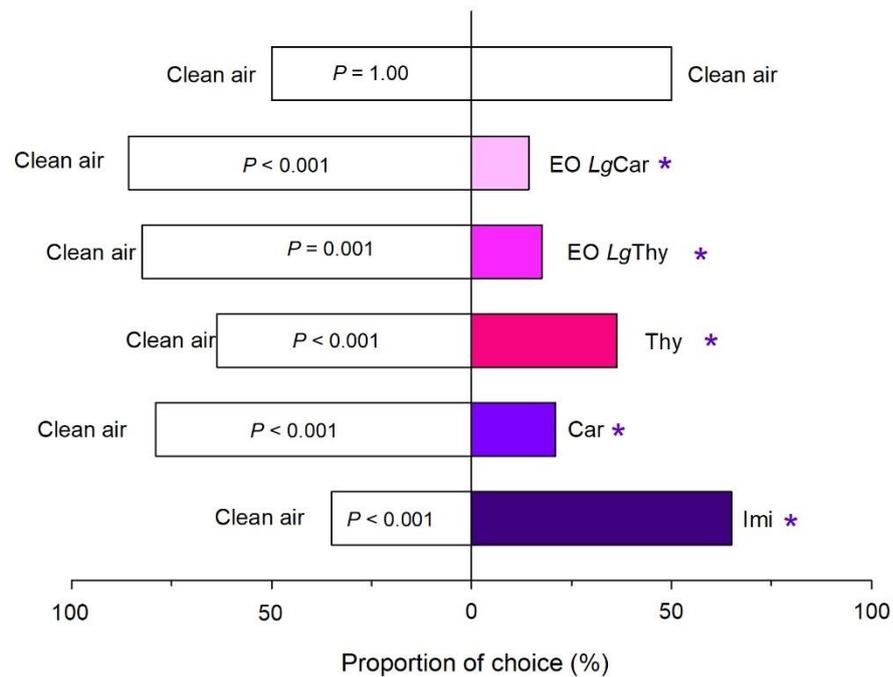


Fig. 4. Resposta olfativa de machos de *Euschistus heros* a áreas tratadas com as CL90 dos óleos essenciais dos quimiotipos timol (EO LgThy) e carvacrol (EO LgCar) de *Lippia gracilis* e seus compostos majoritários (Thy e Car) e do inseticida imidacloprido. Histogramas seguidos por asterisco indicam que houve diferença na escolha dos machos entre os lados de cada braço do olfatômetro de tubo Y durante um período de 600 s, pelo teste exato de Fisher ($P < 0,05$). EO LgThy = óleo essencial de *Lippia gracilis* quimiotipo timol; EO LgCar = óleo essencial de *Lippia gracilis* quimiotipo carvacrol; Thy = timol; Car = carvacrol e Imi = imidacloprido.

5. ARTIGO 2

ALTERAÇÕES COMPORTAMENTAIS DO PERCEVEJO-MARROM *Euschistus heros* MEDIANTE EXPOSIÇÃO AOS ÓLEOS ESSENCIAIS DE *Lippia gracilis* E SEUS COMPOSTOS MAJORITÁRIOS

Periódico a ser submetido: *Crop Protection*

RESUMO

O percevejo-marrom *Euschistus heros* (Hemiptera: Pentatomidae) tem sido considerado uma das principais pragas de importância econômica para a cultura da soja, o que se deve, em parte, às limitações de controle com o uso de inseticidas organossintéticos. Os óleos essenciais de plantas têm sido apontados como uma alternativa ambientalmente mais segura, por meio da substituição ou incorporação aos produtos sintéticos utilizados no manejo de pragas. Neste estudo, avaliamos os efeitos letais e subletais dos óleos essenciais de *Lippia gracilis* e de seus compostos majoritários timol e carvacrol, em comparação ao inseticida comercial imidacloprido, sobre *E. heros*. Para isso, foram realizados bioensaios de toxicidade e comportamentais, a fim de avaliar a preferência olfativa, irritabilidade/repelência, padrão de deslocamento e autolimpeza. Nossos resultados demonstraram que tanto os óleos essenciais quanto seus compostos majoritários foram tóxicos às ninfas de terceiro instar de *E. heros*. Os valores de CL₅₀ obtidos para os tratamentos variaram de 0,16 a 0,77 mg/ml. O composto majoritário timol mostrou toxicidade similar à observada para o inseticida organossintético imidacloprido. De forma geral, os bioinseticidas mostraram efeitos subletais consideráveis, o que não foi observado para o imidacloprido. Nossos resultados mostram que além dos efeitos letais, os bioinseticidas causam importantes efeitos subletais que podem comprometer o forrageio e comportamento reprodutivo. Dessa forma, os óleos essenciais de *L. gracilis* e seus majoritários, principalmente o timol, têm potencial para serem utilizados como ferramentas alternativas no manejo do percevejo-marrom na soja.

Palavras-chave: Insecta, controle de pragas, ecotoxicologia, germoplasma, comportamento, efeito subletal.

BEHAVIORAL CHANGES IN THE BROWN STINK BUG *Euschistus heros* THROUGH EXPOSURE TO ESSENTIAL OILS OF *Lippia gracilis* AND ITS MAJOR COMPOUNDS.

ABSTRACT

The brown stink bug *Euschistus heros* (Hemiptera: Pentatomidae) has been considered one of the main pests of economic importance for the soybean crop. This is partly due to the limitations of control measures using organosynthetic insecticides. Plant essential oils have been identified as environmentally safer alternatives, able to replace or supplement synthetic products used in pest management. In this study, we evaluated the lethal and sublethal effects of essential oils of *Lippia gracilis* and its major compounds thymol and carvacrol on *E. heros* and compared them to the effects of the commercial insecticide imidacloprid. For that purpose, we conducted toxicity and behavioral bioassays to assess olfactory preferences, irritability/repellency, displacement patterns, and self-cleaning behaviors. Our results demonstrated that both essential oils and their major compounds were toxic to third-instar nymphs of *E. heros*. The LC₅₀ values obtained for the treatments ranged from 0.16 to 0.77 mg/ml. The major compound, thymol, exhibited toxicity similar to that observed for the organosynthetic insecticide imidacloprid. Overall, bioinsecticides showed significant sublethal effects, a phenomenon not observed with imidacloprid. Our findings highlight that bioinsecticides not only have lethal effects, but also induce important sublethal effects that could potentially compromise foraging and reproductive behaviors. Thus, the essential oils of *L. gracilis* and its major compounds, particularly thymol, have potential for use as alternative tools in the management of brown stink bugs in soybean.

Keywords: Insecta, pest control, ecotoxicology, germplasm, behavior, sublethal effect

5.1. Introdução

As plantações de soja frequentemente enfrentam a ameaça do ataque do percevejo-marrom *Euschistus heros* (Hemiptera: Pentatomidae), que resulta em danos diretos às vagens. Esse ataque compromete o peso e o tamanho das sementes e grãos, afetando negativamente a produção (Nunes & Corrêa-Ferreira, 2002). Atualmente, existe um número reduzido de moléculas sintéticas registradas para controle desse herbívoro, havendo exposição continuada aos mesmos produtos, principalmente piretroides e neonicotinoides, com isso populações resistentes vêm sendo descritas (Somavilla et al., 2020; Tuelher et al., 2018). A eficiência destes compostos é comumente determinada em laboratório por meio da determinação da dose ou concentração letal. No entanto, estes compostos se degradam rapidamente ao longo do tempo, predominando a exposição a doses/concentrações subletais dos resíduos (Desneux et al., 2007; Pazini et al., 2019). Tais doses, apesar de não resultarem em mortalidade aparente, podem afetar a biologia, fisiologia e comportamento dos insetos, interferindo tanto de forma positiva (Haddi et al., 2016; Margus et al., 2019; Santos et al., 2016; Sial et al., 2018) como negativa (Wang et al., 2022; Wu et al., 2022) no potencial demográfico das populações.

Efeitos subletais dos inseticidas podem ser tão ou mais importantes que a mortalidade, no entanto poucos estudos têm avaliado estes efeitos sobre *E. heros*. Já foram relatados casos de aumento na frequência de acasalamento e atividade locomotora quando adultos de *E. heros* são expostos a inseticidas (Castellanos et al., 2019; Haddi et al., 2016; Tuelher et al., 2017). Surtos populacionais de *E. heros* têm sido associados às alterações no comportamento de acasalamento e ao aumento da aptidão biológica em populações sob doses/concentrações subletais de inseticidas, efeito denominado hormese (Margus et al., 2019; Santos et al., 2016; Sial et al., 2018; Tuelher et al., 2017). Desta forma, o manejo de *E. heros* pode ser otimizado por meio da busca de novos princípios ativos, assim como da avaliação dos efeitos subletais destes compostos.

Óleos essenciais de plantas (OEs) têm sido apontados como promissores para o manejo de insetos devido a sua bioatividade (Hanley et al., 2007) e baixa persistência no ambiente. Além disso, por serem constituídos por uma mistura complexa de monoterpenos, sesquiterpenos e compostos fenólicos (Rehman & Asif Hanif, 2016; Smigielski et al., 2018), podem dificultar a seleção de resistência por populações de insetos (Bakkali et al., 2008). Os OEs de *Lippia gracilis*, por exemplo, são constituídos majoritariamente pelos monoterpenos timol e carvacrol (de Albuquerque et al., 2007), essa constituição determina o potencial inseticida, fungicida e acaricida (Cruz et al., 2013; Melo et al., 2018; Penha et al., 2021; Teodoro et al., 2021).

Diante disso, no presente trabalho avaliamos a toxicidade e os efeitos subletais de dois quimiotipos do OE de *L. gracilis* e de seus compostos majoritários (timol e carvacrol) em comparação com o inseticida organossintético imidacloprido sobre o percevejo-marrom *E. heros*.

5.2. Material e Métodos

5.2.1 Obtenção dos insetos e manutenção da criação

Para estabelecimento da criação, cerca de 6000 ovos de *E. heros* foram obtidos da empresa Pragas.com (Rua Princesa Isabel, Jardim Pacaembu, Piracicaba, SP). A criação foi mantida em condições laboratoriais, em sala climatizada com temperatura de $25 \pm 2^\circ\text{C}$, umidade relativa de $70 \pm 10\%$ e fotoperíodo de 12h, na Universidade Federal de Sergipe (UFS), São Cristóvão- SE ($10^\circ 54' \text{ S}$, $37^\circ 04' \text{ W}$, 7 m de altitude), Brasil.

Os ovos foram separados em grupos de 200 e colocados em placas de Petri (Global Trade Technology, Monte Alto, SP, Brasil) (\varnothing 9 x 1,5 cm) forradas com disco de papel filtro

(Unifil) e um pedaço de algodão umedecido com 200 μ L de água destilada preso à tampa para manter a umidade no interior da placa. Após a eclosão dos ovos, as ninfas de primeiro instar foram mantidas na placa sem alimentação e com adição de água destilada no algodão quando necessário até atingirem o segundo instar.

Cada placa contendo as ninfas de segundo instar foi transferida para gaiolas de plástico transparente (32 cm de comprimento x 23 cm de largura x 10 cm de altura), contendo papel filtro no fundo e tecido organza na tampa para impedir a fuga dos insetos e permitir trocas gasosas (Borges et al., 2006). Nas gaiolas foi adicionada uma placa de Petri com algodão umedecido com 100 ml de água destilada e alimentação *ad libitum*, que consistiu em uma mistura de vagens de feijão verde (*Phaseolus vulgaris* L.), grãos de soja (*Glycine max* L.), amendoim cru (*Arachis hypogaea* L.) e sementes de girassol (*Helianthus annuus* L.). As gaiolas foram limpas e a alimentação, a água destilada e o papel filtro foram trocados a cada três dias até a fase adulta.

Os adultos foram transferidos para uma gaiola maior (50 cm de comprimento x 30 cm de largura x 15 cm de altura), nas mesmas condições das gaiolas de ninfas. Como substrato de ovoposição, retalhos de algodão cru foram dispostos no interior das gaiolas. Os ovos foram retirados diariamente e acondicionados em placas de Petri (\varnothing 9 x 1,5 cm) forradas com disco de papel filtro (Unifil) e um pedaço de algodão umedecido com 200 μ L de água destilada preso à tampa.

5.2.2 Obtenção dos compostos e análises químicas

Os OEs dos quimiotipos timol e carvacrol de *L. gracilis* foram obtidos dos acessos LgThy e LgCar, mantidos no banco de germoplasma no Campus Rural da UFS, São Cristóvão, SE, Brasil (10°55' S, 37°11' W, 18 m de altitude).

As folhas dos acessos foram retiradas e secas em estufa a $40 \pm 1^\circ\text{C}$ por quatro dias. Os OEs foram extraídos por meio de hidrodestilação em aparelho do tipo Clevenger modificado e acondicionados em frascos de vidro de âmbar no freezer a -4°C . As análises químicas para identificação e quantificação dos compostos foram realizadas de acordo com Cruz et al., 2013. Os compostos majoritários timol e carvacrol foram adquiridos da empresa Sigma-Aldrich (Saint Louis, Missouri, EUA) e o inseticida organossintético imidacloprido (700 g i.a./Kg (Evidence® 700 WG; Bayer CropScience, São Paulo-SP, Brasil) foi adquirido comercialmente.

5.2.3 Bioensaios

Todos os bioensaios foram realizados em condições laboratoriais, em sala climatizada com temperatura de $25 \pm 2^\circ\text{C}$, umidade relativa de $70 \pm 10\%$ e fotoperíodo de 12h, na Universidade Federal de Sergipe (UFS), São Cristóvão- SE (10°54' S, 37°04' W, 7 m de altitude), Brasil.

Os tratamentos utilizados foram os OEs dos quimiotipos timol e carvacrol de *L. gracilis*, seus compostos majoritários timol (LgThy) e carvacrol (LgCar) e o inseticida imidacloprido como controle positivo. O solvente utilizado para diluição dos compostos foi acetona (Panreac, UV-IR-HPLC-GPCPAI-ACS, 99,9%).

5.2.3.1 Concentração-mortalidade

Para obtenção das curvas de concentração-mortalidade, ninfas de terceiro instar de *E. heros* recém emergidas foram pesadas individualmente em balança de precisão (Shimadzu corporation, AUW220D, Barueri, São Paulo, Brasil) para manter um padrão no tamanho ($0,004301 \pm 0,000456$ g) utilizado nos bioensaios. O delineamento experimental foi inteiramente casualizado com 12 repetições. Cada repetição foi composta por cinco ninfas de terceiro instar de *E. heros*, totalizando 60 ninfas/concentração/tratamento. A unidade experimental consistiu em uma placa de Petri (Global Trade Technology, Monte Alto, SP,

Brasil) (\varnothing 6 x 1,5 cm), com a borda interna coberta por uma fina camada de vaselina atóxica (Vasemax, 25 mg) e o fundo forrado com disco de papel filtro (Unifil). A vaselina foi empregada para evitar a subida das ninfas e mantê-las em contato com o tratamento, e o disco de papel filtro (Unifil) foi utilizado como substrato para receber os tratamentos.

As curvas foram estabelecidas utilizando inicialmente quatro concentrações (1, 5, 10 e 20 mg do composto por ml de solução) de cada tratamento. Em seguida, concentrações intermediárias (de cinco a oito) foram utilizadas para traçar as curvas de concentração-mortalidade. O papel filtro foi tratado com 200 μ L de cada combinação tratamento x concentração com o uso de micropipeta de 100 a 1000 μ L (Labmate pro). No controle foi aplicado somente acetona. Após a aplicação dos tratamentos, as placas contendo o papel filtro tratados foram mantidas por 5 min em câmara de exaustão para permitir a evaporação do solvente. Em seguida, as ninfas de terceiro instar de *E. heros* foram transferidas para cada uma das placas, as quais foram cobertas com tecido do tipo organza, a fim de impedir a fuga e facilitar a troca gasosa dos insetos. Testes preliminares indicaram que a acetona e a vaselina não afetaram a sobrevivência ou comportamento das ninfas de *E. heros*.

A mortalidade das ninfas foi avaliada 72h após a montagem do experimento. Foram considerados mortos os insetos que não apresentaram movimentação após o estímulo de um pincel.

5.2.3.2 Repelência/irritabilidade e caminhamento

Os bioensaios foram conduzidos segundo metodologia adaptada de Lima et al. (2020), em delineamento inteiramente casualizado, com 80 repetições por tratamento. Cada unidade experimental consistiu em uma placa de Petri (Global Trade Technology) (60 x 1,5 mm) forrada com papel filtro (Unifil, \varnothing 6 cm) contendo uma ninfa de terceiro instar de *E. heros*.

Para avaliar o comportamento de repelência/irritabilidade, o papel filtro foi cortado simetricamente ao meio e dividido em duas áreas que foram tratadas separadamente (metade tratada e não-tratada). Na metade tratada foi aplicado 0,100 μ L das CL₃₀ dos tratamentos determinadas nos bioensaios de concentração-mortalidade e na outra metade 0,100 μ L de acetona. Para avaliar o comportamento de caminhamento, o papel filtro foi totalmente tratado com 200 μ L das CL₃₀ e no controle foi aplicado somente acetona. No bioensaio de repelência/irritabilidade, as metades foram afixadas com fita dupla-face no fundo das placas. Os papéis filtro foram secos por 5 min em câmara de exaustão e depois acondicionados nas placas de Petri.

O movimento dos indivíduos foi gravado por 10 min, utilizando uma câmera de vídeo (Panasonic SD5 Superdynamic- modelo WV-CP504), equipada com lente Spacecom (1/3" 3-8mm) acoplada a um computador. Para avaliar o movimento, foi utilizado o software Ethovision XT (versão 8.5; Noldus Integration System, Sterling, VA). Os dados foram analisados utilizando o programa Studio 9 (Pinnacle Systems, Mountain View, CA). No bioensaio de repelência/irritabilidade foi avaliado o tempo de permanência dos insetos em cada lado da placa. Já no bioensaio de caminhamento foram obtidos os dados de distância percorrida (mm), velocidade (mm/s), meandro ($^{\circ}$ /mm) e velocidade angular ($^{\circ}$ /s).

5.2.3.3 Autolimpeza

Para observar o comportamento de limpeza, um indivíduo de *E. heros* (uma ninfa de terceiro instar ou um adulto – macho ou fêmea) foi inserido no centro da placa Petri (Global Trade Technology) (6 cm x 1,5cm), forradas com disco de papel filtro (Unifil, \varnothing 6 cm), conforme descrito por Costa et al. (2019). Os tratamentos consistiram na aplicação de 200 μ L das CL₃₀ no papel filtro utilizado como substrato.

Todas as observações foram iniciadas 1 min após a montagem do experimento. O comportamento de limpeza foi registrado durante 10 min/placa, sendo observado 1 min

contínuo intercalado a cada 1 min, totalizando 5 min de observação por placa. O delineamento experimental foi o inteiramente casualizado com 80 repetições para cada tratamento.

5.2.4 Análises estatísticas

Os dados de mortalidade obtidos com os experimentos foram submetidos à análise de Probit para a determinação das curvas de concentração-resposta para cada tratamento utilizando o procedimento PROC PROBIT do SASTM (SAS Institute, 2008). A partir das curvas foram obtidas as concentrações letais capazes de ocasionar 30, 50 e 90% de mortalidade (CL₃₀, CL₅₀ e CL₉₀) com seus respectivos limites de confiança a 95% de probabilidade (LC_{95%}). As CLs foram comparadas pelo critério de não sobreposição dos limites de confiança com a origem.

Os dados de comportamento foram inicialmente submetidos ao teste de Shapiro Wilk ($P > 0,05$) e Brown-Forsythe ($P > 0,05$) para verificar a normalidade dos dados e a homogeneidade da variância, respectivamente. Quando os dados apresentaram normalidade e homogeneidade de variância eles foram submetidos à análise de variância paramétrica (ANAVA) e quando não atenderam aos pressupostos da ANAVA, eles foram submetidos à análise de variância não-paramétrica de Kruskal-Wallis ($P < 0,05$). Os dados de preferência olfativa foram analisados a *posteriori* pelo teste exato de Fisher e os dados de repelência/irritabilidade por Wilcoxon a $P < 0,05$. Já os dados de caminamento e autolimpeza foram analisados a *posteriori* pelo método de Dunnett's ou método de comparação múltipla de Dunn's a $P < 0,05$, para verificar diferenças significativas entre os tratamentos com o controle, para análises paramétricas ou não-paramétricas, respectivamente. Todas as análises dos dados comportamentais foram feitas utilizando o programa SigmaPlot, versão 15.0.

5.3. Resultados

5.3.1 Toxicidade

Os OEs dos quimiotipos timol e carvacrol de *L. gracilis* e seus compostos majoritários foram tóxicos para ninfas de terceiro instar de *E. heros* (Fig. 1). O bioinseticida timol (CL₃₀=0,071; CL₅₀=0,20 e CL₉₀=2,82 mg/ml) foi igualmente tóxico ao controle positivo (imidacloprido) em todas as concentrações letais. Na concentração letal necessária para matar 30% da população, a toxicidade do OE do quimiotipo timol de *L. gracilis* foi similar à toxicidade de timol e imiacloprido (Fig. 1). Os valores de CL₅₀ obtidos para os OEs dos quimiotipos timol e carvacrol de *L. gracilis* e carvacrol isolado foram superiores à CL₅₀ do timol e não diferiram entre si (Fig. 1).

5.3.2 Repelência/irritabilidade

Em todos os casos, os bioinseticidas causaram repelência/irritabilidade. Os insetos ficaram, em média, somente 31; 29; 23 e 29% do tempo no lado tratado com os OEs dos quimiotipos carvacrol e timol e, seus majoritários timol e carvacrol, respectivamente (Fig. 3). O inseticida imidacloprido não causou repelência/irritabilidade nos insetos ($P = 0,264$) (Fig. 3).

5.3.3 Caminamento

O bioensaio para verificar alterações no comportamento de caminamento de ninfas de terceiro instar de *E. heros* causado pelos compostos foi realizado em arenas (Ø6 cm) totalmente tratadas. De forma geral, o comportamento de caminamento de ninfas foi alterado pelos bioinseticidas e não afetado pelo imidacloprido (Fig. 4). A velocidade ($H = 55,79$; g.l. = 5; $P \leq 0,001$) e o deslocamento ($H = 57,51$; g.l. = 5; $P \leq 0,001$) foram reduzidos, à exceção da velocidade de ninfas expostas ao carvacrol isoladamente (Fig. 4A, C).

O OE do quimiotipo carvacrol de *L. gracilis* e o timol ocasionaram maiores velocidades angulares nos insetos ($H = 56,66$; g.l. = 5; $P \leq 0,001$) (Fig. 3B). Da mesma forma, foi observado

o aumento de meandros ($H = 78,63$; g.l. = 5; $P \leq 0,001$) em ninfas expostas a estes compostos e ao OE do quimiotipo timol de *L. gracilis* (Fig. 3D).

5.3.4 Autolimpeza

Quando ninfas de terceiro instar de *E. heros* foram submetidas às CL₃₀ dos bioinseticidas, observou-se um aumento no número de limpezas do aparelho bucal em relação ao controle ($H = 190,56$; g.l. = 5; $P \leq 0,001$) (Fig. 5A). Na fase adulta esse comportamento foi reduzido, sendo verificado autolimpeza das fêmeas expostas ao OE do quimiotipo carvacrol de *L. gracilis* ($H = 17,26$; g.l. = 5; $P = 0,004$) (Fig. 5B) e nos machos quando expostos aos OEs dos dois quimiotipos ($H = 20,71$; g.l. = 5; $P \leq 0,001$) (Fig. 5C). O inseticida imidacloprido não afetou o comportamento de autolimpeza de ninfas e adultos de *E. heros* (Fig. 5A, B, C).

5.4. Discussão

Neste estudo, avaliamos os efeitos letais e subletais dos OEs de *L. gracilis* e seus compostos majoritários timol e carvacrol sobre o percevejo fitófago *E. heros*. Embora todos os OEs e seus majoritários tenham apresentado efeito tóxico sobre indivíduos do percevejo, o timol se destacou por exibir toxicidade comparável à observada para o inseticida organossintético (Fig.1). A toxicidade do timol e carvacrol pode estar relacionada a sua estrutura química, por possuírem ligações simples, são considerados compostos saturados, o que facilitaria a sua absorção pelo inseto, além da presença de hidroxila no anel de benzeno (Phillips et al., 2010). Por sua vez, a menor toxicidade do carvacrol em relação ao timol se dá pela ausência do grupo funcional metil (Park et al., 2017). De maneira geral, a toxicidade desses majoritários já foi descrita contra diversos insetos, incluindo formigas (Dantas et al., 2023), percevejos, lagartas (Lima et al., 2020; Moretti et al., 2013); mosca-das-frutas-oriental (Jaffar & Lu, 2022), e barata (Gaire et al., 2017).

Além da toxicidade, os bioinseticidas também causaram alterações comportamentais nos percevejos, um efeito que não foi observado para o neonicotinoide. Além dos efeitos neurotóxicos que podem estimular ou reduzir a mobilidade dos insetos, afetando assim seus padrões de movimento (Barson et al., 1992; Dantas et al., 2023), neste estudo a redução da capacidade de locomoção de *E. heros* tratados com os bioinseticidas pode estar relacionada ao aumento no número de autolimpezas do aparelho bucal (Fig. 4). O aumento dessa atividade pode ser correlacionado à irritação e à percepção desses compostos como substâncias estranhas.

A autolimpeza está geralmente associada à eliminação de patógenos (Zhukovskaya et al., 2013) e de contaminantes na cutícula (Nadein & Gorb, 2022); além de permitir a manutenção da acuidade olfativa dos insetos (Böröczky et al., 2013). Por sua vez, a saliva presente no aparelho bucal de insetos é constituída por uma gama de componentes encarregados pela supressão e desintoxicação das respostas de defesa das plantas contra herbivoria (Stafford-Banks et al., 2014). Um dos constituintes, a enzima protease, é responsável pela inativação de toxinas proteicas, que são usadas na defesa das plantas, a ação dessa enzima reduz essas toxinas em aminoácidos livres, tornando-os prontos para o consumo (Chang & Werb, 2001; Hou et al., 2014; Wang et al., 2008). O *E. heros* possui diferenciação muscular na região onde estão localizadas as glândulas salivares, o que o torna capaz de utilizar de estratégias para controlar a produção e liberação dessa secreção (Castellanos et al., 2017), característica fundamental para a efetividade da autolimpeza.

Por outro lado, o aumento do número de autolimpezas resulta em mais tempo sem locomoção, o que pode afetar a alimentação e a capacidade das ninfas de perceber riscos. No caso de insetos adultos (machos e fêmeas) que se comunicam por sinais vibracionais (Kavčič et al., 2013), o aumento nas atividades de autolimpeza observado após a exposição aos bioinseticidas pode reduzir a comunicação para a cópula, limitando assim as oportunidades de sucesso reprodutivo.

O imidacloprido, embora atue no sistema nervoso do inseto causando hiperexcitação (Sparks; Nauen, 2015), não alterou o padrão de caminhamento do percevejo (Fig. 3), um resultado que já foi observado em Pentatomidae como o *Podisus nigispinus* (Lima et al., 2020), nem influenciou as atividades de limpeza. Possivelmente, devido ao inseticida comercial aumentar a apoptose, causar lesões em células das glândulas salivares (Castellanos et al., 2021) e reduzir a atividade das enzimas proteolíticas (Perez Campos et al., 2021), condição que pode ser responsável pela alta toxicidade do neonicotinoide e reduzido número de limpezas. Além disso, a ausência de efeito comportamental pode estar relacionada à resistência metabólica do *E. heros* ao inseticida (Azevedo et al., 2022; Castellanos et al., 2019).

Os óleos essenciais tem efeito repelente e de irritabilidade reconhecidos (Lee, 2018), ou seja, formam uma barreira de vapor que visa impedir o inseto de entrar em contato com a superfície contaminada (Brown & Hebert, 1997; Nerio et al., 2010). Isso se deve, em grande parte, a sua composição química, com a presença de monoterpenos e sesquiterpenos, uma vez que os majoritários isolados também demonstraram as mesmas propriedades repelentes (Lima et al., 2020; Masoumi et al., 2016; Oliveira et al., 2022; Tabari et al., 2017). Assim como no presente estudo, percevejos *Cimex lectularius* evitaram áreas tratadas com timol e carvacrol. A evitação se dá, provavelmente, por irritação após o contato com a área tratada (González-Morales et al., 2021). Por serem insetos generalistas, *E. heros* captam mais informações voláteis, com isso acabam tomando decisões mais lentas e menos precisas que fitófagos especialistas (Steck & Snell-Rood, 2018; Terraube et al., 2011), provavelmente essa condição fez com que as ninfas entrassem em contato com o substrato contaminado e somente depois decidissem por estar no lado não tratado (Fig. 2).

De maneira geral, acredita-se que os percevejos possuem mecanismos comportamentais capazes de reduzir o contato com áreas contaminadas com xenobióticos (Romero et al., 2009), isso se deve à presença de proteínas olfativas que permitem o recolhimento de pistas olfativas, possibilitando identificar se há na área tóxicos (Taszakowski et al., 2023). Substratos contaminados correspondem, para o inseto, o custo de energia, de tempo e nutricionais para sua desintoxicação. Normalmente, resíduos diminuem o valor nutritivo e tendem a ser evitados, e se não houver outra possibilidade serão consumidos (Schowalter, 2011), ocasionando intoxicação e consequentemente mortalidade.

Em conclusão, este estudo demonstrou o potencial de toxicidade e os efeitos subletais dos óleos essenciais de *Lippia gracilis* e seus compostos majoritários timol e carvacrol sobre *E. heros*. Além do efeito tóxico promissor do timol (semelhante ao do Evidence), esse composto também causou irritação/repelência e aumento nas atividades de autolimpeza, com consequente redução na capacidade de locomoção. Portanto, esses bioinseticidas, especialmente o timol, podem ser considerados como alternativas para novas moléculas de inseticidas, reduzindo assim os efeitos indesejados do manejo de *E. heros*.

5.5. Referências Bibliográficas

- Azevedo, K. E. X., Cunha, G. R., Mantilla-Afanador, J. G., Ferrazza, L. B., Castellanos, N. L., Haddi, K., Lima, G. D. A., & Oliveira, E. E. (2022). Sex-dependent body mass and respiratory responses on *Euschistus heros* individuals resistant to imidacloprid. *Agricultural and Forest Entomology*, 1–9. <https://doi.org/10.1111/afe.12552>
- Bakkali, F., Averbeck, S., Averbeck, D., & Idaomar, M. (2008). Biological effects of essential oils - A review. *Food and Chemical Toxicology*, 46(2), 446–475. <https://doi.org/10.1016/j.fct.2007.09.106>
- Barson, G., Fleming, D. A., & Allan', E. (1992). Laboratory assessment of the behavioural responses of residual populations of *Oryzaephilus surinamensis* (L.) (Coleoptera: Silvanidae) to the contact insecticide pirimiphos-methyl by linear logistic modelling. *J. Stored Prod. Res*, 28(3), 161–170.
- Borges Marilurdes, Silva Cleonor, Laumann Raul Alberto, & Moraes Maria Carolina Blassioli. (2006). Metodologias de criação e manejo de colônias de percevejos da soja (Hemiptera-Pentatomidae) para estudos de comportamento e ecologia química. *Documentos/Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia*, 1–19.
- Böröczky, K., Wada-Katsumata, A., Batchelor, D., Zhukovskaya, M., & Schal, C. (2013). Insects groom their antennae to enhance olfactory acuity. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 110(9), 3615–3620. <https://doi.org/10.1073/pnas.1212466110>
- Brown, M. M. D., & Hebert, A. A. (1997). Insect repellents: An overview. *Journal of the American Academy of Dermatology*, 36(2), 243–249.
- Castellanos, N. L., Ferreira-Filho, N. A., Rodrigues, H. S., Martínez, L. C., Serrão, J. E., & Oliveira, E. E. (2021). Imidacloprid-mediated alterations on the salivary glands of the Neotropical brown stink bug, *Euschistus heros*. *Ecotoxicology*, 30(4), 678–688. <https://doi.org/10.1007/s10646-021-02388-4>
- Castellanos, N. L., Haddi, K., Carvalho, G. A., de Paulo, P. D., Hirose, E., Guedes, R. N. C., Smagghe, G., & Oliveira, E. E. (2019). Imidacloprid resistance in the Neotropical brown stink bug *Euschistus heros*: selection and fitness costs. *Journal of Pest Science*, 92(2), 847–860. <https://doi.org/10.1007/s10340-018-1048-z>
- Castellanos, N., Martínez, L. C., Silva, E. H., Teodoro, A. V., Serrão, J. E., & Oliveira, E. E. (2017). Ultrastructural analysis of salivary glands in a phytophagous stink bug revealed the presence of unexpected muscles. *PLoS ONE*, 12(6), 1–15. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0179478>
- Chang, C., & Werb, Z. (2001). The many faces of metalloproteases: cell growth, invasion, angiogenesis and metastasis. *TREND in Cell Biology*, 11(11), 37–43. [https://doi.org/10.1016/s0962-8924\(01\)02122-5](https://doi.org/10.1016/s0962-8924(01)02122-5)
- Costa, Â. C. F., Cavalcanti, S. C. H., Santana, A. S., Lima, A. P. S., Santana, E. D. R., Brito, T. B., Oliveira, R. R. B., Macêdo, N. A., Cristaldo, P. F., & Bacci, L. (2019). Formicidal activity of indole derivatives on *Atta opaciceps* (Borgmeier): Lethal, behavioural and locomotive effects. *Journal of Applied Entomology*, 143(1–2), 58–68. <https://doi.org/10.1111/jen.12569>

- Cruz, E. M. de O., Costa-Junior, L. M., Pinto, J. A. O., Santos, D. de A., Araujo, S. A. de Arrigoni-Blank, M. de F., Bacci, L., Alves, P. B., Cavalcanti, S. C. de H., & Blank, A. F. (2013). Acaricidal activity of *Lippia gracilis* essential oil and its major constituents on the tick *Rhipicephalus* (Boophilus) microplus. *Veterinary Parasitology*, 195(1–2), 198–202. <https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2012.12.046>
- Dantas, J. O., Cavalcanti, S. C. H., Araújo, A. P. A., Silva, J. E., Brito, T. B., Andrade, V. S., Pinheiro, H. S. S., Tavares, S. R. S. A., Blank, A. F., & Bacci, L. (2023). Formicidal Potential of Thymol Derivatives: Adverse Effects on the Survival and Behavior of *Acromyrmex balzani*. *Agriculture*, 13(7), 1–17. <https://doi.org/10.3390/agriculture13071410>
- de Albuquerque, U. P., de Medeiros, P. M., de Almeida, A. L. S., Monteiro, J. M., de Freitas Lins Neto, E. M., de Melo, J. G., & dos Santos, J. P. (2007). Medicinal plants of the caatinga (semi-arid) vegetation of NE Brazil: A quantitative approach. *Journal of Ethnopharmacology*, 114(3), 325–354. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2007.08.017>
- Desneux, N., Decourtye, A., & Delpuech, J. M. (2007). The sublethal effects of pesticides on beneficial arthropods. *Annual Review of Entomology*, 52, 81–106. <https://doi.org/10.1146/annurev.ento.52.110405.091440>
- Gaire, S., O’Connell, M., Holguin, F. O., Amatya, A., Bundy, S., & Romero, A. (2017). Insecticidal Properties of Essential Oils and Some of Their Constituents on the *Turkestan Cockroach* (Blattodea: Blattidae). *Journal of Economic Entomology*, 0(0), 1–9. <https://doi.org/10.1093/jee/tox035>
- González-Morales, M. A., Terán, M., & Romero, A. (2021). Behavioral responses of the common bed bug to essential oil constituents. *Insects*, 12(2), 1–12. <https://doi.org/10.3390/insects12020184>
- Haddi, K., Mendes, M. V., Barcellos, M. S., Lino-Neto, J., Freitas, H. L., Guedes, R. N. C., & Oliveira, E. E. (2016). Sexual success after stress? Imidacloprid-induced hormesis in males of the neotropical stink bug *Euschistus heros*. *PLoS ONE*, 11(6), 1–18. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0156616>
- Hanley, M. E., Lamont, B. B., Fairbanks, M. M., & Rafferty, C. M. (2007). Plant structural traits and their role in anti-herbivore defence. *Perspectives in Plant Ecology, Evolution and Systematics*, 8(4), 157–178. <https://doi.org/10.1016/j.ppees.2007.01.001>
- Hou, M. Z., Shen, G. M., Wei, D., Li, Y. L., Dou, W., & Wang, J. J. (2014). Characterization of *Bactrocera dorsalis* serine proteases and evidence for their indirect role in insecticide tolerance. *International Journal of Molecular Sciences*, 15(2), 3272–3286. <https://doi.org/10.3390/ijms15023272>
- Jaffar, S., & Lu, Y. (2022). Toxicity of Some Essential Oils Constituents against Oriental Fruit Fly, *Bactrocera dorsalis* (Hendel) (Diptera: Tephritidae). *Insects*, 13(10), 1–14. <https://doi.org/10.3390/insects13100954>
- Kavčič, A., Čokl, A., Laumann, R. A., Blassioli-Moraes, M. C., & Borges, M. (2013). Tremulatory and Abdomen Vibration Signals Enable Communication through Air in the Stink Bug *Euschistus heros*. *PLoS ONE*, 8(2), 1–10. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0056503>
- Lee, M. Y. (2018). Essential Oils as Repellents against Arthropods. *BioMed Research International*, 2018, 1–9. <https://doi.org/10.1155/2018/6860271>

- Lima, A. P. S., Santana, E. D. R., Santos, A. C. C., Silva, J. E., Ribeiro, G. T., Pinheiro, A. M., Santos, Í. T. B. F., Blank, A. F., Araújo, A. P. A., & Bacci, L. (2020). Insecticide activity of botanical compounds against *Spodoptera frugiperda* and selectivity to the predatory bug *Podisus nigrispinus*. *Crop Protection*, *136*, 1–7. <https://doi.org/10.1016/j.cropro.2020.105230>
- Margus, A., Piiroinen, S., Lehmann, P., Tikka, S., Karvanen, J., & Lindström, L. (2019). Sublethal Pyrethroid Insecticide Exposure Carries Positive Fitness Effects Over Generations in a Pest Insect. *Scientific Reports*, *9*(1), 1–10. <https://doi.org/10.1038/s41598-019-47473-1>
- Masoumi, F., Youssefi, M. R., & Tabari, M. A. (2016). Combination of carvacrol and thymol against the poultry red mite (*Dermanyssus gallinae*). *Parasitology Research*, *115*(11), 4239–4243. <https://doi.org/10.1007/s00436-016-5201-4>
- 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. (2018). Toxicity of essential oils of *Lippia gracilis* chemotypes and their major compounds on *Diaphania hyalinata* and non-target species. *Crop Protection*, *104*, 47–51. <https://doi.org/10.1016/j.cropro.2017.10.013>
- Moretti, A. N., Zerba, E. N., & Alzogaray, R. A. (2013). Behavioral and toxicological responses of *Rhodnius prolixus* and *Triatoma infestans* (Hemiptera: Reduviidae) to 10 monoterpene alcohols. *Journal of Medical Entomology*, *50*(5), 1046–1054. <https://doi.org/10.1603/ME12248>
- Nadein, K., & Gorb, S. (2022). Smart joints: auto-cleaning mechanism in the legs of beetles. *Communications Biology*, *5*(1), 1–8. <https://doi.org/10.1038/s42003-022-03924-6>
- Nerio, L. S., Olivero-Verbel, J., & Stashenko, E. (2010). Repellent activity of essential oils: A review. *Bioresource Technology*, *101*(1), 372–378. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2009.07.048>
- Nunes, M. C., & Corrêa-Ferreira, B. S. (2002). Desempenho alimentar e sobrevivência de *Euschistus heros* parasitado por *Hexacladia smithii* em sementes de soja. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, *37*(9), 1219–1224. <https://doi.org/10.1590/s0100-204x2002000900003>
- Oliveira, J. D. J., Passos, E. M. Dos, Aragão, R. M., Santos, T. S., Cruz, E. M. O., & Mendonça, M. D. C. (2022). Control of diamondback moth with *Lippia gracilis* essential oil. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, *57*(202085), 1–8. <https://doi.org/10.1590/S1678-3921.pab2022.v57.02085>
- Park, J. H., Jeon, Y. J., Lee, C. H., Chung, N., & Lee, H. S. (2017). Insecticidal toxicities of carvacrol and thymol derived from *Thymus vulgaris* Lin. against *Pochazia shantungensis* Chou & Lu., newly recorded pest. *Scientific Reports*, *7*, 1–7. <https://doi.org/10.1038/srep40902>
- Pazini, J. de B., Padilha, A. C., Cagliari, D., Bueno, F. A., Rakes, M., Zotti, M. J., Martins, J. F. da S., & Grützmacher, A. D. (2019). Differential impacts of pesticides on *Euschistus heros* (Hem.: Pentatomidae) and its parasitoid *Telenomus podisi* (Hym.: Platygasteridae). *Scientific Reports*, *9*(1), 1–10. <https://doi.org/10.1038/s41598-019-42975-4>
- Penha, T., Costa, A. C. C., Lima, A. da S., Camargo-Mathias, M. I., Blank, A. F., Abreu-Silva, A. L., & Costa-Júnior, L. M. (2021). Effects of acaricidal essential oils from *Lippia sidoides* and *Lippia gracilis* and their main components on vitellogenesis in *Rhipicephalus microplus* (Canestrini, 1888) (Acari: Ixodidae). *Veterinary Parasitology*, *299*, 1–8. <https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2021.109584>

- Perez Campos, J. S., Meriño-Cabrera, Y. B., Mantilla-Afanador, J. G., Lima, G. D. A., Barbosa, S. L., Vital, C. E., Barros, R., Rodrigues-Junior, N., Oliveira, E. E., & Oliveira, M. G. A. (2021). Proteolytic enzymes in the salivary glands of the Neotropical brown stink bug *Euschistus heros*: Reduced activities in imidacloprid-resistant strains. *Annals of Applied Biology*, *179*(1), 85–95. <https://doi.org/10.1111/aab.12683>
- Phillips, A. K., Appel, A. G., & Sims, S. R. (2010). Topical toxicity of essential oils to the *German cockroach* (Dictyoptera: Blattellidae). *Journal of Economic Entomology*, *103*(2), 448–459. <https://doi.org/10.1603/EC09192>
- Rehman, R., & Asif Hanif, M. (2016). Biosynthetic Factories of Essential Oils: The Aromatic Plants. *Natural Products Chemistry & Research*, *04*(04), 1–12. <https://doi.org/10.4172/2329-6836.1000227>
- Romero, A., Potter, M. F., & Haynes, K. F. (2009). Behavioral Responses of the Bed Bug to Insecticide Residues. *J. Med. Entomol.*, *46*(1), 51–57. <https://academic.oup.com/jme/article/46/1/51/903063>
- Santos, M. F., Santos, R. L., Tomé, H. V. V., Barbosa, W. F., Martins, G. F., Guedes, R. N. C., & Oliveira, E. E. (2016). Imidacloprid-mediated effects on survival and fertility of the Neotropical brown stink bug *Euschistus heros*. *Journal of Pest Science*, *89*(1), 231–240. <https://doi.org/10.1007/s10340-015-0666-y>
- Schowalter, T. D. (2011). *Insect ecology: an ecosystem approach*. Academic.
- Sial, M. U., Zhao, Z., Zhang, L., Zhang, Y., Mao, L., & Jiang, H. (2018). Evaluation of Insecticides induced hormesis on the demographic parameters of *Myzus persicae* and expression changes of metabolic resistance detoxification genes. *Scientific Reports*, *8*(1), 1–8. <https://doi.org/10.1038/s41598-018-35076-1>
- Smigielski, K., Prusinowska, R., Stobiecka, A., Kunicka-Styczyńska, A., & Gruska, R. (2018). Biological Properties and Chemical Composition of Essential Oils from Flowers and Aerial Parts of Lavender (*Lavandula angustifolia*). *Journal of Essential Oil-Bearing Plants*, *21*(5), 1303–1314. <https://doi.org/10.1080/0972060X.2018.1503068>
- Somavilla, J. C., da S Gubiani, P., Reis, A. C., Führ, F. M., Machado, E. P., & Bernardi, O. (2020). Susceptibility of *Euschistus heros* and *Dichelops furcatus* (Hemiptera: Pentatomidae) to insecticides determined from topical bioassays and diagnostic doses for resistance monitoring of *E. heros* in Brazil. *Crop Protection*, *138*, 1–7. <https://doi.org/10.1016/j.cropro.2020.105319>
- Sparks, T. C., & Nauen, R. (2015). IRAC: Mode of action classification and insecticide resistance management. *Pesticide Biochemistry and Physiology*, *121*, 122–128. <https://doi.org/10.1016/j.pestbp.2014.11.014>
- Stafford-Banks, C. A., Rotenberg, D., Johnson, B. R., Whitfield, A. E., & Ullman, D. E. (2014). Analysis of the salivary gland transcriptome of *Frankliniella occidentalis*. *PLoS ONE*, *9*(4), 1–10. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0094447>
- Steck, M. K., & Snell-Rood, E. C. (2018). Specialization and accuracy of host-searching butterflies in complex and simple environments. *Behavioral Ecology*, *29*(2), 486–495. <https://doi.org/10.1093/beheco/ary001>

- Tabari, M. A., Youssefi, M. R., Maggi, F., & Benelli, G. (2017). Toxic and repellent activity of selected monoterpenoids (thymol, carvacrol and linalool) against the castor bean tick, *Ixodes ricinus* (Acari: Ixodidae). *Veterinary Parasitology*, 245, 86–91. <https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2017.08.012>
- Taszakowski, A., Masłowski, A., Daane, K. M., & Brożek, J. (2023). Closer view of antennal sensory organs of two *Leptoglossus species* (Insecta, Hemiptera, Coreidae). *Scientific Reports*, 13(1), 1–16. <https://doi.org/10.1038/s41598-023-27837-4>
- Teodoro, A. V., Pinto-Zevallos, D. M., Menezes, M. S., Arrigoni-Blank, M. de F., Oliveira, E. M. C., Sampaio, T. S., Vasconcelos, J. F., & Blank, A. F. (2021). Toxicity and repellency of the essential oil from *Lippia gracilis* to the coconut mite *Aceria guerreronis* (Acari: Eriophyidae). *International Journal of Acarology*, 47(5), 414–417. <https://doi.org/10.1080/01647954.2021.1922497>
- Terraube, J., Arroyo, B., Madders, M., & Mougeot, F. (2011). Diet specialisation and foraging efficiency under fluctuating vole abundance: A comparison between generalist and specialist avian predators. *Oikos*, 120(2), 234–244. <https://doi.org/10.1111/j.1600-0706.2010.18554.x>
- Tuelher, E. S., da Silva, É. H., Freitas, H. L., Namorato, F. A., Serrão, J. E., Guedes, R. N. C., & Oliveira, E. E. (2017). Chlorantraniliprole-mediated toxicity and changes in sexual fitness of the Neotropical brown stink bug *Euschistus heros*. *Journal of Pest Science*, 90(1), 397–405. <https://doi.org/10.1007/s10340-016-0777-0>
- Tuelher, E. S., da Silva, É. H., Rodrigues, H. S., Hirose, E., Guedes, R. N. C., & Oliveira, E. E. (2018). Area-wide spatial survey of the likelihood of insecticide control failure in the neotropical brown stink bug *Euschistus heros*. *Journal of Pest Science*, 91(2), 849–859. <https://doi.org/10.1007/s10340-017-0949-6>
- Wang, R., Fang, Y., Che, W., Zhang, Q., Wang, J., & Luo, C. (2022). The Toxicity, Sublethal Effects, and Biochemical Mechanism of β -Asarone, a Potential Plant-Derived Insecticide, against *Bemisia tabaci*. *International Journal of Molecular Sciences*, 23(18), 1–10. <https://doi.org/10.3390/ijms231810462>
- Wang, Y., Luo, W., & Reiser, G. (2008). Trypsin and trypsin-like proteases in the brain: Proteolysis and cellular functions. *Cellular and Molecular Life Sciences*, 65(2), 237–252. <https://doi.org/10.1007/s00018-007-7288-3>
- Wu, H. M., Feng, H. L., Wang, G. Di, Zhang, L. L., Zulu, L., Liu, Y. H., Zheng, Y. L., & Rao, Q. (2022). Sublethal Effects of Three Insecticides on Development and Reproduction of *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae). *Agronomy*, 12(6), 1–11. <https://doi.org/10.3390/agronomy12061334>
- Zhukovskaya, M., Yanagawa, A., & Forschler, B. (2013). Grooming Behavior as a Mechanism of Insect Disease Defense. *Insects*, 4(4), 609–630. <https://doi.org/10.3390/insects4040609>

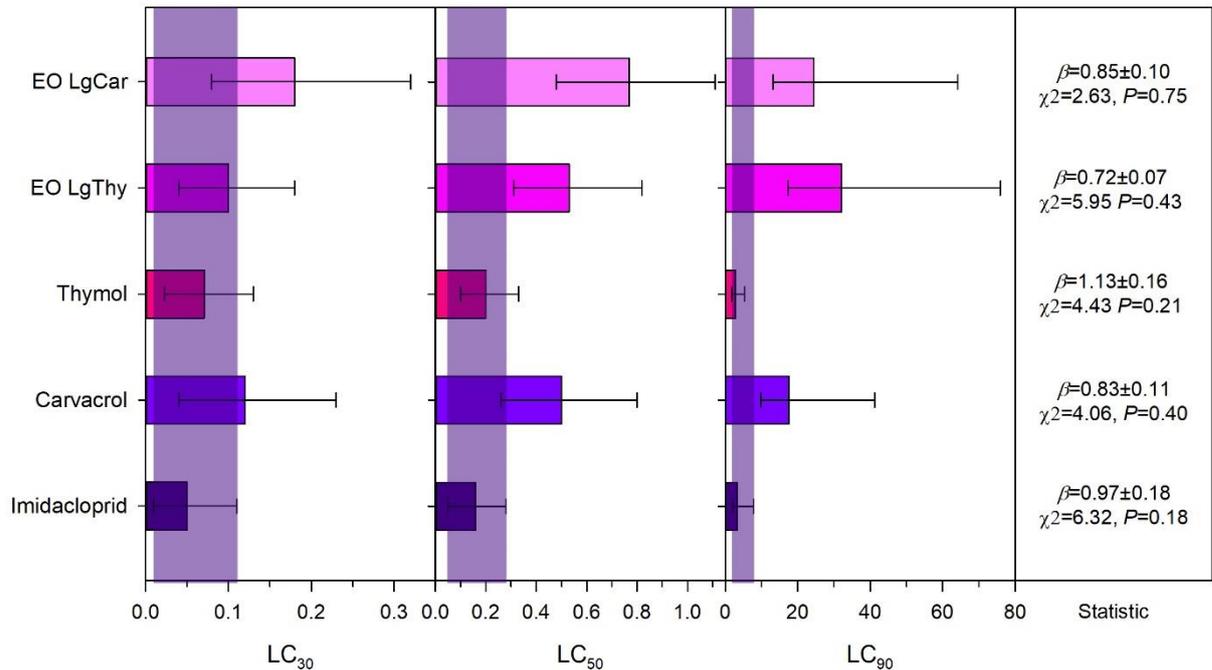


Fig. 1. Toxicidade dos óleos essenciais dos quimiotipos timol (EO *LgThy*) e carvacrol (EO *LgCar*) de *Lippia gracilis*, seus compostos majoritários isolados e do inseticida imidacloprido sobre ninfas de terceiro instar de *Euschistus heros*. Histogramas representam as concentrações letais necessárias para matar 30, 50 e 90 % das populações e as linhas de erro os respectivos intervalos de confiança a 95%. A área sombreada indica a faixa do intervalo de confiança do controle positivo (imidacloprido). β = inclinação da curva \pm erro padrão.

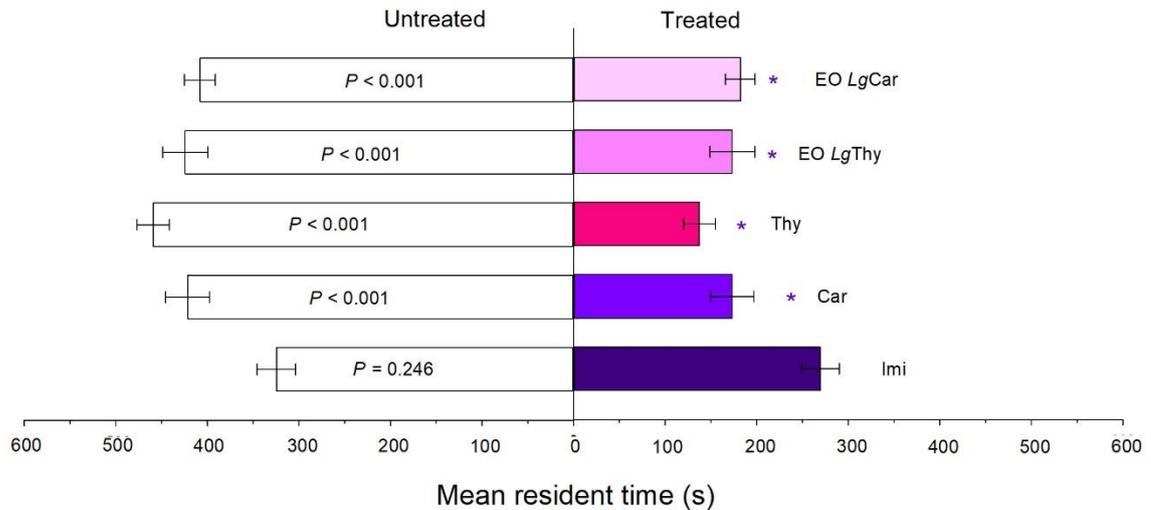


Fig. 2. Tempo médio de permanência de ninfas de terceiro instar de *Euschistus heros* em cada lado da arena parcialmente tratadas com as CL30 dos óleos essenciais dos quimiotipos timol (EO LgThy) e carvacrol (EO LgCar) de *Lippia gracilis* e seus compostos majoritários (Thy e Car) e do inseticida imidacloprido. Histogramas seguidos por asterisco indicam que houve diferença no tempo de permanência das ninfas entre o lado tratado e o não tratado por um período de 600 s, pelo teste de Wilcoxon ($P < 0,05$). EO LgThy = óleo essencial de *Lippia gracilis* quimiotipo timol; EO LgCar = óleo essencial de *Lippia gracilis* quimiotipo carvacrol; Thy = timol; Car = carvacrol e Imi = imidacloprido.

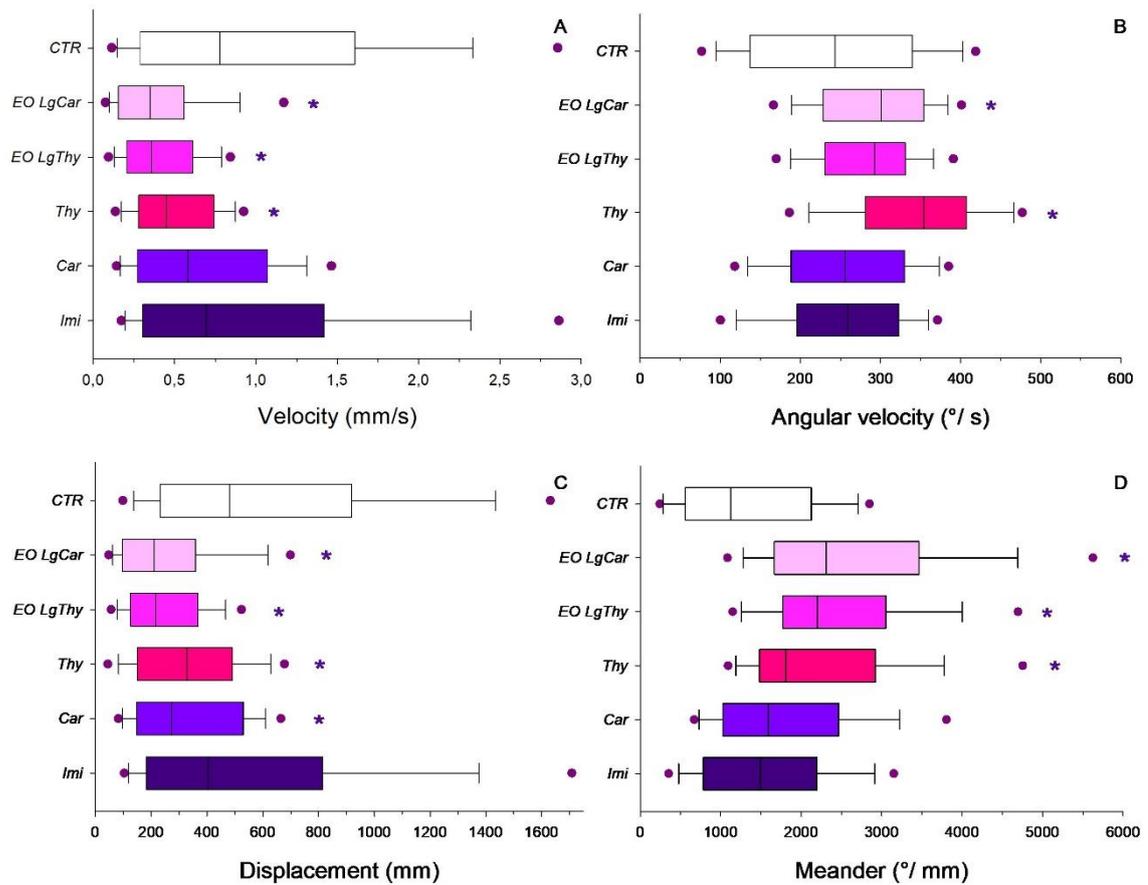


Fig. 3. Comportamento de deslocamento de ninfas de terceiro instar de *Euschistus heros* expostas por 600 s às CL30 dos óleos essenciais dos quimiotipos timol (EO LgThy) e carvacrol (EO LgCar) de *Lippia gracilis* e seus compostos majoritários (Thy e Car) e do inseticida imidacloprido. Os círculos no gráfico representam 5° e 95° percentis. As linhas de erro representam os 10° 90° percentis e as bordas da caixa são os 25° e 75° percentis. As médias marcadas com asterisco diferem do controle pelo método de comparação múltipla paramétrica de Dunnett's ou não-paramétrica de Dunn's em $P < 0.05$. CRT = controle. EO LgThy = óleo essencial de *Lippia gracilis* quimiotipo timol; EO LgCar = óleo essencial de *Lippia gracilis* quimiotipo carvacrol; Thy = timol; Car = carvacrol e Imi = imidacloprido.

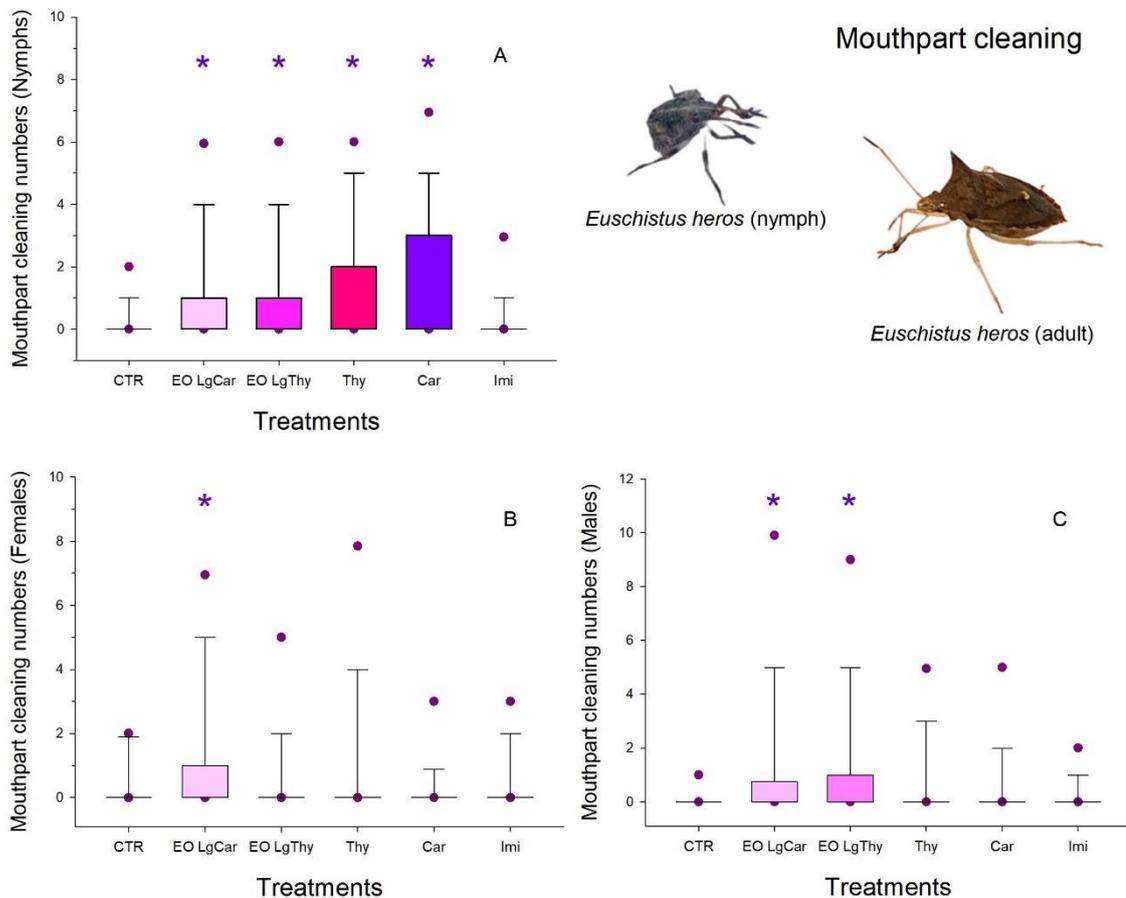


Fig. 4. Comportamento de autolimpeza do aparelho bucal de ninfas (A) e adultos (B e C) de *Euschistus heros* expostos aos óleos essenciais dos quimiotipos timol (EO LgThy) e carvacrol (EO LgCar) de *Lippia gracilis* e seus compostos majoritários (Thy e Car) e do inseticida imidacloprido. Os círculos no gráfico representam 5° e 95° percentis. As linhas de erro representam os 10° e 90° percentis e as bordas da caixa são os 25° e 75° percentis. As médias marcadas com asterisco diferem do controle pelo método de comparação múltipla paramétrica de Dunnett's ou não-paramétrica de Dunn's em $P < 0.05$. CRT = controle. EO LgThy = óleo essencial de *Lippia gracilis* quimiotipo timol; EO LgCar = óleo essencial de *Lippia gracilis* quimiotipo carvacrol; Thy = timol; Car = carvacrol e Imi = imidacloprido.

6. CONSIDERAÇÕES FINAIS

Este estudo demonstra a atividade inseticida dos óleos essenciais de quimiotipos de *L. gracilis*, dos majoritários timol e carvacrol sobre o *E. heros*. Além disso, o composto majoritário timol causou alterações nos aspectos biológicos e comportamentais do percevejo.

Diante disso, o composto majoritário timol é promissor para síntese de novas moléculas inseticidas, podendo ser utilizado em programas de manejo do percevejo-marrom-da-soja.