



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

**BIOINSETICIDAS E SUAS NANOFORMULAÇÕES PARA O
CONTROLE DA MOSCA-NEGRA-DOS-CITROS *Aleurocanthus
woglumi*: ALTERNATIVA DE MANEJO INTEGRADO NA
AGRICULTURA MODERNA**

EMILE DAYARA RABELO SANTANA

2020



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

EMILE DAYARA RABELO SANTANA

**BIOINSETICIDAS E SUAS NANOFORMULAÇÕES PARA O CONTROLE DA
MOSCA-NEGRA-DOS-CITROS *Aleurocanthus woglumi*: ALTERNATIVA DE
MANEJO INTEGRADO NA AGRICULTURA MODERNA**

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

Orientador
Prof. Dr. Leandro Bacci

SÃO CRISTÓVÃO
SERGIPE – BRASIL
2020

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

S232b Santana, Emile Dayara Rabelo
Bioinseticidas e suas nanoformulações para o controle da mosca-negras-dos-citros *Aleurocanthus woglumi* : alternativa de manejo integrado na agricultura moderna / Emile Dayara Rabelo Santana ; orientador Leandro Bacci. – São Cristóvão, SE, 2020.
45 f. : il.

Dissertação (mestrado em Agricultura e Biodiversidade) - Universidade Federal de Sergipe, 2020.

1. Agricultura. 2. Inseticidas vegetais. 3. Laranja. 4. Natural pesticides. 5. Moscas - Controle. I. Bacci, Leandro, orient. II. Título.

CDU: 631:632.951

EMILE DAYARA RABELO SANTANA

**BIOINSETICIDAS E SUAS NANOFORMULAÇÕES PARA O CONTROLE DA
MOSCA-NEGRA-DOS-CITROS *Aleurocanthus woglumi*: ALTERNATIVA DE
MANEJO INTEGRADO NA AGRICULTURA MODERNA**

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

APROVADA em 07 de fevereiro de 2020.

Prof. Dr. Paulo Fellipe Cristaldo
UFRPE

Prof. Dr. Jefferson Elias da Silva
UFS

Prof. Dr. Leandro Bacci
UFS
(Orientador)

SÃO CRISTÓVÃO
SERGIPE – BRASIL

*“E tudo que pedirdes em oração, crendo, o
recebereis.” (Mateus 21:22)*
*Aos meus pais, José e Maria e aos meus
irmãos Rone e Alex.*
Dedico

AGRADECIMENTOS

“Eu me lembro dos dias em que orei por coisas que tenho hoje”. Desconheço o autor dessa frase, mas concordo plenamente com ela e quero deixar aqui meu agradecimento a todos que contribuíram para que meus pedidos das orações se tornassem realidade.

Assim, gostaria de agradecer primeiramente a Deus, por ser meu alicerce, por Sua mão segurar a minha, por ser essa força inexplicável que me faz caminhar.

Aos meus pais, Seu José e Dona Maria, por terem me dado a vida e mostrado o melhor dela. Eles que, mesmo sem uma graduação, são meus melhores professores. Aos meus dois irmãos, por serem esses anjos protetores e incentivadores. Ao meu namorado que, mesmo sem experiência nesse mundo acadêmico do qual faço parte, caminhou ao meu lado em todos os momentos. Às minhas afilhadas, Lara e Isabela, por sempre arrancarem um sorriso do meu rosto. Aos demais familiares, tios(as), primos(as), padrinhos e madrinhas, por serem minha base de amor.

Ao meu orientador, Prof. Dr. Leandro Bacci, e sua esposa, Prof.^a Dra. Ana Paula, por terem escolhido uma das mais belas profissões e dedicarem boa parte do seu tempo na formação de outros profissionais. Seus ensinamentos vão muito além dos conteúdos curriculares, são aprendizados para a vida. Aos membros da banca, Prof. Dr. Paulo e Prof. Dr. Jefferson, por terem aceitado contribuir com essa etapa da minha formação. Aos demais professores que passaram por minha trajetória acadêmica, desde aqueles do ensino básico ao superior, pois, se hoje estou escrevendo nesta folha de dissertação, é devido à dedicação de vocês.

Aos donos dos pomares de laranja que me acolheram tão bem, Sr. Givaldo e Dona Helena, Sr. Ailton e Dona Édila, a cada ida à casa de vocês recebia um sorriso, um aperto de mão, um abraço acolhedor. Minha forma de agradecer é contribuindo com minha pesquisa, ainda que seja uma gota no oceano.

À minha amiga Ana Paula, uma amiga irmã com que Deus me presenteou através da UFS, juntas estudamos, sorrimos, choramos, moramos na mesma casa, passamos no mestrado, no doutorado e adotamos um gato (Toinho), todos esses momentos estarão bem guardados em meu coração, obrigada por tudo, Ana.

Aos meus amigos do laboratório Clínica Fitossanitária (UFS), Ane, de sobrenome solidariedade, uma amiga e afilhada que levarei por toda a vida. Aline, Valfran e Fernanda, meu braço direito e esquerdo, obrigada por todos os dias que fizeram deste trabalho os seus. Jaciele, Natiele e Swamy, as novatas que parecem que estão conosco há séculos (rsrs), meu agradecimento por cada ajuda, cada sorriso e momento de felicidade. Agradeço também aos amigos que fiz nesse laboratório e que não estão mais conosco todos os dias, Alisson, Abrãao, Alexandre, Bia, Morguinha, Bruna, Carlisson, Ruan, Ângela, Victor, Lucas Carira, Everson, Lucas, Wallace, Léo, Karla e Camila. Aos amigos do curso, Diego, Luis, Carlos e Michel. Todos vocês são únicos e estarão para sempre em meu coração.

Às minhas amigas irmãs da antiga república, estávamos juntas quando disse que tentaria o mestrado e foram vocês quem me deram os primeiros parabéns quando fui aprovada, obrigada, Joelma, Cris, Paloma, Nayara, Verônica e Taci. Jamais esquecerei o quanto foram e são importantes para mim. Às minhas amigas do povoado São José, amigas de infância, do grupo de jovens e da vida que, mesmo longe esses sete anos, parecia que estávamos sempre juntas, Day, Danda, Keka, Kelly, Liliane, Ivanilde, Clau e Mariele.

À Universidade Federal de Sergipe (UFS) e ao Programa de Pós-Graduação em Agricultura e Biodiversidade (PPGAGRI), por me darem a oportunidade de ter uma graduação e agora um mestrado. A todos que fazem essa universidade, meu muito obrigada.

Aos órgãos de fomento, Conselho Nacional de Pesquisa (CNPq), Fundação de Apoio à Pesquisa e à Inovação Tecnológica do Estado de Sergipe (FAPITEC) e Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), pelos auxílios financeiros concedidos a esta pesquisa.

BIOGRAFIA

EMILE DAYARA RABELO SANTANA, filha de Maria Augusta Rabelo Santana e José do Nascimento Santana, nasceu em 23 de abril de 1995, na cidade de Poço Verde, Sergipe, Brasil.

No ano de 2013, ingressou no curso de Engenharia Agrônômica da Universidade Federal de Sergipe, sendo bolsista de Iniciação Científica e Tecnológica na área de Entomologia. Em março de 2018, iniciou o mestrado em Agricultura e Biodiversidade nessa mesma instituição, defendendo sua dissertação em fevereiro de 2020.

Durante a graduação foi “Aluna Destaque de Iniciação Tecnológica” e durante seu mestrado recebeu, da sua cidade, a “Honra ao Mérito de Santa Cruz”, por sua dedicação acadêmica. Nos meses de outubro e novembro de 2019, foi aprovada para o doutorado em Entomologia na Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz (ESALQ-USP) e em Proteção de Plantas na Universidade Estadual Paulista (UNESP).

SUMÁRIO

	Página
LISTA DE FIGURAS	i
LISTA DE TABELAS	ii
RESUMO	iii
ABSTRACT	iv
1. INTRODUÇÃO GERAL	5
2. REVISÃO DE LITERATURA	6
2.1. Citricultura	6
2.2. Mosca-negra-dos-citros	6
2.2.1. Origem e distribuição	6
2.2.2. Biologia	7
2.2.3. Plantas hospedeiras e danos às culturas	8
2.2.4. Controle	8
2.3. Manejo Integrado de Pragas	9
2.3.1. Inseticidas microbiológicos	9
2.3.2. Inseticidas botânicos	10
2.4. Nanoformulações	11
2.5. <i>Lippia sidoides</i>	12
3. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	13
4. ARTIGO 1: EVITAR OU MORRER: EFICIÊNCIA DE NANOFORMULAÇÕES DO ÓLEO ESSENCIAL DE <i>Lippia sidoides</i> E TIMOL SOBRE A MOSCA-NEGRA-DOS-CITROS	20
Resumo	20
Abstract	21
4.1. Introdução	22
4.2. Material e Métodos	23
4.2.1. Local de estudo e manutenção dos insetos	23
4.2.2. Obtenção dos compostos e das nanoformulações	23
4.2.3. Caracterização físico-química das nanoformulações	23
4.2.4. Bioensaios	24
4.2.4.1 Toxicidade por contato	24
4.2.4.2 Toxicidade por fumigação	24
4.2.4.3 Sobrevivência e tempo letal	25
4.2.4.4 Fitotoxicidade e efeito ovicida	25
4.2.4.5 Repelência/deterrência e antioviposição	25
4.2.5. Análises estatísticas	26
4.3. Resultados	26
4.3.1. Caracterização química do óleo essencial	26
4.3.2. Caracterização das nanoformulações	27
4.3.3. Toxicidade por contato e fumigação	27
4.3.4. Sobrevivência e tempo letal	27
4.3.5. Fitotoxicidade e efeito ovicida	27
4.3.6. Repelência/deterrência e antioviposição	27
4.4. Discussão	28
4.5. Agradecimentos	31
4.6. Referências	32
Figuras e Tabelas	37
5. CONSIDERAÇÕES FINAIS	45

LISTA DE FIGURAS

ARTIGO 1

Figura		Página
1	Cromatograma do óleo essencial de <i>Lippia sidoides</i> analisado por cromatografia gasosa acoplada a um detector por ionização de chama (CG-FID).....	37
2	Imagem obtida por microscopia de luz polarizada e propriedades físicas e químicas das nanoformulações contendo OE de <i>Lippia sidoides</i> (NF OE <i>L. sidoides</i>) e timol (NF timol). As setas indicam as partículas contendo os compostos.	38
3	Curvas de sobrevivência e tempo letal (TL ₅₀) (média ± IC95%) de adultos de <i>Aleurocanthus woglumi</i> expostos nas CLS ₉₅ dos tratamentos imidacloprido, espinetoram, óleo essencial de <i>Lippia sidoides</i> (OE <i>L. sidoides</i>), nanoformulação do óleo essencial de <i>L. sidoides</i> (NF OE <i>L. sidoides</i>), timol e nanoformulação do timol (NF timol), por contato (A) e fumigação (B). Curvas de sobrevivência seguidas pela mesma letra não diferem significativamente pelo método de Holm-Sidak (teste de Log-rank, $\alpha = 0,05$)	41
4	Fitotoxicidade às folhas de <i>Citrus sinensis</i> e mortalidade de ovos de <i>Aleurocanthus woglumi</i> expostos as CLS ₉₅ dos tratamentos imidacloprido, espinetoram, óleo essencial de <i>Lippia sidoides</i> (OE <i>L. sidoides</i>), nanoformulação do óleo essencial de <i>L. sidoides</i> (NF OE <i>L. sidoides</i>), timol e nanoformulação do timol (NF timol), após 24, 48 e 72 horas de exposição. a = fitotoxicidade nas folhas, b = ovos com coloração diferente do controle e c = ovos deformados.....	42
5	Efeito ovicida (%) (média ± EP) das CLS ₉₅ dos tratamentos imidacloprido, espinetoram, nanoformulação do óleo essencial de <i>L. sidoides</i> (NF OE <i>L. sidoides</i>), timol e nanoformulação do timol (NF timol) em ovos de <i>Aleurocanthus woglumi</i> , após 72 horas de exposição. Não foi possível verificar o efeito ovicida do óleo essencial de <i>Lippia sidoides</i> uma vez que este causou fitotoxicidade às folhas de <i>Citrus sinensis</i> . Médias seguidas pela mesma letra não diferem pelo teste de Tukey ($P < 0,05$)..	43
6	Repelência/deterência de adultos (A) e antioviposição (Índice de oviposição - IO e oviposição) (B) de <i>Aleurocanthus woglumi</i> em folhas de <i>Citrus sinensis</i> imersas nas soluções dos tratamentos imidacloprido, espinetoram, nanoformulação do óleo essencial de <i>L. sidoides</i> (NF OE <i>L. sidoides</i>), timol e nanoformulação do timol (NF timol). Médias seguidas pela mesma letra não diferem pelo teste de Tukey ($P < 0,05$) e médias seguidas por asterisco, indicam diferenças entre o número de adultos (A) e ovos (B) nas folhas tratada e a não tratada pelo teste de t pareado ($P < 0,05$). n.s. = IO não difere de zero e $\neq 0$ = IO diferente de zero, pelo teste de χ^2 . Na oviposição (ovos/folha) (B), as linhas do erro representam os percentis 10 e 90 e as extremidades da caixa os percentis 25 e 75. A linha sólida dentro da caixa representa a mediana e o círculo preto a média.	44

LISTA DE TABELAS

ARTIGO 1

Tabela	Página
1 Toxicidade por contato dos tratamentos imidacloprido, espinetoram, óleo essencial de <i>Lippia sidoides</i> (OE <i>L. sidoides</i>), nanoformulação do óleo essencial de <i>L. sidoides</i> (NF OE <i>L. sidoides</i>), timol e nanoformulação do timol (NF timol) sobre adultos de <i>Aleurocanthus woglumi</i> após 12 horas de exposição.	39
2 Toxicidade por fumigação dos tratamentos imidacloprido, espinetoram, óleo essencial de <i>Lippia sidoides</i> (OE <i>L. sidoides</i>), nanoformulação do óleo essencial de <i>L. sidoides</i> (NF OE <i>L. sidoides</i>), timol e nanoformulação do timol (NF timol) sobre adultos de <i>Aleurocanthus woglumi</i> após 12 horas de exposição.	40

RESUMO

SANTANA, Emile Dayara Rabelo. **Bioinseticidas e suas nanoformulações para o controle da mosca-negra-dos-citros *Aleurocanthus woglumi*: alternativa de manejo integrado na agricultura moderna.** São Cristóvão: UFS, 2020. 45p. (Dissertação – Mestrado em Agricultura e Biodiversidade).*

A citricultura é uma das principais atividades agrícolas mundiais, mas sua produção encontra-se ameaçada devido ao ataque da mosca-negra-dos-citros (*Aleurocanthus woglumi*). Este inseto causa danos diretos e indiretos nas plantas, provocando alterações fisiológicas e consequente redução na produção de frutos. Seu controle é baseado em inseticidas organossintéticos, porém o uso indiscriminado deles tem provocado efeitos adversos à sociedade e ao meio ambiente. Com isso, os óleos essenciais surgem como uma alternativa de controle. Entretanto, apesar da toxicidade sobre pragas agrícolas, algumas de suas características inviabilizam sua utilização em campo. Nessa perspectiva, as nanoformulações vêm sendo estudadas no âmbito agrícola. A nanotecnologia permite a manutenção da bioatividade do óleo essencial e aumenta sua eficiência de aplicação. Assim, no presente estudo, avaliamos os efeitos do óleo essencial de *Lippia sidoides* e seu composto majoritário timol, das nanoformulações deles, do inseticida espinetoram e imidacloprido sobre *A. woglumi*, além da fitotoxicidade dos tratamentos. Para isso, foram realizados bioensaios de toxicidade sobre ovos e adultos, além de bioensaios de repelência/deterrência e antioviposição. Um total de nove compostos foram encontrados no óleo essencial de *L. sidoides*, sendo o timol o composto majoritário (73,23%). As nanoformulações apresentaram tamanho de partículas nanométricas (10 a 100 nm) e formato esférico. Através da via de exposição por contato, o timol ($CL_{50} = 0,8922 \text{ mg ml}^{-1}$) e o óleo essencial ($CL_{50} = 3,996 \text{ mg ml}^{-1}$) foram os compostos mais tóxicos. O inverso foi observado por fumigação, em que o óleo foi o composto mais tóxico ($CL_{50} = 2,715 \text{ } \mu\text{l L}^{-1}$), seguido do timol ($CL_{50} = 5,033 \text{ } \mu\text{l L}^{-1}$). As nanoformulações, por contato, apresentaram CL_{50} de $39,68 \text{ mg ml}^{-1}$ e $55,11 \text{ mg ml}^{-1}$. Já por fumigação, as CL_{50} foram de $9,074$ e $54,04 \text{ } \mu\text{l L}^{-1}$ para timol e óleo, respectivamente. Os bioinseticidas atuaram rapidamente sobre adultos de *A. woglumi*, provocando 50% de mortalidade em menos de 3 horas. A nanoformulação do timol causou o maior efeito ovicida, não causando fitotoxicidade à planta. Quanto à repelência e à antioviposição, os bioinseticidas diminuíram a quantidade de adultos e ovos sobre folhas tratadas. Com base nos resultados obtidos, os bioinseticidas testados demonstraram alta toxicidade sobre a mosca negra, com resultados superiores ao atual ingrediente ativo usado para seu controle. Dessa forma, consistem em potenciais moléculas alternativas para o manejo integrado dessa praga.

Palavras-chave: Inseticidas botânicos; *Citrus sinensis*; Aleyrodidae; Nanobiopesticida.

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

ABSTRACT

SANTANA, Emile Dayara Rabelo. **Bioinsecticides and their nanoformulations for the control of the citrus blackfly *Aleurocanthus woglumi*: alternative in the integrated management in modern agriculture.** São Cristóvão: UFS, 2020. 45 p. (Thesis - Masters of Science in Agriculture and Biodiversity).*

Citriculture is one of the main agricultural activities throughout the world but its production has been threatened due to the attack of the citrus blackfly (*Aleurocanthus woglumi*). This insect causes direct and indirect damage to plants, causing physiological changes and consequent reduction in fruit production. Its control is based on organosynthetic insecticides, although its indiscriminate use has caused adverse effects on society and the environment. As a result, essential oils rose as an alternative. However, despite the toxicity on agricultural pests, some of its characteristics make its use in the fields unfeasible. Consequently, nanoformulations have been studied in the agricultural field. Nanotechnology allows the bioactivity of the essential oil maintenance while increasing its application efficiency. Therefore, in this study, we evaluated the effects of the *Lippia sidoides* essential oil, its major compound thymol, their nanoformulations, the espinetoram insecticide and imidacloprid on *A. woglumi*, in addition to the phytotoxicity of the treatments. In order to do so, toxicity bioassays were carried out on eggs and adults, in addition to repellency / deterrence and anti-oviposition bioassays. A total of nine compounds were found in the *L. sidoides* essential oil, with thymol being the major compound (73.23%). Nanoformulations presented nanometric particle size (10 to 100 nm) and spherical shape. Through the contact exposure route, thymol ($CL_{50} = 0.8922 \text{ mg ml}^{-1}$) and the essential oil ($CL_{50} = 3.996 \text{ mg ml}^{-1}$) were the most toxic compounds. The opposite was observed by fumigation, in which oil was the most toxic compound ($CL_{50} = 2,715 \text{ } \mu\text{l L}^{-1}$) followed by thymol ($CL_{50} = 5.033 \text{ } \mu\text{l L}^{-1}$). The contact nanoformulations presented CL_{50} of 39.68 mg ml^{-1} and 55.11 mg ml^{-1} . By Fumigation, the LC_{50} were 9.074 and $54.04 \text{ } \mu\text{l L}^{-1}$, for thymol and oil, respectively. Bioinsecticides acted quickly on adults of *A. woglumi*, causing 50% mortality in less than 3 hours. The nanoformulation of thymol caused the greatest ovicidal effect, causing no phytotoxicity to the plant. As for repellency and anti-oviposition, bioinsecticides decreased the amount of adults and eggs on treated leaves. Based on the results obtained, the bioinsecticides tested demonstrated high toxicity on the blackfly with superior results to the current active ingredient used for its control. Therefore, they consist of potential alternative molecules for the integrated management of this pest.

Key-words: Botanical insecticides; *Citrus sinensis*; Aleyrodidae; Nanobiopesticide.

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

1. INTRODUÇÃO GERAL

As frutas cítricas representam uma das principais *commodities* agrícolas produzidas mundialmente. O Brasil ocupa a primeira posição no *ranking* de produção, à frente dos Estados Unidos e da China. No entanto, essa cadeia produtiva tem sido constantemente ameaçada pelo ataque de insetos (FAO, 2017; IBGE, 2019; SANTOS, 2019), dentre estes se destaca a mosca-negra-dos-citros - *Aleurocanthus woglumi* (Hemiptera: Aleyrodidae). Estima-se que este inseto seja responsável por perdas de até 80% da produção, prejudicando assim um dos mais importantes produtos de exportação brasileiros, o suco da laranja (GOMES et al., 2019; LIMA et al., 2017). Além dos citros, *A. woglumi* é conhecida por atacar mais de 300 espécies de plantas distribuídas em praticamente todos os continentes (EPPO, 2014).

Esse inseto possui hábito alimentar sugador e provoca tanto danos diretos ao succionar a seiva das plantas, como também danos indiretos ao excretar uma substância açucarada (*honeydew*) que favorece o surgimento de fungos do gênero *Capnodium*, conhecidos popularmente como fumagina. Tais danos provocam alterações fisiológicas nas plantas e consequente perda na produtividade (GOMES et al., 2019), exigindo assim a utilização de métodos de controle.

Dentre as formas de controle mais desejáveis, está a adoção de métodos de controle baseados no Manejo Integrado de Pragas (MIP), o qual compreende princípios ecológicos, ambientais, sociais e econômicos específicos para cada praga x sistema de cultivo (CARRANO-MOREIRA, 2014). No entanto, embora existam diversos programas de manejo associados à citricultura, o uso de inseticidas organossintéticos consiste na única forma de controle estabelecida para a mosca-negra-dos-citros (VIEIRA LIMA et al., 2017). Por outro lado, existe uma forte pressão do mercado internacional quanto à exigência de métodos mais seguros do ponto de vista ambiental e social, o que tem impulsionado o desenvolvimento de novas alternativas de controle de pragas.

Os bioinseticidas de origem microbiológica e botânica têm se mostrado como alternativas promissoras para um controle mais sustentável de pragas. As espinosinas, por exemplo, são inseticidas advindos da fermentação do actinomiceto *Saccharopolyspora spinosa* que são produzidos e comercializados para o controle de diversas pragas, inclusive de citros (KIRST, 2010). Entretanto, não existem registros da eficiência das espinosinas sobre a mosca negra *A. woglumi* (MAPA, 2020). Já os inseticidas botânicos baseados em óleos essenciais (OEs) têm demonstrado atividade inseticida, assim como maior seletividade aos organismos não alvo (SANTOS et al., 2018). Porém, características físico-químicas dos OEs exigem o desenvolvimento de formulações que possibilitem sua aplicação em condições de campo (BILIA et al., 2014). Nesse sentido, a nanotecnologia tem sido utilizada por permitir o encapsulamento de moléculas bioativas, podendo preservar sua atividade biológica e proporcionar melhor eficiência de aplicação (KAH; HOFMANN, 2014). Embora o uso da nanotecnologia já seja bem estabelecido nas áreas farmacêuticas e químicas, seu uso na agricultura é relativamente recente (ZAKI et al., 2017).

Diversos estudos têm analisado o potencial dos OEs de plantas como bioinseticidas. A espécie *Lippia sidoides*, por exemplo, nativa do semiárido brasileiro, possui ampla utilização comercial como componente de produtos farmacêuticos e cosméticos, além de atividade comprovada sobre pragas agrícolas e urbanas (CAVALCANTI et al., 2010; FIGUEIREDO et al., 2017; OLIVEIRA et al., 2018). A composição química do OE de *L. sidoides* é diversificada e geralmente possui o timol como componente majoritário e bioativo (SOUZA; N.; OLIVEIRA, 2016).

Assim, neste estudo, objetivamos avaliar os efeitos de bioinseticidas de origem microbiológica e botânica sobre *A. woglumi*, a fim de contribuir para o manejo integrado dessa praga.

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1 Citricultura

A citricultura consiste na atividade de produção de frutíferas de maior destaque mundial. Dentre as frutas dessa cadeia produtiva (ex. tangerina, lima ácida e limão), o principal produto é a laranja (*Citrus sinensis*), representando a quinta fruta mais produzida no mundo, com um rendimento de aproximadamente 73 milhões de toneladas (FAO, 2017; JUNIOR et al., 2005; SANTOS, 2019). O Brasil ocupa o primeiro lugar no *ranking* dos principais produtores de citros, seguido por Estados Unidos e China (SANTOS, 2019). Em 2019, a produção brasileira de laranja foi em torno de 17,7 milhões de toneladas (IBGE, 2019). O Brasil também é o maior exportador de suco de laranja, atingindo 80% das exportações mundiais e mais de 30% de toda produção mundial da fruta (SANTOS, 2019; USDA, 2017). Dessa forma, o setor citrícola é um dos principais elos que movimentam a cadeia do agronegócio brasileiro, promovendo o crescimento da economia, a geração de empregos e a produção de *commodities* (SANTOS, 2019).

A produção de laranja encontra-se distribuída em diversas regiões do Brasil. O Sudeste possui a maior área plantada (471.425 hectares). Em 2019, a região Sudeste produziu 14,7 milhões de toneladas (83% da produção total do país), seguida pela região Sul (1.196.927) e Nordeste (1.175.771 milhões de toneladas). Dentre os Estados do Nordeste, destacam-se as produções da Bahia (637.500 toneladas) e de Sergipe (377.590 toneladas) (IBGE, 2019).

Por outro lado, alguns fatores têm contribuído para a redução da produção de citros, como as mudanças climáticas, os surtos de doenças e os ataques de pragas. Somente para o controle de insetos-praga, a quantidade de inseticidas gasta chega a aproximadamente 10 mil toneladas (NEVES; RODRIGUES, 2004; OLIVEIRA et al., 2014). Dentre as principais pragas da cultura dos citros, destacam-se a mosca-negra-dos-citros (*Aleurocanthus woglumi*), a mosca-das-frutas (*Ceratitis capitata*), a larva-minadora-dos-citros (*Phyllocnistis citrella*), o pulgão-preto-dos-citros (*Toxoptera citricida*) e a ortézia (*Orthezia praelonga*) (FUNDECITRUS, 2018). Porém, atualmente a mosca-negra-dos-citros tem sido considerada uma das principais e mais difundidas pragas das culturas dos citros (TEODORO et al., 2014).

2.2 Mosca-negra-dos-citros

2.2.1 Origem e distribuição

Originária da região asiática, a mosca-negra-dos-citros (*Aleurocanthus woglumi* Ashby) foi descrita pela primeira vez na Jamaica em 1915 (ASHBY, 1915). Atualmente, encontra-se amplamente distribuída em diversas regiões do mundo, como nas Américas, na África, na Ásia e na Oceania. Na América do Sul, *A. woglumi* pode ser encontrada na Argentina, no Brasil, na Colômbia, no Equador, na Guiana, na Guiana Francesa, no Suriname e na Venezuela (EPPO, 2014; LÓPEZ et al., 2011).

O primeiro registro de *A. woglumi* no Brasil data de 2001, no Estado do Pará (OLIVEIRA, M. R. V.; SILVA, C. C. A.; NAVIA, 2001). O segundo foi feito no Estado do Maranhão em setembro de 2003 (LEMOS et al., 2006). Posteriormente, foi sendo constatada a presença dessa praga em diversos outros Estados brasileiros: Amazonas (RONCHI-TELES et al., 2009), São Paulo (PENA et al., 2008), Paraíba (LOPES et al., 2010), Roraima (CORREIA et al., 2011), Pernambuco (MONTEIRO et al., 2012), Paraná (MOLINA et al., 2014), Rio de Janeiro (MORAES et al., 2014b) e Sergipe (MENDONÇA et al., 2015).

Até o ano de 2013, a mosca-negra-dos-citros era considerada no Brasil como uma praga quarentenária A2 (excluída pela Instrução Normativa nº 42, de 09 de dezembro de 2014). Atualmente, esse inseto-praga encontra-se oficialmente registrado em dezoito unidades

da Federação: Amapá, Amazonas, Bahia, Ceará, Espírito Santo, Minas Gerais, Goiás, Maranhão, Mato Grosso do Sul, Pará, Paraíba, Pernambuco, Piauí, Rio de Janeiro, Rondônia, Roraima, São Paulo e Tocantins (MAPA, 2014a). A ampla distribuição de *A. woglumi* está intimamente associada à rápida capacidade de dispersão dos adultos, à transferência de infestação entre outras hospedeiras x citros e ao transporte de material vegetal (mudas) (MENDONÇA et al., 2015).

2.2.2 Biologia

Aleurocanthus woglumi é uma espécie pertencente à ordem Hemiptera, subordem Sternorrhyncha, família Aleyrodidae. Os adultos possuem asas membranosas acinzentadas recobertas com uma pulverulência que lhes confere coloração preta-azulada, apresentam cabeça, tórax e abdome alaranjados e pernas e asas esbranquiçadas. A fêmea tem cerca de 1,44 mm e o macho 1,03 mm, sendo possível diferenciá-los pelo tamanho (PENA et al., 2009; SILVA et al., 2011). Sua reprodução é sexuada com oviparidade, mas pode ocorrer partenogênese (GULLAN; CRANSTON, 2007). O aparelho bucal é do tipo picador sugador, e os indivíduos na fase jovem e adulta alimentam-se da seiva da planta. O tempo de vida dos indivíduos adultos dura em média 14 dias (SILVA et al., 2011).

Os ovos são depositados na face abaxial das folhas e encontrados geralmente nas brotações e folhas novas. Esses ovos possuem em média 0,2 mm, formato do tipo bastonetes recurvados e são postos em forma de espiral, sendo afixados por um pedúnculo. Inicialmente, apresentam coloração leitosa e, posteriormente, tornam-se alaranjados (ROSSATO, 2007; SILVA et al., 2011). Pena et al. (2009) analisaram três diferentes espécies de frutíferas hospedeiras da mosca negra e constataram que o número de ovos/espiral/planta foi de 27, com uma viabilidade de 88% e duração do período embrionário de 15 dias. Já Lemos et al. (2006) verificaram uma média de 100 posturas por folha e grupos de 10 a 61 ovos/espiral. O comportamento de oviposição de *A. woglumi* observado em outras plantas cítricas apresentou um número médio de 70 espirais/folha e 28 ovos por espiral (RAGA; BASILLI; SOARES, 2012).

As formas imaturas de *A. woglumi* subdividem-se em quatro estágios ninfais. As ninfas de primeiro ínstar eclodem através das aberturas longitudinais dos ovos, são inicialmente hialinas, possuem corpo alongado e se locomovem pouco sobre a folha. Após fixarem seu aparelho bucal, essas ninfas rompem as articulações de suas pernas e se tornam achatadas, ovais, com comprimento de 0,3 mm e coloração mais escura (PENA et al., 2009; SILVA et al., 2011). A duração dessa fase, à temperatura de 26° C, é em torno de 9 dias (RONCHI-TELES et al., 2009). As ninfas de segundo e terceiro ínstares são de formato ovalado, possuindo cerdas por todo o corpo, se diferenciando pelo fato de as larvas de terceiro ínstar terem cerdas mais visíveis e enegrecidas e serem de maior tamanho (2° ínstar: 2,04 mm e 3° ínstar: 3,06 mm). O tempo de desenvolvimento em dias de ambos os ínstares é de cerca de 9,5 dias (PENA et al., 2009). Porém, Ronchi-Teles et al. (2009) registraram uma duração de 6,76 dias e 8,28 dias para ninfas de segundo e terceiro ínstar, respectivamente. As ninfas de quarto ínstar ou do estágio “pupário” possuem coloração grafite a negra brilhante, com formato ovalado e convexo. As fêmeas possuem 1,14 mm e os machos 0,85 mm de comprimento. Essas ninfas se diferem daquelas de terceiro ínstar por apresentarem cerdas visíveis a olho nu e por possuírem uma faixa esbranquiçada contornando seu corpo. A duração desse estágio é em média de 28 dias (PENA et al., 2009). Porém, Ronchi-Teles et al. (2009) relataram duração de 33,58 dias, à temperatura de 26 °C.

De acordo com Pena et al. (2009), em experimentos de laboratório (27,4 °C e 79,4% UR), *A. woglumi* apresentou ciclo ovo-adulto com duração de 70 dias, sem ocorrência de variação quando mantida em diferentes plantas hospedeiras. A sobrevivência foi em média de 77,2%. Ronchi-Teles et al. (2009) também relataram uma duração total do ciclo ovo-adulto similar, de 71,76 dias. Adicionalmente, esses autores mostraram que *A. woglumi* pode

apresentar vários ciclos por ano, contribuindo assim para o potencial de crescimento da população desse inseto-praga.

2.2.3 Plantas hospedeiras e danos às culturas

Mais de 300 espécies de plantas são consideradas hospedeiras de *A. woglumi*. O Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA) apresentou a seguinte relação de plantas atacadas por essa praga: abacate (*Persea americana*), álamo (*Populus* spp.), amora (*Morus* spp.), ardísia (*Ardisia swartz*), bananeira (*Musa* spp.), buxinho (*Buxus sempervirens*), café (*Coffea arabica*), caju (*Anacardium occidentale*), carambola (*Averrhoa carambola*), cherimoia (*Annona cherimola*), citros (*Citrus* spp.), dama da noite (*Cestrum nocturnum*), gengibre (*Zingiber officinale*), goiaba (*Psidium guajava*), graviola (*Annona muricata*), grumixama (*Eugenia brasiliensis*), hibisco (*Hibiscus rosa-sinensis*), jasmim-manga (*Plumeria rubra*), lichia (*Litchi chinensis*), louro (*Laurus nobilis*), mamão (*Carica papaya*), manga (*Mangifera indica*), maracujá (*Passiflora edulis*), marmelo (*Cydonia oblonga*), murta (*Murraya paniculata*), pêra (*Pyrus* spp.), pinha (*Annona squamosa*), romã (*Punica granatum*), rosa (*Rosa* spp.), sapoti (*Manilkara zapota*) e uva (*Vitis vinifera*) (MAPA, 2014b). No Estado de Sergipe a presença da mosca negra foi registrada não só no citros, como também em jaqueira, acerola e sapoti (MENDONÇA et al., 2015). No entanto, apesar de sua versatilidade e hábito alimentar polífago, a mosca negra é uma das principais pragas que afetam a produção de citros, sendo este considerado seu principal hospedeiro (LOPES et al., 2013).

As fases jovem e adulta da mosca-negra-dos-citros alimentam-se do floema das plantas. Os danos causados por essa alimentação podem ser diretos devido à sucção contínua dos nutrientes e ao consequente enfraquecimento das plantas. Por outro lado, esses insetos também causam danos indiretos, pois excretam *honeydew*, uma substância açucarada que serve de substrato para o crescimento de fungos *Capnodium* sp. sobre as folhas e os frutos da planta hospedeira (MORAES et al., 2014a). Tais fungos, também conhecidos como fumagina, podem atingir grandes quantidades e revestir as folhas, interceptando assim a radiação solar e bloqueando em até 70% a realização da fotossíntese (GOMES et al., 2019). Assim, a redução da fotossíntese interfere nas reservas de nitrogênio e carboidrato da planta, diminuindo o rendimento e a qualidade da produção vegetal. Gomes et al. (2019) mostraram que adultos e ninfas da mosca negra causaram alterações fisiológicas na assimilação fotossintética de CO₂, na condutância estomática, na transpiração e na fotoinibição do fotossistema II. Além das folhas, a fumagina reveste também os frutos, depreciando seu valor comercial (SILVA et al., 2011).

Assim, altas densidades de *A. woglumi* influenciam negativamente na produção da laranja (LIMA et al., 2017). A redução na produção dos frutos pode chegar a 90% quando as infestações excedem 5 a 7 ninfas/cm²/folha. Economicamente, as perdas em pomares cítricos podem variar entre 20% e 80% (SILVA et al., 2011).

2.2.4 Controle

O controle da mosca negra pode ser realizado através de práticas de controle biológico com o uso de inimigos naturais ou por meio de inseticidas sintéticos. Dentre os inimigos naturais utilizados no controle biológico da mosca-negra-dos-citros, destacam-se os predadores: crisopídeos, do gênero *Ceraeochrysa*, e joaninhas como *Azya luteipes* e *Delphastus pallidus*; e os parasitoides: *Encarsia opulenta*, *Encarsia clypealis* e *Cales noacki* (BARBOSA; PARANHOS, 2004). Já no controle por entomopatógenos, destacam-se os fungos: *Aschersonia aleyrodinis* e *Verticillium lecanii* (BARBOSA; PARANHOS, 2004). No Brasil, a ocorrência de controle biológico natural já foi verificada para os fungos citados (*A.*

aleyrodidis e *V. lecanii*), além dos predadores do gênero *Scymnus* sp., *Ceareochrysis* sp., e de parasitoides de duas diferentes famílias: Encyrtidae e Aphelinidae (GONÇALVES, 2013).

Apesar da existência de diversos inimigos naturais, atualmente o controle com inseticidas organossintéticos ainda é o mais utilizado para a mosca-negra-dos-citros. No Brasil, apenas seis inseticidas comerciais são registrados para o controle dessa praga, sendo que três deles contêm o ingrediente ativo imidacloprido (neonicotinoide) e os outros três contêm uma mistura de clorantraniliprole (antranilamida) e lambda-cialotrina (piretroide) (MAPA, 2020). Entretanto, os inseticidas compostos por imidacloprido são os mais utilizados pelos produtores em pomares cítricos (VIEIRA LIMA et al., 2017).

Um dos grandes problemas associados ao uso de inseticidas organossintéticos para o controle de *A. woglumi* está na dificuldade de alcance desses produtos sobre o inseto, uma vez que estes possuem o hábito de permanecer na face abaxial das folhas (BALDIN et al., 2019). Com isso, as aplicações de inseticidas tornam-se mais frequentes e indiscriminadas nos pomares, o que pode aumentar os riscos de surgimento de resistência da praga, contaminação do solo, da água e de organismos benéficos como inimigos naturais e polinizadores, assim como contaminação do homem (LOPES; ALBUQUERQUE, 2018; SANTOS et al., 2018). De fato, o uso de neonicotinoides tem sido relatado como uma das causas da mortalidade da abelha *Apis mellifera*, uma das principais polinizadoras dos citros (FAROOQUI, 2013; SANTOS et al., 2018; TOLEDO et al., 2013).

2.3 Manejo Integrado de Pragas

A fim de contornar os efeitos negativos do uso indiscriminado de inseticidas organossintéticos, um novo conceito de manejo foi estabelecido (ex. Manejo Integrado de Pragas - MIP), com princípios baseados na sustentabilidade (CARRANO-MOREIRA, 2014). O MIP visa a otimização do controle de pragas através da integração de múltiplos métodos de manejo, baseados em princípios ecológicos, ambientais, sociais e econômicos. Portanto, no MIP deve haver a integração entre diferentes táticas de forma adicional e complementar, sem que haja interferências negativas entre si. Nesse cenário, o uso de controle químico, por exemplo, não pode interferir no controle biológico (CARRANO-MOREIRA, 2014; PEDIGO; RICE, 2009).

Assim, considerando-se as dificuldades de manejo para a mosca negra, seja devido aos poucos produtos registrados ou aos seus efeitos indesejados, existe a necessidade de novas alternativas baseadas em princípios mais sustentáveis. Dentro desse cenário, o uso de bioinseticidas de origem microbiológica ou botânica pode representar alternativas potenciais.

2.3.1 Inseticidas microbiológicos

O controle biológico consiste na redução das populações de pragas a partir da ação de inimigos naturais, sendo estes predadores, parasitoides ou microrganismos entomopatogênicos. Esse método é considerado menos invasivo aos organismos não alvo, e sua utilização encontra-se em expansão na agricultura mundial (EMBRAPA, 2019). Dentre as linhas do controle biológico, está o controle microbiano baseado na atividade de agentes patogênicos (ex. fungos, vírus ou bactérias). Estes organismos provocam, naturalmente, doenças em insetos e podem também ser manipulados e comercializados na forma de produtos microbiológicos (CARRANO-MOREIRA, 2014).

As espinosinas constituem uma classe de inseticidas microbiológicos baseados em moléculas extraídas da fermentação de uma bactéria de solo, *Saccharopolyspora spinosa* (KIRST, 2010). No Brasil, existem dois tipos de espinosinas, o espinetoram e o espinosade. Ambos são registrados para o controle de diversas pragas com hábito alimentar desfolhador (*Diaphania hyalinata*, *Chrysodeixis includens*, *Spodoptera heridania*, *Helicoverpa armigera*),

sugador (*Diaphorina citri*, *Thrips palmi*, *Frankliniella occidentalis*) e broqueador de frutos (*Ecdytolopha aurantiana*, *Neoleucinodes elegantalis*, *Helicoverpa zea*) (MAPA, 2020).

As espinosinas exercem seu efeito inseticida através do sistema nervoso central dos insetos, atuando como moduladores alostéricos dos receptores nicotínicos da acetilcolina (KIRST, 2010). Diferentemente dos neonicotinoides que imitam a ação da acetilcolina, as espinosinas alteram o receptor nicotínico da acetilcolina (DRIPPS et al., 2008; MILLAR; DENHOLM, 2007; WATSON, 2001). O modo de ação das espinosinas é considerado único, e elas podem ser utilizadas em rotação com outros produtos (ORR et al., 2009). Outra vantagem das espinosinas é que estas são consideradas menos prejudiciais a artrópodes benéficos (ex. polinizadores, predadores, parasitoides) (MAYES et al., 2003; MILES; EELEN, 2006; WILLIAMS; VALLE; VIÑUELA, 2003), apresentam menor toxicidade a mamíferos e baixa persistência no ambiente, quando comparadas a outros inseticidas sintéticos (ROTHWELL et al., 2005). Alguns trabalhos demonstram que as espinosinas podem ser rapidamente degradadas, uma vez que possuem suscetibilidade à degradação pela luz, mostrando uma meia-vida de 2 a 7 dias (CLEVELAND et al., 2002; THOMPSON et al., 2002).

2.3.2 Inseticidas botânicos

Durante o processo evolutivo, as plantas e os insetos desenvolveram estratégias de defesa, ataque e contra-ataque (WAR et al., 2012). A seleção dessas características resultou em excelentes mecanismos de defesa para as plantas, os quais incluem barreiras físicas, morfológicas e químicas que podem afetar o inseto direta ou indiretamente e estar presentes de forma constitutiva ou ser induzidas após herbivoria (SÃO JOÃO; RAGA, 2016; WAR et al., 2012).

Um exemplo de mecanismo de defesa química são os OEs das plantas. Advindos do metabolismo secundário das plantas aromáticas, os OEs são caracterizados como uma mistura de vários compostos voláteis, incluindo, principalmente, álcoois e terpenos (ex. monoterpenos e sesquiterpenos) (ISMAN, 2006; KNAAK; FIUZA, 2010). Os OEs são produzidos e armazenados em diferentes órgãos e estruturas vegetais, como tricomas, dutos de resina e cavidades secretoras (FAHN, 2003). Diversos estudos têm demonstrado o potencial dos OEs de plantas para o controle de pragas, incluindo toxicidade, repelência, efeito antioviposição, antialimentar e de redução na reprodução (DE OLIVEIRA et al., 2017; EL-SABROUT; ZAHARAN; ABDELGALEIL, 2018; HERNÁNDEZ-LAMBRAÑO; CABALLERO-GALLARDO; OLIVERO-VERBEL, 2014; SILVA et al., 2018). O modo pelo qual os OEs agem sobre os insetos é ainda pouco estudado. Porém, alguns trabalhos destacam a ação desses compostos no sistema nervoso dos insetos, atuando mais especificamente nas sinapses, ao interferirem na enzima acetilcolinesterase (AChE) ou nos canais de cloro-GABA (ácido γ -amino butírico) (PRIESTLEY et al., 2003; RATTAN, 2010).

Uma vez que os OEs são formados por vários compostos, podem atuar de forma sinérgica ou aditiva sobre os insetos (BAKKALI et al., 2008; KNAAK; FIUZA, 2010), aumentando assim seu potencial bioativo. Outra vantagem dos OEs é o fato de serem formados por vários compostos, o que os torna menos propícios ao desenvolvimento da resistência pelas populações de pragas quando comparados aos inseticidas organossintéticos (BAKKALI et al., 2008; OLIVEIRA et al., 2017; SILVA et al., 2018). Adicionalmente, os bioinseticidas baseados em OEs são considerados menos prejudiciais ao meio ambiente e à saúde humana e, ainda, apresentam a vantagem de serem considerados mais seletivos aos organismos não alvo (ex. predadores, parasitoides e abelhas polinizadoras) (CASTILHOS; GRÜTZMACHER; COATS, 2018; DHIFI et al., 2016; PARREIRA et al., 2018; SANTOS et al., 2018). Diante de todas as suas características físicas, químicas e de seletividade, os OEs se constituem como uma fonte promissora para o controle de insetos fitófagos.

2.4 Nanoformulações

Apesar do potencial dos OEs no controle de pragas (OLIVEIRA et al., 2017, 2018; SILVA et al., 2018) e de sua maior seletividade aos organismos não alvo (SANTOS et al., 2018), algumas características físico-químicas inviabilizam sua utilização direta em campo (WERDIN GONZÁLEZ et al., 2014). Baixa solubilidade em água, alta volatilidade, instabilidade química na presença do ar, luz, umidade e altas temperaturas são fatores que podem levar à degradação dos componentes ativos contidos nos OEs (BILIA et al., 2014). No entanto, tais desvantagens podem ser solucionadas com a utilização da nanotecnologia, a qual surge como uma ferramenta promissora dentro da agricultura moderna (VILLAYERDE et al., 2018).

A nanotecnologia é uma abordagem inovadora no âmbito agrícola, embora já possua aplicações potenciais nas indústrias farmacêuticas, nas áreas da física, da química e das ciências biológicas (KHOT et al., 2012; RAGAEI; HASSAN SABRY, 2014). Essa ciência caracteriza-se pela síntese de materiais com tamanho de partícula em nanoescala (10 a 100 nm). A palavra nano, no campo científico matemático, significa a unidade métrica nanômetro, que equivale a uma bilionésima parte do metro (10^{-9}) (ZAKI et al., 2017). Os nanomateriais podem ser encontrados em diferentes formulações (ex. em suspensão, emulsão, géis, cápsulas e esferas) assim como em diferentes formatos (ex. tubos, esferas, chapas, hastes, fibras ou fios), o que permite aos materiais diferentes aplicações (KAH; HOFMANN, 2014).

As nanoformulações consistem em misturas isotópicas de óleo e água, estabilizadas por um sistema tensioativo em uma nano-fase aquosa (KAH; HOFMANN, 2014). Componentes de diferentes polaridades (ex. óleo e água) misturados na presença do tensioativo agregam-se de forma a possibilitar diferentes regiões de solubilização (FORMARIZ et al., 2010). Nesses tipos de sistemas, as substâncias ativas estão separadas do meio de dissolução por um revestimento (ex. membrana) que consiste numa interface que abriga gotículas da ordem de nanômetros (CARVALHO, 2009).

Para a preparação das nanoformulações, podem ser utilizados materiais como procetyl, polietilenoglicerol, tween e água (KREILGAARD, 2002). No caso dos tensioativos (exemplo procetyl), sua principal função é a redução da tensão interfacial, a qual deve ser próxima de zero (D'CRUZ; UCKUN, 2001). O método pelo qual a nanoformulação é preparada afeta suas propriedades físicas e químicas. O tamanho da partícula, por exemplo, é um dos principais aspectos a serem considerados, além da solubilidade e transparência da formulação (DIAS et al., 2014; WERDIN GONZÁLEZ et al., 2014).

Nanoformulações à base de OEs permitem a encapsulação das moléculas bioativas do óleo, conferindo características positivas para a sua utilização. Dentre essas, pode-se citar uma maior área superficial devido ao menor tamanho da partícula, o que pode também induzir sua atividade sistêmica (DA COSTA et al., 2014). Nesse sistema, ocorrem menores perdas por volatilização, maior solubilidade em água, além de maior estabilidade das moléculas, assim diminuindo os efeitos negativos da luz, temperatura e umidade (DA COSTA et al., 2014; DIAS et al., 2014; WERDIN GONZÁLEZ et al., 2014). Todas essas propriedades podem auxiliar também na concentração do produto a ser aplicado. De forma geral, pode haver uma redução das concentrações quando comparado com a concentração do óleo utilizado sem encapsulação em nanopartículas (MESCI-HAFTACI et al., 2014).

Alguns trabalhos têm demonstrado a eficácia de OEs em nanoformulações. Oliveira et al. (2017a), trabalhando com nanoformulações de *Lippia sidoides* e seu majoritário timol, mostraram que foram eficientes para o controle de populações de *Sitophilus zeamais*, reduzindo a sobrevivência e o consumo de grãos e mantendo altas mortalidades mesmo após sete meses de armazenamento. Para *Culex quinquefasciatus*, foi observado que a concentração do óleo de nim (*Azadirachta indica*), necessária para matar 50% da população, foi reduzida com a redução da partícula encapsulada na nanoformulação (ANJALI et al., 2012).

Além das características tóxicas para pragas agrícolas, nanoformulações também podem apresentar menor fitotoxicidade para as plantas, como observado por Suresh Kumar et al. (2013). Portanto, a nanotecnologia se constitui como uma ferramenta inovadora que pode permitir o eficiente uso dos OEs em condições de campo (VILLAYERDE et al., 2018).

2.5 *Lippia sidoides*

O potencial de uso do OE de *Lippia sidoides* tem sido investigado em vários estudos (SANTOS et al., 2017; DE LIMA et al., 2013). Essa planta pertence à família Verbenaceae, que possui mais de 150 gêneros e aproximadamente 2.300 espécies. O gênero *Lippia* encontra-se amplamente distribuído e é considerado o segundo maior dessa família, com cerca de 200 espécies descritas (CAVALCANTI et al., 2010).

No Brasil, *L. sidoides* é popularmente conhecida como “alecrim-pimenta”. Esta planta possui hábito de crescimento do tipo arbustivo e ciclo perene, sendo comumente encontrada no semiárido brasileiro (FIGUEIREDO et al., 2017). O OE de *L. sidoides* é rico em compostos monoterpênicos e sesquiterpênicos, com rendimentos variados (SOUZA, N.; OLIVEIRA, 2016). Essas variações estão intimamente relacionadas aos fatores bióticos (partes extraídas e cultivar) e/ou abióticos (chuvas e temperaturas) aos quais a planta está submetida (FIGUEIREDO et al., 2017).

A utilização de plantas de *L. sidoides* abrange diversas áreas, desde a culinária até a produção comercial de perfumes, cremes e loções, atribuindo-lhe um alto valor econômico (DA SILVA et al., 2013). Além da indústria alimentícia e de cosméticos, o OE é utilizado também na indústria farmacêutica, na qual diversos trabalhos demonstram o efeito antimicrobiano (DE MORAIS et al., 2016), antidepressivo (SANFORD RANGEL PARENTE et al., 2018), antisséptico e anti-inflamatório (RAJGOPAL et al., 2015).

Com relação ao efeito inseticida, alguns estudos relatam o potencial do OE de *L. sidoides* no controle de pragas de diferentes cultivos agrícolas. De acordo com Santos et al. (2017), o OE de *L. sidoides* e seu majoritário timol foram tóxicos para a espécie de cupim *Cryptotermes brevis* e demonstraram também efeitos subletais, modificando a velocidade de deslocamento e caminhar desses insetos. O OE de *L. sidoides* também pode inibir a oviposição do mosquito *Aedes aegypti* (DE LIMA et al., 2013). Efeitos de anti-alimentação e inibição da oviposição foram observados no vetor da doença de Chagas, *Rhodnius prolixus*, quando exposto ao OE de *L. sidoides* e seus monoterpenos (FIGUEIREDO et al., 2017).

Os principais constituintes do OE de *L. sidoides* incluem o timol e o carvacrol (LOBO et al., 2014). Porém, o timol é o mais comumente relatado como componente majoritário (VERAS et al., 2012). Diversos trabalhos mostram o efeito desse composto sobre pragas agrícolas, sendo ele muitas vezes mais tóxico do que o óleo da *Lippia* ou dos demais constituintes desse OE (SANTOS et al., 2017; OLIVEIRA et al., 2017).

Assim, este trabalho visa analisar a eficiência de bioinseticidas, considerando-se o produto comercial espinosina, assim como os inseticidas botânicos OE de *L. sidoides*, seu composto majoritário timol e suas nanoformulações, sobre a mosca-negra-dos-citros, a fim de contribuir para o manejo integrado dessa praga.

3. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ANJALI, C. et al. Neem oil (*Azadirachta indica*) nanoemulsion-a potent larvicidal agent against *Culex quinquefasciatus*. **Pest Management Science**, v. 68, n. 2, p. 158–163, 2012.
- ASHBY. Notes on diseases of cultivated crops observed in 1913-1914. **Bulletin of the Department of Agriculture, Jamaica**, v. 2, p. 299–327, 1915.
- BAKKALI, F. et al. Biological effects of essential oils – A review. **Food and Chemical Toxicology**, v. 46, n. 2, p. 446–475, 2008.
- BALDIN, E. L. L. et al. Insecticidal and inhibitory effects of dihydrobenzofuran neolignans on *Bemisia tabaci*. **Journal of Pest Science**, v. 92, n. 2, p. 861–869, 2019.
- BARBOSA, F. R.; PARANHOS, B. J. (2004). **Ameaça negra**. Disponível em: <<https://www.grupocultivar.com.br/artigos/ameaca-negra>>. Acesso em: 9 nov. 2018.
- BILIA, A. R. et al. Essential oils loaded in nanosystems: A developing strategy for a successful therapeutic approach. **Evidence-based Complementary and Alternative Medicine**, v. 4, p. 14, 2014.
- CARRANO-MOREIRA, A. F. **Manejo Integrado de Pragas Florestais**. 1. ed. Rio de Janeiro: Technical books, 2014.
- CARVALHO, F. C. **Desenvolvimento e caracterização de sistemas nanoestruturados para potencial administração nasal de zidovudina**. 2009. 176f. Dissertação de mestrado - Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, 2009.
- CASTILHOS, R. V.; GRÜTZMACHER, A. D.; COATS, J. R. Acute Toxicity and Sublethal Effects of Terpenoids and Essential Oils on the Predator *Chrysoperla externa* (Neuroptera: Chrysopidae). **Neotropical Entomology**, v. 47, n. 2, p. 311–317, 2018.
- CAVALCANTI, S. C. H. et al. Composition and acaricidal activity of *Lippia sidoides* essential oil against two-spotted spider mite (*Tetranychus urticae* Koch). **Bioresource Technology**, v. 101, n. 2, p. 829–832, 2010.
- CLEVELAND, C. B. et al. Environmental fate of spinosad. 1. Dissipation and degradation in aqueous systems. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 50, n. 11, p. 3244–3256, 2002.
- CORREIA, R. G. et al. Primeiro registro da ocorrência de mosca-negra-dos-citros , *Aleurocanthus woglumi* Ashby , 1915 (Hemiptera: Aleyrodidae) em Roraima. **Revista Agro@ambiente On-line**, v. 5, n. 3, p. 245–248, 2011.
- D’CRUZ, O. J.; UCKUN, F. M. Gel-microemulsions as vaginal spermicides and intravaginal drug delivery vehicles. **Contraception**, v. 64, n. 2, p. 113–123, 2001.
- DA COSTA, J. T. et al. Effects of different formulations of neem oil-based products on control *Zabrotes subfasciatus* (Boheman, 1833) (Coleoptera: Bruchidae) on beans. **Journal of Stored Products Research**, v. 56, p. 49–53, 2014.
- DA SILVA, T. F. et al. Does the essential oil of *Lippia sidoides* Cham. (pepper-rosmarin) affect its endophytic microbial community? **BMC Microbiology**, v. 13, n. 1, 2013.

DE LIMA, G. P. G. et al. Further insecticidal activities of essential oils from *Lippia sidoides* and *Croton* species against *Aedes aegypti* L. **Parasitology Research**, v. 112, n. 5, p. 1953–1958, 2013.

DE MORAIS, S. R. et al. Essential Oil Composition, Antimicrobial and Pharmacological Activities of *Lippia sidoides* Cham. (Verbenaceae) From Sao Goncalo do Abaete, Minas Gerais, Brazil. **Pharmacognosy magazine**, v. 12, n. 48, p. 262–270, 2016.

DE OLIVEIRA, B. M. S. et al. Essential Oil of *Aristolochia trilobata*: Synthesis, Routes of Exposure, Acute Toxicity, Binary Mixtures and Behavioral Effects on Leaf-Cutting Ants. **Molecules**, v. 22, n. 3, p. 335, fev. 2017.

DHIFI, W. et al. Essential Oils' Chemical Characterization and Investigation of Some Biological Activities: A Critical Review. **Medicines**, v. 3, n. 4, p. 25, 2016.

DIAS, D. DE O. et al. Optimization of Copaiba oil-based nanoemulsions obtained by different preparation methods. **Industrial Crops and Products**, v. 59, p. 154–162, 2014.

DRIPPS, J. E. et al. Spinetoram : How Artificial Intelligence Combined Natural Fermentation with Synthetic Chemistry to Produce a New Spinosyn Insecticide. **Plant Management Network**, n. 3, p. 3–8, 2008.

EL-SABROUT, A.; ZAHRAN, H. E. D.; ABDELGALEIL, S. Effects of essential oils on growth, feeding and food utilization of *Spodoptera littoralis* larvae. **Journal of Entomology**, v. 15, n. 1, p. 36–46, 2018.

EMBRAPA (2019). **Controle Biológico**. Disponível em: <<https://www.embrapa.br/tema-controle-biologico/sobre-o-tema>>. Acesso em: 15 dez. 2019.

EPPO (2014). **Aleurocanthus woglumi**. Disponível em: <<https://gd.eppo.int/taxon/ALECWO/distribution>>. Acesso em: 15 set. 2018.

FAHN, A. **Advances in Botanical Research**. 1. ed. Kidlington: Oxford University Press, 2003.

FAO (2017). **Faostat-crops**. Disponível em: <<http://www.fao.org/faostat/en/#data/QC>>. Acesso em: 1 set. 2019.

FAROOQUI, T. A potential link among biogenic amines-based pesticides, learning and memory, and colony collapse disorder: A unique hypothesis. **Neurochemistry International**, v. 62, n. 1, p. 122–136, 1 jan. 2013.

FIGUEIREDO, M. B. et al. Lethal and sublethal effects of essential oil of *Lippia sidoides* (Verbenaceae) and monoterpenes on chagas' disease vector *Rhodnius prolixus*. **Memorias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 112, n. 1, p. 63–69, 2017.

FORMARIZ, T. P. et al. Structure and viscoelastic behavior of pharmaceutical biocompatible anionic microemulsions containing the antitumoral drug compound doxorubicin. **Colloids and Surfaces B: Biointerfaces**, v. 77, n. 1, p. 47–53, 2010.

FUNDECITRUS (2018). **Mosca negra**. Disponível em: <<https://www.fundecitrus.com.br/doencas/mosca-negra>>. Acesso em: 9 set. 2018.

GOMES, A. M. S. DO V. et al. Physiological characteristics of citrus plants infested with

citrus blackfly. **Revista Brasileira de Entomologia**, v. 63, n. 2, p. 119–123, 2019.

GONÇALVES, M. DA S. **Flutuação populacional da mosca-negra-dos-citros *Aleurocanthus woglumi* Ashby 1915 (Hemiptera: Aleyrodidae) em um plantio de citros no município de Manaus – AM.** 2013. 69f. Dissertação de mestrado - Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia, 2013.

GULLAN, P. J.; CRANSTON, P. S. **Os insetos: um resumo de entomologia.** 3. ed. São Paulo: Roca, 2007.

HERNÁNDEZ-LAMBRAÑO, R.; CABALLERO-GALLARDO, K.; OLIVERO-VERBEL, J. Toxicity and antifeedant activity of essential oils from three aromatic plants grown in Colombia against *Euprosterna elaeasa* and *Acharya fusca* (Lepidoptera: Limacodidae). **Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine**, v. 4, n. 9, p. 695–700, 2014.

IBGE (2019). **Levantamento Sistemático da Produção Agrícola.** Disponível em: <<https://sidra.ibge.gov.br/tabela/1618#resultado>>. Acesso em: 28 dez. 2019.

ISMAN, M. B. Botanical Insecticides, Deterrents, and Repellents in Modern Agriculture and an Increasingly Regulated World. **Annual Review of Entomology**, v. 51, n. 1, p. 45–66, 2006.

JUNIOR, D. DE M. et al. (2005). **Citrus: principais informações e recomendações de cultivo.** Disponível em: <http://www.iac.sp.gov.br/imagem_informacoestecnologicas/43.pdf>. Acesso em: 20 dez. 2019.

KAH, M.; HOFMANN, T. Nanopesticide research: Current trends and future priorities. **Environment International**, v. 63, p. 224–235, 2014.

KHOT, L. R. et al. Applications of nanomaterials in agricultural production and crop protection: A review. **Crop Protection**, v. 35, p. 64–70, 2012.

KIRST, H. A. The spinosyn family of insecticides: Realizing the potential of natural products research. **Journal of Antibiotics**, v. 63, n. 3, p. 101–111, 2010.

KNAAK, N.; FIUZA, L. Potencial dos óleos essenciais de plantas no controle de insetos e microrganismos. **Neotropical Biology and Conservation**, v. 5, n. 2, p. 120–132, 2010.

KREILGAARD, M. Influence of microemulsions on cutaneous drug delivery. **Advanced Drug Delivery Reviews**, v. 54, n. SUPPL., 2002.

LE MOS, R. N. S. et al. Occurrence of *Aleurocanthus woglumi* Ashby (Hemiptera: Aleyrodidae) in the state of Maranhão, Brazil. **Neotropical Entomology**, v. 35, n. 8, p. 558–559, 2006.

LIMA, B. G. et al. Economic injury level of citrus black-fly in commercial “Pera-Rio” orange area. **Fruticultura Brasileira**, v. 39, n. 4, p. 1–7, 2017.

LOBO, P. L. D. et al. The efficacy of three formulations of *Lippia sidoides* Cham. essential oil in the reduction of salivary *Streptococcus mutans* in children with caries: A randomized, double-blind, controlled study. **Phytomedicine**, v. 21, n. 8–9, p. 1043–1047, 2014.

LOPES, C. V. A.; ALBUQUERQUE, G. S. C. DE. Agrotóxicos e seus impactos na saúde

humana e ambiental: uma revisão sistemática. **Saúde em Debate**, v. 42, n. 117, p. 518–534, 2018.

LOPES, E. B. et al. Occurrence of the citrus black fly (*Aleurocanthus woglumi*) in Paraíba. **Tecnologia e Ciência Agropecuária**, v. 4, n. 1, p. 19–22, 2010.

LOPES, G. SILVA et al. Preferência para oviposição e ciclo de vida de mosca-negra-dos-citros *Aleurocanthus woglumi* Ashby em espécies frutíferas. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 35, n. 3, p. 738–745, 2013.

LÓPEZ, S. N. et al. Primer registro de “la mosca negra de los cítricos” *Aleurocanthus woglumi* (Hemiptera: Aleyrodidae) en la Argentina. **Revista de la Sociedad Entomológica Argentina**, v. 24, n. 6, p. 373–374, 2011.

MAPA (2014). **Intrusão Normativa 42. Lista de Pragas Quarentenárias Presentes - (A2)**. Disponível em: <file:///C:/Users/emile/Downloads/Lista de pragas quarentenárias ausentes e presentes (2).pdf>. Acesso em: 12 jul. 2018a.

MAPA (2014). **Hospedeiros**. Disponível em: <file:///C:/Users/emile/Downloads/Lista de pragas quarentenárias ausentes e presentes (2).pdf>. Acesso em: 7 jun. 2019b.

MAPA (2020). **Agrofit**. Disponível em: <http://agrofit.agricultura.gov.br/agrofit_cons/principal_agrofit_cons>. Acesso em: 10 jan. 2020.

MAYES, M. A. et al. Spinosad Toxicity to Pollinators and Associated Risk. **Reviews of environmental contamination and toxicology**, v. 179, p. 37–71, 2003.

MENDONÇA, M. C. et al. Manejo Fitossanitário da Mosca-negra-dos-citros *Aleurocanthus woglumi* em Sergipe. **Embrapa Tabuleiros Costeiros**, v. 1, p. 8, 2015.

MESCI-HAFTACI, S. et al. Nanotechnology in agri-food production: an overview. **Asian Pacific Journal of Cancer Prevention**, v. 15, n. 17, p. 7317–7320, 2014.

MILES, M.; EELEN, H. The effects of spinosad to beneficial insects and mites and its use in IPM. **Communications in agricultural and applied biological sciences**, v. 71, n. 2 Pt B, p. 275–84, 2006.

MILLAR, N. S.; DENHOLM, I. Nicotinic acetylcholine receptors: Targets for commercially important insecticides. **Invertebrate Neuroscience**, v. 7, n. 1, p. 53–66, 2007.

MOLINA, R. DE O. et al. First report of citrus *Aleurocanthus woglumi* ashby (Hemiptera: Aleyrodidae) in the State of Paraná, Brazil. **Brazilian Archives of Biology and Technology**, v. 57, n. 4, p. 472–475, 2014.

MONTEIRO, B. S. et al. Ocorrência da mosca-negra-dos-citros (*Aleurocanthus woglumi*) em Pernambuco. **Revista Caatinga**, v. 25, n. 2, p. 173–176, 2012.

MORAES, B. C. et al. Impactos das mudanças climáticas na ecoclimatologia de *Aleurocanthus woglumi* ASHBY, 1903 (Hemiptera: Aleyrodidae) no estado do Pará. **Revista Brasileira de Meteorologia**, v. 29, n. 1, p. 77–84, 2014a.

MORAES, J. G. L. et al. Ocorrência de *Aleurocanthus woglumi*, Ashby, 1915 (Hemiptera: Aleyrodidae) no Estado do Rio de Janeiro. **Revista Agro@Mambiente on-Line**, v. 8, n. 3, p.

336–344, 2014b.

NEVES, E. M.; RODRIGUES, L. Defensivos agrícolas e custos na produção de citros. **Visão Agrícola**, v. 2, p. 127–131, 2004.

OLIVEIRA, M. R. V.; SILVA, C. C. A.; NAVIA, D. Mosca-negra-dos-citros *Aleurocanthus woglumi* : Alerta quarentenário. **Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento**, v. 1, p. 12, 2001.

OLIVEIRA, A. P. et al. Nanoformulation prototype of the essential oil of *Lippia sidoides* and thymol to population management of *Sitophilus zeamais* (Coleoptera: Curculionidae). **Industrial Crops and Products**, v. 107, p. 198–205, 2017.

OLIVEIRA, A. P. et al. Essential oil of *Lippia sidoides* and its major compound thymol: Toxicity and walking response of populations of *Sitophilus zeamais* (Coleoptera: Curculionidae). **Crop Protection**, v. 112, n. March, p. 33–38, 2018.

OLIVEIRA, C. M. et al. Crop losses and the economic impact of insect pests on Brazilian agriculture. **Crop Protection**, v. 56, p. 50–54, 2014.

ORR, N. et al. Novel mode of action of spinosad: Receptor binding studies demonstrating lack of interaction with known insecticidal target sites. **Pesticide Biochemistry and Physiology**, v. 95, n. 1, p. 1–5, 2009.

PARREIRA, D. S. et al. Quantifying the harmful potential of ten essential oils on immature *Trichogramma pretiosum* stages. **Chemosphere**, v. 199, p. 670–675, 2018.

PEDIGO, L. P.; RICE, M. E. **Entomology and pest management**. 6. ed. New Jersey: Pearson Prentice Hall, 2009.

PENA, M. R. et al. Ocorrência da mosca-negra-dos-citros, *Aleurocanthus woglumi* Ashby (Hemiptera:Aleyrodidae) no estado de São Paulo. **Revista de Agricultura**, v. 83, p. 61–65, 2008.

PENA, M. R. et al. Biologia da Mosca-Negra-dos-Citros , *Aleurocanthus woglumi* Ashby (Hemiptera: Aleyrodidae), em Três Plantas Hospedeiras. **Neotropical Entomology**, v. 38, n. 2, p. 254–261, 2009.

PRIESTLEY, C. M. et al. Thymol, a constituent of thyme essential oil, is a positive allosteric modulator of human GABA A receptors and a homo-oligomeric GABA receptor from *Drosophila melanogaster*. **British Journal of Pharmacology**, v. 140, n. 8, p. 1363–1372, 2003.

RAGA, A.; BASILLI, J. F. M.; SOARES, D. Z. Comportamento de oviposição da mosca-negra-dos-citros *Aleurocanthus woglumi* (Hemiptera: Aleyrodidae) em plantas cítricas. **Idesia**, v. 30, n. 2, p. 111–114, 2012.

RAGAEI, M.; HASSAN SABRY, A. Nanotechnology for Insect Pest Control. **International Journal of Science Technology**, v. 3, n. 2, p. 2278–3687, 2014.

RAJGOPAL, A. et al. Immunomodulatory effects of *Lippia sidoides* extract: Induction of IL-10 through cAMP and p38 MAPK-dependent mechanisms. **Journal of Medicinal Food**, v. 18, n. 3, p. 370–377, 2015.

RATTAN, R. S. Mechanism of action of insecticidal secondary metabolites of plant origin. **Crop Protection**, v. 29, n. 9, p. 913–920, 2010.

RONCHI-TELES et al. Observações sobre a ocorrência de mosca-negra (Hemiptera: Sternorrhyncha: Aleyrodidae) no estado do Amazonas. **Acta Amazonica**, v. 39, n. 1, p. 241–244, 2009.

ROSSATO, V. **Ocorrência de parasitóides de *Aleurocanthus woglumi* Ashby, 1903 (Hemiptera: Aleyrodidae) e seu parasitismo por *Cales noacki* Howard, 1907 (Hymenoptera: Aphelinidae) nos municípios de Belém, Capitão Poço e Itituaia no Estado do Pará.** 2007. 42f. Dissertação de mestrado - Universidade Federal Rural da Amazônia. 2007.

ROTHWELL, J. T. et al. Residues of spinosad in the tissues of sheep after aerosol treatment of blowfly myiasis. **Australian Veterinary Journal**, v. 83, n. 3, p. 154–156, 2005.

SANFORD, R. P. M. et al. Scientia Pharmaceutica Antidepressant-Like Effect of *Lippia sidoides* CHAM (Verbenaceae) Essential Oil and Its Major Compound Thymol in Mice. **Scientia Pharmaceutica**, v. 86, n. 27, p. 1–19, 2018.

SANTOS, A. (2019). **A importância da citricultura nacional.** Disponível em: <<https://www.cnabrazil.org.br/noticias/a-importancia-da-citricultura-nacional>>. Acesso em: 17 dez. 2019.

SANTOS, A. A. et al. Sub-lethal effects of essential oil of *Lippia sidoides* on drywood termite *Cryptotermes brevis* (Blattodea: Termitoidea). **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 145, n. April, p. 436–441, 2017.

SANTOS, A. C. C. et al. *Apis mellifera* (Insecta: Hymenoptera) in the target of neonicotinoids: A one-way ticket? Bioinsecticides can be an alternative. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 163, p. 28–36, 2018.

SÃO JOÃO, R. E.; RAGA, A. (2016). **Mecanismos de defesa das plantas contra o ataque de insetos sugadores.** Disponível em: <http://www.biologico.sp.gov.br/docs/dt/insetos_sugadores.pdf>. Acesso em: 10 dez. 2019.

SILVA, A. G. et al. Mosca-Negra-dos-Citros: Características Gerais, Bioecologia e Métodos de Controle dessa Importante Praga Quarentenária da Citricultura Brasileira. **EntomoBrasilis**, v. 4, n. 3, p. 85–91, 2011.

SILVA, I. M. et al. Alternative control of *Aedes aegypti* resistant to pyrethroids: lethal and sublethal effects of monoterpene bioinsecticides. **Pest Management Science**, v. 74, n. 4, p. 1001–1012, 1 abr. 2018.

SOUZA, C.; N., F. P.; OLIVEIRA, W. P. Complexos de inclusão binários, ternários e quaternários contendo óleo essencial de *Lippia sidoides*. **Química Nova**, v. 39, n. 8, p. 979–986, 2016.

SURESH KUMAR, R. S. et al. Distinctive effects of nano-sized permethrin in the environment. **Environmental Science and Pollution Research**, v. 20, n. 4, p. 2593–2602, 2013.

TEODORO, A. V. et al. Características e Medidas de Controle das Principais Pragas dos Citros, nos Estados da Bahia e Sergipe. **Embrapa tabuleiros costeiros**, v. 1, p. 1–8, 2014.

- THOMPSON, D. G. et al. Fate of spinosad in litter and soils of a white spruce plantation in central Ontario. **Pest Management Science**, v. 58, n. 4, p. 397–404, 2002.
- TOLEDO, V. DE A. A. DE et al. Polinização por abelhas em laranjeira (*Citrus sinensis* L. Osbeck). **Scientia Agraria Paranaensis**, v. 12, n. 4, p. 236–246, 26 dez. 2013.
- USDA (2017). **world markets and trade**. Disponível em: <<https://apps.fas.usda.gov/psdonline/circulars/citrus.pdf>>. Acesso em: 28 dez. 2019.
- VERAS, H. N. H. et al. Synergistic antibiotic activity of volatile compounds from the essential oil of *Lippia sidoides* and thymol. **Fitoterapia**, v. 83, n. 3, p. 508–512, 2012.
- VIEIRA LIMA, B. M. F. et al. Phytochemical characterization and bioactivity of ethanolic extracts on eggs of citrus blackfly. **Ciência Rural**, v. 47, n. 11, p. 1–6, 2017.
- VILLAYERDE, J. J. et al. Considerations of nano-QSAR/QSPR models for nanopesticide risk assessment within the European legislative framework. **Science of the Total Environment**, v. 634, p. 1530–1539, 2018.
- WAR, A. R. et al. Mechanisms of Plant Defense against Insect Herbivores. **Plant Signaling and Behavior**, v. 7, n. 10, p. 1306–1320, 2012.
- WATSON, G. B. Actions of insecticidal spinosyns on γ -aminobutyric acid responses from small-diameter cockroach neurons. **Pesticide Biochemistry and Physiology**, v. 71, n. 1, p. 20–28, 2001.
- WERDIN GONZÁLEZ, J. O. et al. Essential oils nanoformulations for stored-product pest control - Characterization and biological properties. **Chemosphere**, v. 100, p. 130–138, 2014.
- WILLIAMS, T.; VALLE, J.; VIÑUELA, E. Is the naturally derived insecticide Spinosad® compatible with insect natural enemies? **Biocontrol Science and Technology**, v. 13, n. 5, p. 459–475, 2003.
- ZAKI, A. M. et al. Sodium titanate -Bacillus as a new nanopesticide for cotton leaf-worm. **Journal of Pure and Applied Microbiology**, v. 11, n. 2, p. 725–732, 2017.

4. ARTIGO

EVITAR OU MORRER: EFICIÊNCIA DE NANOFORMULAÇÕES DO ÓLEO ESSENCIAL DE *Lippia sidoides* E TIMOL SOBRE A MOSCA-NEGRA-DOS-CITROS

Periódico submetido: *Journal of Pest Science*

RESUMO

A mosca negra - *Aleurocanthus woglumi* - tem ampliado sua distribuição para regiões tropicais e subtropicais, ameaçando a produtividade de culturas de citros, com consequente aumento do uso de inseticidas organossintéticos. No presente estudo, analisamos se os bioinseticidas de origem microbiológica (espinetoram) e botânica (óleo essencial de *Lippia sidoides*, monoterpene timol e suas nanoformulações) apresentam maior eficiência no controle de *A. woglumi* em comparação com o inseticida organossintético imidacloprido. Para isso, foram realizadas a caracterização química do óleo essencial de *L. sidoides* e a elaboração/caracterização de suas nanoformulações. Bioensaios foram desenvolvidos a fim de avaliar a toxicidade por contato e fumigação, o efeito ovicida, a repelência/deterrência e o efeito de antioviposição sobre *A. woglumi*, além da fitotoxicidade dos tratamentos. Nossos resultados mostraram que os inseticidas botânicos foram mais tóxicos a esse inseto sugador do que o inseticida convencional imidacloprido. As nanoformulações dos inseticidas botânicos contribuíram para evitar a chegada dos insetos na planta através dos efeitos de repelência/deterrência aos adultos e da redução do número de oviposições das fêmeas, assim como causaram toxicidade aos adultos e ovos, sem prejuízos (fitotoxicidade) à planta hospedeira. Dessa forma, as nanoformulações do óleo essencial de *L. sidoides* e do timol podem consistir em alternativas promissoras no futuro controle de *A. woglumi*, contribuindo para um manejo mais sustentável.

Palavras-chave: *Aleurocanthus woglumi*, bioinseticidas, manejo, repelência, toxicidade.

ABSTRACT

Avoid or die: Efficiency of nanoformulations of the essential oil of *Lippia sidoides* and thymol on the citrus blackfly.

The citrus blackfly - *Aleurocanthus woglumi* - has expanded its distribution to tropical and subtropical regions, threatening the productivity of citrus crops with consequent increase in the usage of organosynthetic insecticides. In this study we analyzed whether the bioinsecticides of microbiological (espinetoram) and botanical origin (*Lippia sidoides* essential oil), monoterpene thymol and their nanoformulations) presented greater efficiency in the control of *A. woglumi* in comparison to the organosynthetic insecticide imidacloprid. In order to do so, the chemical characterization of the *L. sidoides* essential oil and the elaboration/characterization of its nanoformulations were carried out. Bioassays were developed in order to evaluate the toxicity by contact and fumigation, the ovicidal effect, the repellency/deterrence and the anti-oviposition effect on *A. woglumi*, in addition to the phytotoxicity of the treatments. Our results showed that the botanical insecticides were more toxic to this sucking insect than the conventional imidacloprid insecticide. The nanoformulations of the botanical insecticides contributed to prevent the arrival of insects on the plant through the effects of repellency/deterrence to adults and reduction in the number of ovipositions of females, as well as causing toxicity to adults and eggs without damages (phytotoxicity) to the host plant. Consequently, the nanoformulations of the *L. sidoides* essential oil and thymol can be promising alternatives in the future control of *A. woglumi*, contributing to a more sustainable management.

Key-words: *Aleurocanthus woglumi*, bioinsecticides, management, repellency, toxicity.

4.1. Introdução

A expansão da agricultura tem ocasionado uma drástica mudança no uso da terra, levando à simplificação dos habitats naturais aliada ao intenso uso de pesticidas (MEEHAN et al., 2011; RUSCH et al., 2016; DONG et al., 2020). Tais mudanças têm resultado na perda da diversidade e no surgimento de surtos de insetos-praga resistentes a diversas classes de inseticidas (MEEHAN et al., 2011; HUSETH et al., 2018). Assim, a agricultura moderna deve se atentar ao desenvolvimento de métodos sustentáveis que integrem princípios ecológicos, sociais e ambientais (CASTILHOS et al., 2018; SANTOS et al., 2018).

O cultivo de citros é um dos mais importantes em todo o mundo, principalmente no Brasil, na China e nos Estados Unidos, que juntos produzem cerca de 45 milhões de toneladas anuais (FAO, 2017). No entanto, a produtividade dessas culturas é ameaçada por várias espécies de insetos herbívoros (ARSHAD et al., 2018; GEORGE et al., 2018). Dentre estes, a mosca-negra-dos-citros - *Aleurocanthus woglumi* Ashby 1905 (Hemiptera: Aleyrodidae) -, originária da Ásia, tem ampliado sua distribuição para regiões tropicais e subtropicais. Esse inseto-praga causa perdas econômicas a mais de 300 culturas em todo o mundo (EPPO, 2014), embora ataque preferencialmente plantas de citros (LOPES et al., 2013; GOMES et al., 2019). As perdas nas culturas de citros resultantes do ataque desse inseto chegam a até 80% da produção, ameaçando globalmente uma das mais importantes *commodities*, o suco da laranja (LIMA et al., 2017; GOMES et al., 2019).

Os danos causados por *A. woglumi* podem ser diretos (ex. devido ao hábito alimentar sugador) ou indiretos, através da excreção de substância açucarada, que favorece o surgimento de fungos (ex. *Capnodium* sp.) (MORAES et al., 2014). Devido à ameaça dessa praga ao crescimento das plantas e à produção de frutos (GOMES et al., 2019; MORAES et al., 2014), o uso de inseticidas organossintéticos (ex. neonicotinoides) tem se intensificado. Porém, tal controle muitas vezes torna-se ineficiente devido ao hábito de vida da mosca-negra-dos-citros, que coloniza a parte abaxial das folhas. Isso dificulta o alcance da pulverização, culminando assim em aumento na frequência de aplicação de inseticidas pelos produtores (BALDIN et al., 2015; FANELA et al., 2016). Por sua vez, o uso intenso e inadequado de pesticidas pode ocasionar uma série de prejuízos ecológicos, como contaminação da água, do solo e de organismos não alvo (LOPES; ALBUQUERQUE, 2018; SANTOS et al., 2018). O uso inadequado de neonicotinoides tem sido considerado um dos fatores responsáveis pelo declínio das populações de *Apis mellifera*, um dos principais polinizadores dos citros (FAROOQUI, 2013; TOLEDO et al., 2013; SANTOS et al., 2018).

Bioinseticidas de diversas origens vêm sendo intensivamente estudados (DE OLIVEIRA et al., 2017; MELO et al., 2018) como uma alternativa mais sustentável ao controle convencional com o uso de inseticidas organossintéticos. Compostos de origem microbiológica, como, por exemplo, as espinosinas - produzidas a partir de compostos químicos presentes na fermentação do actinomiceto *Saccharopolyspora spinosa* -, têm apresentado amplo uso comercial (KIRST 2010) e eficiente toxicidade sobre artrópodes (KIRST, 2010; SANTOS; PEREIRA, 2019). No entanto, ainda não há registro da sua ação sobre a mosca-negra-dos-citros (MAPA, 2020).

Produtos provenientes do metabolismo secundário das plantas (ex. óleos essenciais - OEs) também têm mostrado amplo potencial para controle de pragas, seja pela ação repelente, deterrente ou tóxica (KNAAK; FIUZA, 2010; SANTOS et al., 2017; OLIVEIRA et al., 2018). Os OEs de plantas possuem uma infinidade de componentes com ação inseticida, além de apresentarem características como baixa toxicidade a organismos não alvo, incluindo abelhas polinizadoras, insetos predadores e seres humanos (SMITH et al., 2005; REGNAULT-ROGER et al., 2012; SANTOS et al., 2018). Dentre a ampla variedade de OEs estudados, o OE de *Lippia sidoides* (Verbenaceae) (arbusto nativo do semiárido brasileiro) e seu composto

timol possuem bioatividade comprovada para diversas pragas (SANTOS et al., 2017; OLIVEIRA et al., 2018).

O uso de OEs em condições de campo poderia ser dificultado devido às suas características físico-químicas, como, por exemplo: alta volatilidade, insolubilidade em água, instabilidade química e baixa atividade residual (BAKKALI et al., 2008; KNAAK; FIUZA, 2010). Tais problemas podem ser eliminados através do desenvolvimento de nanoformulações (OLIVEIRA et al., 2017; ROCHA et al., 2018) que permitem inclusive o aumento da bioatividade dos OEs por expandir sua área superficial (partículas entre 10 a 100 nm), induzindo assim uma ação sistêmica com liberação controlada, além de permitir sua solubilidade em água e uma maior estabilidade à luz e à temperatura (DIAS et al., 2014; WERDIN GONZÁLEZ et al., 2014).

No presente estudo, avaliamos os efeitos de bioinseticidas de origem microbiológica (espinetoram) e botânica (óleo essencial de *Lippia sidoides*, monoterpene timol e suas nanoformulações) sobre o inseto sugador *A. woglumi*. Analisamos se tais compostos apresentam mais eficientes ações tóxicas por contato e fumigação, bem como maior efeito repelente/deterrente, ovicida e antioviposição sobre *A. woglumi*, comparado ao inseticida organossintético imidacloprido.

4.2. Material e Métodos

4.2.1. Local de estudo e manutenção dos insetos

Os experimentos foram realizados em laboratórios na Universidade Federal de Sergipe (UFS), São Cristóvão, Sergipe, Brasil (11°00'54''S, 37°12'21''O; 47 m de altitude).

Adultos de *A. woglumi* foram coletados em pomares de laranja *Citrus sinensis* sem aplicação de pesticidas, no município de Itaporanga d'Ajuda, Sergipe, Brasil (10°59'52''S, 37°18'39''O; 9 m de altitude). Os insetos foram mantidos em gaiolas teladas (50 x 50 x 70 cm) contendo mudas de *C. sinensis* em casa de vegetação da UFS.

4.2.2. Obtenção dos compostos e das nanoformulações

Os inseticidas comerciais utilizados foram o organossintético imidacloprido (controle positivo) 700 g i.a./Kg (Evidence® 700 WG; Bayer CropScience, São Paulo-SP, Brasil) e o microbiológico espinetoram 250 g i.a./kg (Delegate® 250 WG; Dow AgroSciences Industrial Ltda, São Paulo-SP, Brasil). Os inseticidas botânicos foram o óleo essencial das folhas de *L. sidoides* (OE *L. sidoides*) e seu constituinte majoritário timol, os quais foram adquiridos das empresas PRONAT (Ceará, Brasil) e Sigma-Aldrich® (Steinheim, Germany), respectivamente. A análise química do OE *L. sidoides* foi realizada conforme Oliveira et al. (2017).

Os inseticidas botânicos foram utilizados para o desenvolvimento de nanoformulações a 18% no laboratório de Desenvolvimento Farmacotécnico UFS. Para isso, 7,2 ml de Procetyl® AWS (tensoativo) e 1,8 ml de OE *L. sidoides* (NF OE *L. sidoides*) ou timol (NF timol) foram colocados em um recipiente e agitados por 30 min. em agitador magnético. Posteriormente, foi adicionado 1 ml de água destilada (gota a gota), e a solução foi agitada por mais 30 min.

4.2.3. Caracterização físico-química das nanoformulações

A caracterização física das nanoformulações foi realizada para determinar os tamanhos das micropartículas e os índices de polidispersividade (IPD). Esse índice indica quanto o tamanho das partículas se desviou em relação à média. O tamanho e o IPD foram determinados por espectrometria de correlação de fótons, após a diluição da amostra em água

ultrapurificada na relação de 1:500 (v:v), em Zetasizer Nanoseries Nono-Zs (Malvern Instruments, Worcestershire, RU). A condutividade elétrica dos sistemas isotrópicos (IONLAB CON-500) foi mensurada em escala até 2000 $\mu\Omega/\text{cm}$ com solução padrão de KCl de 1412 $\mu\Omega/\text{cm}$ à temperatura ambiente. Após cinco dias da obtenção das nanoformulações, a identificação de isotropia nos sistemas obtidos foi realizada por microscopia de luz polarizada, em que uma gota de cada amostra foi transferida para uma lâmina de vidro, coberta por uma lamínula. As análises foram realizadas com microscópio Olympus BX-51 equipado com câmera digital LC Color Evolution (PLA662) e software analisador de imagem PixelLINK.

Na caracterização química, foram determinados o potencial zeta e o pH das nanoformulações. O potencial zeta está relacionado com as forças de repulsão existentes entre as micropartículas num sistema emulsionado, no qual o aumento dessas forças confere maior estabilidade à nanoformulação, evitando assim a aglomeração dela. O pH foi mensurado através de pHmetro microprocessado de bancada, com sensor Pt100 em eletrodo em inox. Todas as caracterizações foram realizadas a 25 °C e em triplicata.

4.2.4. Bioensaios

Foram realizados bioensaios de toxicidade e tempo letal com adultos de *A. woglumi*, por duas vias de exposição, contato e fumigação. Posteriormente, foram realizados bioensaios de fitotoxicidade dos compostos às folhas de *C. sinensis* e avaliado o efeito ovicida. A não-preferência foi avaliada com bioensaios de repelência/deterrência de adultos e efeitos de antioviposição.

Os tratamentos consistiram nos inseticidas: i) comerciais: imidacloprido e espinetoram, ii) botânicos: OE *L. sidoides* e timol, e iii) nanoformulações: NF OE *L. sidoides* e NF timol. Os experimentos foram realizados em delineamento inteiramente casualizado, sob condições controladas em sala climatizada (27 ± 2 °C, umidade relativa de $70 \pm 10\%$) no Laboratório de Entomologia Agrícola da UFS.

Em todos os bioensaios, foi utilizado o solvente acetona (Panreac, UV-IR-HPLC-GPC PAI-ACS, 99,9%), exceto nos bioensaios de repelência/deterrência de adultos e efeitos de antioviposição, nos quais os compostos foram diluídos em água destilada e dimetilsulfóxido (DMSO a 2%) (Neon, Suzano, SP, Brasil). Testes preliminares demonstraram que a acetona, o Procetyl e o DMSO não afetam a fisiologia das folhas de *C. sinensis* e a sobrevivência e o comportamento de *A. woglumi*. Nos controles, foram utilizados apenas esses solventes.

4.2.4.1. Toxicidade por contato

Para obtenção das curvas de concentração-mortalidade de adultos de *A. woglumi* por contato, foram utilizadas quatro repetições por tratamento. Inicialmente, foram utilizadas três concentrações (1, 5 e 10 mg do composto por ml de solução) de cada tratamento. Posteriormente, concentrações intermediárias (de quatro a sete) foram utilizadas para traçar as curvas de concentração-mortalidade.

Cada unidade experimental consistiu em uma placa de Petri (6 x 1,5 cm) forrada no fundo por papel filtro (substrato para o contato) em que foi aplicado, com auxílio de uma pipeta, 200 μL de cada combinação tratamento x concentração. As placas foram mantidas por 5 min. em câmara de exaustão para permitir a evaporação do solvente. Posteriormente, foram colocados dez adultos de *A. woglumi*, e as placas foram cobertas com tecido tipo organza. A mortalidade dos indivíduos foi observada 12 h após a montagem do experimento, sendo considerados mortos os insetos que não apresentaram nenhuma movimentação.

4.2.4.2. Toxicidade por fumigação

Para obtenção das curvas de concentração-mortalidade de adultos de *A. woglumi* por fumigação, foram utilizadas quatro repetições por tratamento. Inicialmente, foram utilizadas três concentrações (1, 5 e 10 µl do composto por litro de ar) de cada tratamento. Posteriormente, concentrações intermediárias (de quatro a oito) foram utilizadas para traçar as curvas de concentração-mortalidade.

Cada unidade experimental consistiu em um pote de acrílico (22,08 cm³) contendo um pedaço de papel filtro (2 cm²) como dispersor. Os dispersores foram previamente tratados com 1 µl de cada combinação tratamento x concentração utilizando uma microseringa (Hamilton, Reno, NV, USA). Posteriormente, foram postos para secar por 5 min. em câmara de exaustão para permitir a evaporação do solvente. Após secos, os papéis foram afixados nas tampas dos potes e recobertos com organza para evitar o contato direto dos insetos. Foram liberados dez adultos de *A. woglumi* por repetição. A mortalidade dos indivíduos foi contabilizada após 12 h do início do experimento, sendo considerados mortos os insetos que não apresentaram nenhum movimento.

4.2.4.3. Sobrevivência e tempo letal

Bioensaios para determinação das curvas de sobrevivência e tempo letal para matar 50% da população (TL₅₀) foram realizados utilizando-se as concentrações letais (CL_{S95}) obtidas dos experimentos de contato e fumigação. Os procedimentos utilizados foram os mesmos descritos nos bioensaios anteriores (contato e fumigação). Entretanto, foram utilizadas 10 repetições por tratamento em cada via de exposição. As avaliações da mortalidade foram feitas ao longo do tempo, a cada 10 min., 30 min. e 1 h até completar 1, 2 e 4 h desde a aplicação dos tratamentos, respectivamente. Posteriormente, as observações foram feitas a cada 2 h até completar 12h.

4.2.4.4. Fitotoxicidade e efeito ovicida

Para avaliar a fitotoxicidade e o efeito ovicida, folhas de *C. sinensis* com ovos de *A. woglumi* foram imersas em soluções contendo os tratamentos. Foram utilizadas quatro repetições por tratamento. Inicialmente, 100 adultos de *A. woglumi* foram colocados em gaiolas (30 x 30 x 30 cm) contendo folhas de *C. sinensis* para oviposição. Os pecíolos das folhas foram colocados em frascos de vidro contendo água para manter a turgescência. Após 24 h, as folhas com os ovos foram retiradas das gaiolas e foram mantidos 25 ovos intactos/folha. Estas foram imersas por 10s em solução contendo a CL₉₅ dos tratamentos (obtidas do bioensaio de contato). Testes preliminares demonstraram que a acetona não afeta a fisiologia das folhas de *C. sinensis* nesse tempo de exposição. As folhas foram mantidas por 5 min. em câmara de exaustão para permitir a evaporação do solvente. Após secas, as folhas tratadas foram acondicionadas em incubadora B.O.D. (27 ± 2 °C; UR 70 ± 5%).

A fitotoxicidade foi avaliada 24, 48 e 72 h após a montagem do experimento. O tratamento foi considerado fitotóxico quando alterou visualmente a fisiologia das folhas de *C. sinensis*. O efeito ovicida foi avaliado após 72 h da montagem do experimento. A mortalidade dos ovos foi considerada quando estes estavam deformados e/ou com coloração diferente dos ovos do controle. As folhas e os ovos foram observados em microscópio estereoscópico (Nikon, SMZ1270, 1x) e fotografados com câmera digital acoplada (Nikon DSLR 3000). Para validar essa metodologia, testes preliminares foram feitos com a imersão de folhas de mudas de *C. sinensis* contendo ovos. As mudas tratadas foram mantidas em gaiolas, e a deformação dos ovos e a mudança na coloração foram correlacionadas com a eclosão dos ovos após 15 dias. Todos os ovos deformados e/ou com coloração diferente do controle não eclodiram.

4.2.4.5. Repelência/deterrência e antioviposição

Para avaliação da repelência/deterrência de adultos de *A. woglumi* e efeitos de antioviposição dos tratamentos, foi dada aos insetos a chance de escolha entre folhas tratadas com os compostos e não-tratadas (controle). Folhas de *C. sinenses* foram limpas e imersas nas soluções de cada tratamento em duas concentrações (0,01 mg/ml e 0,05 mg/ml) por 10s. Posteriormente, foram postas para secar por 5 min. em câmara de exaustão e acondicionadas em potes de vidro contendo água para manter a turgescência.

No interior de gaiolas (30 x 30 x 30 cm) teladas com organza, foram inseridas uma folha tratada e uma folha não-tratada (controle), com distância entre elas de 20 cm. No centro de cada gaiola, foram inseridos 50 adultos de *A. woglumi* (25 machos e 25 fêmeas). Foram utilizadas oito repetições, totalizando 400 insetos para cada tratamento e concentração.

O número de insetos adultos em cada folha foi contabilizado 24 h após a montagem do experimento. Após 48 h, as folhas foram retiradas das gaiolas, e o número de ovos em cada folha foi anotado.

4.2.5. Análises estatísticas

Os dados obtidos dos bioensaios de contato e fumigação foram corrigidos em relação à mortalidade do controle através da fórmula de Abbott (ABBOTT, 1925). Posteriormente, os dados foram submetidos à análise de Probit (FINEY, 1971) usando o procedimento PROC PROBIT do SAS (SAS Institute, 2008). Foram aceitas as curvas com probabilidade maior que 0,05 pelo teste χ^2 . Essas curvas de concentração-mortalidade permitiram obter as CL_{50} e CL_{95} com seus respectivos intervalos de confiança a 95% de probabilidade (IC_{95}). As CLs foram comparadas pelo critério de não sobreposição do IC_{95} com a origem do intervalo.

Análises de sobrevivência foram realizadas através de estimadores de Kaplan-Meier pelo teste de Log-Rank (Sigmaplot, versão 12.5). Por meio dessas análises, foi possível obter as curvas de sobrevivência e o tempo letal para causar mortalidade de 50% da população (TL_{50}) com seus respectivos intervalos de confiança a 95% de probabilidade (IC_{95}). As curvas foram comparadas pelo método de comparação múltipla de Holm-Sidak ao nível de significância de 0,05 (Sigmaplot, versão 12.5).

Os dados do percentual de ovos mortos (efeito ovicida) em cada tratamento foram submetidos à análise de variância seguida pelo teste de Tukey ($P < 0,05$), utilizando-se o procedimento PROC GLM, com Tukey (SAS Institute, 2008).

Os dados de repelência/deterrência foram submetidos à análise de variância para verificar os efeitos dos tratamentos, das doses e das interações tratamentos x doses, utilizando-se o procedimento PROC GLM (SAS Institute, 2008). As porcentagens de adultos nas folhas tratadas foram em seguida submetidas ao teste de Tukey ($P < 0,05$) para verificar as diferenças entre os tratamentos, utilizando-se o procedimento PROC GLM, com Tukey (SAS Institute, 2008). Para verificar diferenças entre o número de adultos na folha tratada e na não-tratada, dentro dos tratamentos, os dados foram submetidos ao teste de t pareado ($P < 0,05$), utilizando-se o procedimento PROC GLM, com t test (SAS Institute, 2008).

Os dados de antioviposição foram submetidos à análise de variância para verificar os efeitos dos tratamentos, das doses e das interações tratamentos x doses, utilizando-se o procedimento PROC GLM (SAS Institute, 2008). Foi calculado o índice de oviposição (IO) dos insetos entre as folhas tratadas e as não-tratadas, usando a equação: $IO = [(T - C) / (T + C)] * 100$, onde: T = número de ovos na folha tratada e C = número de ovos na folha não tratada (controle). Quando o IO tem valor negativo, indica efeito de antioviposição do tratamento, uma vez que os insetos preferem ovipositar na folha não-tratada. Quando o IO tem valor positivo, indica que o tratamento teve um efeito de estimulação da oviposição, uma vez que os insetos preferem ovipositar na folha tratada (BALDIN et al., 2015; PONNUSAMY et al., 2017). Foi utilizado o teste de qui-quadrado para verificar se os valores de IO para cada

tratamento são diferentes de zero, utilizando-se o procedimento PROC FREQ, com Chisq (SAS Institute, 2008). Para verificar diferenças entre o número de ovos na folha tratada e na não-tratada, dentro dos tratamentos, os dados foram submetidos ao teste de t pareado ($P < 0,05$), utilizando-se o procedimento PROC GLM, com t test (SAS Institute, 2008).

4.3. Resultados

4.3.1. Caracterização química do óleo essencial

Um total de nove compostos foram identificados e quantificados no OE *L. sidoides*. O timol foi o composto em maior concentração, representando 73,23% da composição total do óleo, seguido por ρ -cimeno (10,90%) e E-cariofileno (8,62%). A concentração dos demais compostos presentes no óleo foi inferior a 2% (Fig. 1).

4.3.2 Caracterização das nanoformulações

As imagens de microscopia de luz polarizada revelaram que as nanoformulações do OE *L. sidoides* e do timol apresentaram partículas esféricas, uniformes (IPD de 0,28 a 0,37) e com diâmetros médios de 58 e 78 nm. O potencial zeta e o pH foram -27 e -31 mV e 6,97 e 8,85 para NF OE *L. sidoides* e NF timol, respectivamente (Fig. 2).

4.3.3. Toxicidade por contato e fumigação

As concentrações letais dos compostos necessárias para matar 50% da população (CL_{50}) de adultos de *A. woglumi* por contato variaram de 0,892 a 55,1 mg ml⁻¹ (Tabela 1). O composto majoritário timol foi o mais tóxico, seguido pelo OE *L. sidoides*. Esses compostos isolados foram 44,5 e 13,8 vezes mais tóxicos que suas respectivas nanoformulações (Tabela 1). Os inseticidas botânicos (OE *L. sidoides* e timol) foram mais tóxicos que os inseticidas comerciais imidacloprido (11,37 mg ml⁻¹) e espinetoram (5,381 mg ml⁻¹). O timol foi 12,7 e 6,0 vezes mais tóxico que esses compostos, respectivamente (Tabela 1).

Um padrão semelhante foi observado para adultos de *A. woglumi* quando foram expostos aos compostos via fumigação, sendo os inseticidas botânicos mais tóxicos que os comerciais. As concentrações letais dos compostos necessárias para matar 50% da população (CL_{50}) de adultos de *A. woglumi* por fumigação variaram de 2,715 a 583,8 μ l L⁻¹ (Tabela 2). O OE de *L. sidoides* foi o mais tóxico, seguido pelo timol. Esses compostos isolados foram 19,9 e 1,8 vezes mais tóxicos que suas respectivas nanoformulações (Tabela 2). O OE de *L. sidoides* foi 215 e 5,9 vezes mais tóxico que imidacloprido e espinetoram, respectivamente (Tabela 2).

4.3.4. Sobrevivência e tempo letal

Todos os tratamentos reduziram significativamente a sobrevivência dos adultos de *A. woglumi* por contato (Teste de Log-Rank: $\chi^2 = 975,37$; g.l. = 6; $P < 0,001$) (Fig. 3A) e fumigação (Teste de Log-Rank: $\chi^2 = 630,95$; g.l. = 6; $P < 0,001$) (Fig. 3B) ao longo do tempo. Não houve diferença entre as curvas de sobrevivência de adultos de *A. woglumi* expostos por contato às nanoformulações do OE *L. sidoides* e do timol (Fig. 3A). O mesmo padrão foi observado quando os insetos foram expostos às nanoformulações e aos inseticidas comerciais imidacloprido e espinetoram via fumigação (Fig. 3B).

Adultos de *A. woglumi* mostraram rápida redução da sobrevivência quando expostos aos inseticidas botânicos por contato (OE *L. sidoides*: $TL_{50} = 0,29$ h; $IC_{95\%} = 0,23-0,34$ e timol: $TL_{50} = 0,25$ h; $IC_{95\%} = 0,14-0,35$) (Fig. 3A) e fumigação (OE *L. sidoides*: $TL_{50} = 0,67$

h; $IC_{95\%} = 0,59-0,76$ e timol: $TL_{50} = 1,01$ h; $IC_{95\%} = 0,86-1,17$) (Fig. 3B). Nesses tratamentos, todos os indivíduos morreram em menos de 3h (Fig. 1A-B).

4.3.5. Fitotoxicidade e efeito ovicida

O OE *L. sidoides* provocou toxicidade às folhas de *C. sinensis*, causando alterações de coloração e redução de sua turgidez após 24 h de exposição. Os demais tratamentos, incluindo a NF OE de *L. sidoides*, não alteraram as características das folhas (Fig. 4). Os inseticidas botânicos alteraram a coloração e causaram deformação de ovos de *A. woglumi* (Fig. 4).

Foram observadas diferenças significativas na sobrevivência de ovos ($F_{5,18} = 3,71$; $P = 0,018$) de *A. woglumi* expostos a CL_{95} (obtidas do bioensaio de contato) dos tratamentos. A NF timol reduziu a viabilidade dos ovos (efeito ovicida) em 77%, diferindo do controle (4%), enquanto os demais tratamentos não diferiram do controle (Fig. 5).

4.3.6. Repelência/deterrência e antioviposição

Foram observadas diferenças significativas no número de adultos de *A. woglumi* nas folhas de *C. sinensis* expostas aos diferentes tratamentos ($F_{5,84} = 8,22$; $P < 0,001$). No entanto, não foram verificadas diferenças entre as doses ($F_{1,84} = 0,13$; $P = 0,723$) e nem na interação entre tratamentos x doses ($F_{5,84} = 2,33$; $P = 0,05$). Os inseticidas botânicos e suas nanoformulações causaram repelência/deterrência em adultos de *A. woglumi*. Os insetos preferiram mais as folhas não tratadas àquelas tratadas com esses compostos (Fig. 6A). Por outro lado, o imidacloprido foi atrativo, enquanto o espinetoram não afetou a repelência/deterrência dos adultos de *A. woglumi* (Fig. 6A).

Foram observadas diferenças significativas no número de oviposições de *A. woglumi* nas folhas de *C. sinensis* expostas aos diferentes tratamentos ($F_{5,84} = 4,37$; $P = 0,001$). Porém, não foram verificadas diferenças entre as doses ($F_{1,84} = 0,17$; $P = 0,683$) e nem na interação entre tratamentos x doses ($F_{5,84} = 1,15$; $P = 0,341$). A NF OE *L. sidoides* (IO = -43,5), o timol (IO = -73,9) e a NF timol (IO = -53,4) reduziram a oviposição de *A. woglumi* (antioviposição) (Fig. 6B). As fêmeas colocaram cerca de 2,7; 3,5 e 2,6 vezes mais ovos nas folhas não-tratadas do que nas folhas tratadas por NF OE *L. sidoides*, timol e NF timol, respectivamente (Fig. 6B).

4.4. Discussão

A mosca negra *A. woglumi* tem ameaçado a produtividade das culturas de citros nas regiões tropicais, impulsionando assim a busca por alternativas de controle mais sustentáveis. Por ser um inseto sugador, que de forma geral possui hábito críptico e difícil manutenção em condições de laboratório, existe grande escassez de trabalhos sobre efeitos letais e subletais de pesticidas sobre tais organismos. Neste estudo, mostramos que os inseticidas botânicos OE *L. sidoides*, timol e suas nanoformulações possuem efeitos letais e subletais sobre adultos e ovos de *A. woglumi*. A toxicidade do OE *L. sidoides* e do timol foi superior às observadas para o inseticida organossintético imidacloprido, atualmente o mais utilizado para o controle dessa praga. Além disso, as nanoformulações dos inseticidas botânicos causaram repelência aos adultos e reduziram a oviposição das fêmeas, sem causar, contudo, fitotoxicidade à planta hospedeira.

O perfil químico do OE *L. sidoides* é representado por monoterpenos e sesquiterpenos, sendo o timol o composto majoritário. Essa caracterização química, que determina as propriedades e os modos de ação do óleo (FALL et al., 2017), foi semelhante às obtidas em outros estudos (PINTO et al., 2016; SANTOS et al., 2017). Porém, alguns trabalhos relataram perfis químicos distintos quantitativa e qualitativamente (MOTA et al., 2018). Tais variações podem ser atribuídas a fatores bióticos e abióticos aos quais as plantas foram submetidas

(ALMEIDA et al., 2018), tais como: variações de temperatura, luminosidade, sazonalidade, estágio de desenvolvimento, irrigação, horário de coleta e nutrição da planta (MORAIS, 2009; CASTELO et al., 2013; ALMEIDA et al., 2018).

As nanoformulações obtidas a partir desses inseticidas botânicos apresentaram características (ex. tamanho e formatos) compatíveis com o padrão de classificação para nanopartículas (ZAKI et al., 2017). Além disso, os valores de potencial zeta obtidos indicam que a força de repulsão entre as moléculas foi suficiente para determinar sua estabilidade (HONARY; ZAHIR, 2013; BENITA; LEVY, 1993; DIAS et al., 2014; FLOYD, 1999). Nesse caso, o procetyl pode ter atuado formando um potencial de superfície que produziu forças elétricas repulsivas entre as gotas de óleo, impedindo sua agregação e dispersão no meio (DIAS et al., 2014). Os valores negativos de potencial zeta podem estar relacionados à presença de ácidos ou outros componentes do óleo (LEANDRO et al., 2012). Já o índice de polidispersividade indicou haver uniformidade no tamanho das partículas (CHEONG et al., 2008; HOELLER et al., 2009; FLORES et al., 2011). Adicionalmente, os valores mais elevados de pH obtidos nas nanoformulações podem ser importantes para a manutenção de suas propriedades ao longo do tempo, evitando a dissociação futura das substâncias na interface óleo-água (SCHAFFAZICK et al., 2003).

As maiores toxicidades dos inseticidas botânicos, em relação aos demais tratamentos, podem estar relacionadas ao modo de ação do timol. Este monoterpene inibe a atividade da enzima acetilcolinesterase (AChE), como já demonstrado por Jukic et al. (2008) e Youssefi et al. (2019). A inibição da AChE faz com que o neurotransmissor acetilcolina (ACh) permaneça ativo na membrana pós-sináptica, transmitindo continuamente a mensagem entre neurônios, causando assim a morte do inseto por hiperexcitação (ARAÚJO et al., 2016). Adicionalmente, o timol pode apresentar outro mecanismo de ação neurotóxico, ao potencializar a ação do neurotransmissor GABA em um receptor GABA ionotrópico (PRIESTLEY et al., 2003). Uma característica benéfica do timol em relação a outros compostos com atividade inseticida é que ele não possui efeitos adversos conhecidos sobre animais e humanos, sendo considerado seguro pela Agência de Proteção Ambiental (NAGOOR MEERAN et al., 2017).

Aqui observamos que o timol e o OE *L. sidoides* se alternaram em relação à maior toxicidade por contato e fumigação, resultado semelhante ao de Santos et al. (2017). De fato, estudos mostram que os OEs e seus compostos majoritários possuem diversas vias de atuação, e suas toxicidades podem ser variáveis a depender da forma de exposição (ex. contato, ingestão ou fumigação) (SANTOS et al., 2017; SILVA et al., 2018). A maior toxicidade por fumigação observada para o OE *L. sidoides* em relação ao timol pode estar relacionada à volatilização e à interação entre os componentes em menor proporção, o que teria contribuído para potencializar sua ação (BAKKALI et al., 2008; DE OLIVEIRA et al., 2017). Essa ação fumigante pode ter importância aplicada para a desinfecção de mudas em ambientes controlados, permitindo assim o plantio de mudas saudáveis em campo e a consequente redução dos danos causados por *A. woglumi*. Outros estudos também demonstraram atividade fumigante dos óleos essenciais sobre diversas pragas agrícolas, incluindo espécies de hábito sugador (BALDIN et al., 2013, 2015). Nas duas vias de exposição estudadas, os menores tempos letais foram observados para o OE *L. sidoides* e o timol. A rápida ação dos inseticidas botânicos pode estar associada à sua afinidade com o tegumento do inseto, facilitando a penetração por contato, e às suas características químicas de baixo peso molecular (alta volatilidade), o que permite atingir o sítio-alvo rapidamente via fumigação (BAKKALI et al., 2008; NERIO et al., 2010). Essa rápida mortalidade (~ 3 horas) reforça a suposição de que esses compostos possuam atividade sobre o sistema nervoso de *A. woglumi*.

Por outro lado, as nanoformulações dos inseticidas botânicos apresentaram as maiores CL's por contato, além de uma ação mais lenta em relação aos seus respectivos compostos isolados. Vale ressaltar que esse resultado não implica redução da eficiência desses compostos, uma vez que as nanoformulações apresentam uma concentração bem mais reduzida (apenas 18%) do OE *L. sidoides* ou timol. O mais lento efeito das nanoformulações

corroborar as características observadas para sua estrutura, uma vez que a encapsulação aumenta o tempo necessário para liberação das moléculas para o meio, evitando assim perdas excessivas por volatilização (DIAS et al., 2014; WERDIN GONZÁLEZ et al., 2014). No entanto, mesmo se considerando as reduzidas concentrações nas nanoformulações, estas apresentaram toxicidade por fumigação muito superior e tempo letal próximo aos encontrados para o imidacloprido e o espinetoram.

A NF timol se destaca, ainda, em relação ao seu efeito ovicida, o qual não foi observado em nenhum dos demais tratamentos. Isso pode ter ocorrido devido à interação da nanoformulação com o córion que reveste os ovos, o qual é formado por poros (aeropilos) que permitem as trocas gasosas (RESH; CARDÉ, 2009). A nanoformulação pode ter encapsulado o córion, facilitando a penetração do timol através de seus poros, causando mortalidade dos embriões por impedimento da realização das trocas gasosas ou por toxicidade direta. Embora alguns estudos tenham relatado o efeito ovicida de OEs de plantas sobre a mosca-negra-dos-citros (VIEIRA et al., 2013; VIEIRA LIMA et al., 2017), o presente trabalho é pioneiro ao mostrar o efeito ovicida da NF timol.

Adicionalmente, os inseticidas botânicos e suas nanoformulações foram repelentes/deterrentes aos adultos de *A. woglumi* e, de forma geral, mostraram consequente redução do número de ovos/fêmea. Esses resultados podem decorrer da repelência direta dos voláteis dos inseticidas botânicos sobre *A. woglumi* ou de um possível efeito de confundimento e/ou mascaramento do odor da planta hospedeira (BALDIN et al., 2013, 2015). Independentemente do mecanismo envolvido, o efeito repelente/deterrente é de grande importância para o controle da mosca-negra-dos-citros, uma vez que sua localização/posturas na face abaxial das folhas dificulta o alcance das pulverizações e o consequente contato direto dos inseticidas sobre os indivíduos.

Concluindo, este estudo ressalta o potencial de utilização dos inseticidas botânicos de *L. sidoides* e, sobretudo, da viabilidade de suas nanoformulações para um manejo mais seguro de *A. woglumi*. A NF timol pode permitir o manejo desses insetos com contribuições em diferentes aspectos, seja por evitar o contato e as posturas nas culturas de citros (efeito repelente/deterrente) ou mesmo por causar efeito de toxicidade sobre adultos e ovos, sem prejuízos de fitotoxicidade para a planta hospedeira.

4.5. Agradecimentos

Os autores agradecem aos donos dos pomares (Sr. Givaldo, Sra. Helena, Sr. Ailton, Sra. Hédila) onde foram feitas as coletas dos insetos. A Universidade Federal de Sergipe pelo apoio financeiro e aos demais órgãos de fomento Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) – Brasil, Fundação de Apoio à Pesquisa e a Inovação Tecnológica (FAPITEC/SE) – Brasil, Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) - Brasil.

4.6. Referências

- Abbott WS (1925) The Value of the Dry Substitutes for Liquid Lime. *J Econ Entomol* 18:265–267
- Almeida MC, Pina ES, Hernandez C, et al (2018) Genetic diversity and chemical variability of *Lippia* spp. (Verbenaceae). *BMC Res Notes* 11:1–14. <https://doi.org/10.1186/s13104-018-3839-y>
- Araújo CRM, Santos VLA, Gonsalves AA (2016) Acetylcholinesterase - AChE: A pharmacological interesting enzyme. *Rev Virtual Quim* 8:1818–1834. <https://doi.org/10.21577/1984-6835.20160122>
- Arshad M, Ullah MI, Qureshi JA, Afzal M (2018) Physiological effects of citrus leafminer *Phyllocnistis citrella* (Lepidoptera: Gracillariidae) larval feeding on photosynthetic and gaseous exchange rates in citrus. *J Econ Entomol* 111:2264–2271. <https://doi.org/10.1093/jee/toy150>
- Bakkali F, Averbeck S, Averbeck D, Idaomar M (2008) Biological effects of essential oils – A review. *Food Chem Toxicol* 46:446–475. <https://doi.org/10.1016/J.FCT.2007.09.106>
- Baldin ELL, Aguiar GP, Fanela TLM, et al (2015) Bioactivity of *Pelargonium graveolens* essential oil and related monoterpenoids against sweet potato whitefly, *Bemisia tabaci* biotype B. *J Pest Sci* (2004) 88:191–199. <https://doi.org/10.1007/s10340-014-0580-8>
- Baldin ELL, Crotti AEM, Wakabayashi KAL, et al (2013) Plant-derived essential oils affecting settlement and oviposition of *Bemisia tabaci* (Genn.) biotype B on tomato. *J Pest Sci* (2004) 86:301–308. <https://doi.org/10.1007/s10340-012-0462-x>
- Benita, Levy (1993) Submicron Emulsions as Colloidal Drug Carriers for Intravenous Administration: Comprehensive Physicochemical Characterization. *J Pharm Sci* 82:1069. [https://doi.org/0022-3549/93/1100- f 069\\$02.50/0](https://doi.org/0022-3549/93/1100- f 069$02.50/0)
- Castelo AVM, Afonso SR, De Melo RR, et al (2013) Rendimento e composição química do óleo essencial de *Melaleuca alternifolia* Chell, na região do Distrito Federal. *Rev Bras Ciencias Agrar* 8:143–147. <https://doi.org/10.5039/agraria.v8i1a2397>
- Castilhos R V., Grützmacher AD, Coats JR (2018) Acute Toxicity and Sublethal Effects of Terpenoids and Essential Oils on the Predator *Chrysoperla externa* (Neuroptera: Chrysopidae). *Neotrop Entomol* 47:311–317. <https://doi.org/10.1007/s13744-017-0547-6>
- Cheong JN, Tan CP, Man YBC, Misran M (2008) α -Tocopherol nanodispersions: Preparation, characterization and stability evaluation. *J Food Eng* 89:204–209. <https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2008.04.018>
- de Oliveira BMS, Melo C, Alves P, et al (2017) Essential Oil of *Aristolochia trilobata*: Synthesis, Routes of Exposure, Acute Toxicity, Binary Mixtures and Behavioral Effects on Leaf-Cutting Ants. *Molecules* 22:335. <https://doi.org/10.3390/molecules22030335>
- Dias D de O, Colombo M, Kelmann RG, et al (2014) Optimization of Copaiba oil-based nanoemulsions obtained by different preparation methods. *Ind Crops Prod* 59:154–162. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2014.05.007>

Dong Z, Zhang Q, Li L, et al (2020) Landscape agricultural simplification correlates positively with the spatial distribution of a specialist yet negatively with a generalist pest. *Sci Rep* 10:1–9. <https://doi.org/10.1038/s41598-019-57077-4>

EPPO (2014) *Aleurocanthus woglumi*. In: Eur. Mediterr. PLANT Prot. Organ. <https://gd.eppo.int/taxon/ALECWO/distribution>. Accessed 15 Sep 2018

Fall R, Ngom S, Sall D, et al (2017) Chemical characterization of essential oil from the leaves of *Callistemon viminalis* (D.R.) and *Melaleuca leucadendron* (Linn.). *Asian Pac J Trop Biomed* 7:347–351. <https://doi.org/10.1016/j.apjtb.2017.01.004>

Fanela TLM, Baldin ELL, Pannuti LER, et al (2016) Lethal and Inhibitory Activities of Plant-Derived Essential Oils Against *Bemisia tabaci* Gennadius (Hemiptera: Aleyrodidae) Biotype B in Tomato. *Neotrop Entomol* 45:201–210. <https://doi.org/10.1007/s13744-015-0356-8>

FAO (2017) Faostat-crops. <http://www.fao.org/faostat/en/#data/QC>. Accessed 1 Sep 2019

Farooqui T (2013) A potential link among biogenic amines-based pesticides, learning and memory, and colony collapse disorder: A unique hypothesis. *Neurochem Int* 62:122–136. <https://doi.org/10.1016/J.NEUINT.2012.09.020>

Finey D. (1971) Probit Analysis, 3rd edn. Cambridge University, New York

Flores FC, Ribeiro RF, Ourique AF, et al (2011) Nanostructured systems containing an essential oil: Protection against volatilization. *Quim Nova* 34:968–972. <https://doi.org/10.1590/S0100-40422011000600010>

Floyd AG (1999) Top ten considerations in the development of parenteral emulsions. *Pharm Sci Technol Today* 2:134–143. [https://doi.org/10.1016/S1461-5347\(99\)00141-8](https://doi.org/10.1016/S1461-5347(99)00141-8)

George J, Ammar ED, Hall DG, et al (2018) Prolonged phloem ingestion by *Diaphorina citri* nymphs compared to adults is correlated with increased acquisition of citrus greening pathogen. *Sci Rep* 8:1–11. <https://doi.org/10.1038/s41598-018-28442-6>

Gomes AMS do V, Reis F de O, Lemos RNS de, et al (2019) Physiological characteristics of citrus plants infested with citrus blackfly. *Rev Bras Entomol* 63:119–123. <https://doi.org/10.1016/j.rbe.2019.02.002>

Hoeller S, Sperger A, Valenta C (2009) Lecithin based nanoemulsions: A comparative study of the influence of non-ionic surfactants and the cationic phytosphingosine on physicochemical behaviour and skin permeation. *Int J Pharm* 370:181–186. <https://doi.org/10.1016/j.ijpharm.2008.11.014>

Honary S, Zahir F (2013) Effect of zeta potential on the properties of nano-drug delivery systems - A review (Part 1). *Trop J Pharm Res* 12:255–264. <https://doi.org/10.4314/tjpr.v12i2.19>

Huseth AS, Chappell TM, Chitturi A, et al (2018) Insecticide Resistance Signals Negative Consequences of Widespread Neonicotinoid Use on Multiple Field Crops in the U.S. Cotton Belt. *Environ Sci Technol* 52:2314–2322. <https://doi.org/10.1021/acs.est.7b06015>

Jukic M, Politeo O, Maksimovic M, et al (2008) In Vitro Acetylcholinesterase Inhibitory Properties of Thymol, Carvacrol and their Derivatives Thymoquinone and Thymohydroquinone. *Phyther Res* 22:544–549. <https://doi.org/10.1002/ptr>

Kirst HA (2010) The spinosyn family of insecticides: Realizing the potential of natural products research. *J Antibiot (Tokyo)* 63:101–111. <https://doi.org/10.1038/ja.2010.5>

Knaak N, Fiuza L (2010) Potencial dos óleos essenciais de plantas no controle de insetos e microrganismos. *Neotrop Biol Conserv* 5:120–132. <https://doi.org/10.4013/nbc.2010.52.08>

Leandro LM, De Sousa Vargas F, Barbosa PCS, et al (2012) Chemistry and biological activities of terpenoids from copaiba (*Copaifera* spp.) oleoresins. *Molecules* 17:3866–3889. <https://doi.org/10.3390/molecules17043866>

Lima BG, Farias PRS, Ramos EMLS, et al (2017) Economic injury level of citrus black-fly in comercial “Pera-Rio” orange area. *Frutic Bras* 39:1–7. <https://doi.org/10.1590/0100-29452017>

Lopes CVA, Albuquerque GSC de (2018) Agrotóxicos e seus impactos na saúde humana e ambiental: uma revisão sistemática. *Saúde em Debate* 42:518–534. <https://doi.org/10.1590/0103-1104201811714>

Lopes G silva, Nonata RLS, Ribamar JAG, et al (2013) Preferência para oviposição e ciclo de vida de mosca-negra-dos-citros *Aleurocanthus woglumi* Ashby em espécies frutíferas. *Rev Bras Frutic* 35:738–745. <https://doi.org/10.1590/S0100-29452013000300010>

MAPA (2020) Agrofit. http://agrofit.agricultura.gov.br/agrofit_cons/principal_agrofit_cons. Accessed 10 Jan 2020

Meehan TD, Werling BP, Landis DA, Gratton C (2011) Agricultural landscape simplification and insecticide use in the Midwestern United States. *Proc Natl Acad Sci U S A* 108:11500–11505. <https://doi.org/10.1073/pnas.1100751108>

Melo CR, Picanço MC, Santos AA, et al (2018) Toxicity of essential oils of *Lippia gracilis* chemotypes and their major compounds on *Diaphania hyalinata* and non-target species. *Crop Prot* 104:47–51. <https://doi.org/10.1016/J.CROPRO.2017.10.013>

Moraes BC, Souza EB, Ribeiro JBMR, et al (2014) Impactos das mudanças climáticas na ecoclimatologia de *Aleurocanthus woglumi* ASHBY, 1903 (Hemiptera: Aleyrodidae) no estado do Pará. *Rev Bras Meteorol* 29:77–84

Morais LAS De (2009) Influência Dos Fatores Abióticos Na Composição Química Dos Óleos Essenciais. *Hortic Bras* 27:4050–4063

Mota APP, Dantas JCP, Frota CC (2018) Antimicrobial activity of essential oils from *Lippia alba*, *Lippia sidoides*, *Cymbopogon citrates*, *Plectranthus amboinicus*, and *Cinnamomum zeylanicum* against *Mycobacterium tuberculosis*. *Cienc Rural* 48:. <https://doi.org/10.1590/0103-8478cr20170697>

Nagoor Meeran MF, Javed H, Tae H Al, et al (2017) Pharmacological properties and molecular mechanisms of thymol: Prospects for its therapeutic potential and pharmaceutical development. *Front Pharmacol* 8:1–34. <https://doi.org/10.3389/fphar.2017.00380>

Nerio LS, Olivero-Verbel J, Stashenko E (2010) Repellent activity of essential oils: A review. *Bioresour Technol* 101:372–378. <https://doi.org/10.1016/J.BIORTECH.2009.07.048>

Oliveira AP, Santana AS, Santana EDR, et al (2017) Nanoformulation prototype of the essential oil of *Lippia sidoides* and thymol to population management of *Sitophilus zeamais* (Coleoptera: Curculionidae). *Ind Crops Prod* 107:198–205. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2017.05.046>

Oliveira AP, Santos AA, Santana AS, et al (2018) Essential oil of *Lippia sidoides* and its major compound thymol: Toxicity and walking response of populations of *Sitophilus zeamais* (Coleoptera: Curculionidae). *Crop Prot* 112:33–38. <https://doi.org/10.1016/j.cropro.2018.05.011>

Parreira DS, Alcántara-de la Cruz R, Leite GLD, et al (2018) Quantifying the harmful potential of ten essential oils on immature *Trichogramma pretiosum* stages. *Chemosphere* 199:670–675. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2018.02.083>

Pinto N de OF, Rodrigues THS, Pereira R de CA, et al (2016) Production and physico-chemical characterization of nanocapsules of the essential oil from *Lippia sidoides* Cham. *Ind Crops Prod* 86:279–288. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2016.04.013>

Ponnusamy L, Xu N, Böröczky K, et al (2017) Oviposition Responses of the Mosquitoes *Aedes Aegypti* and *Aedes Albopictus* to Experimental Plant Infusions in Laboratory Bioassays. *J Chem Ecol* 176:139–148. <https://doi.org/10.1016/j.physbeh.2017.03.040>

Priestley CM, Williamson EM, Wafford KA, Sattelle DB (2003) Thymol, a constituent of thyme essential oil, is a positive allosteric modulator of human GABA A receptors and a homo-oligomeric GABA receptor from *Drosophila melanogaster*. *Br J Pharmacol* 140:1363–1372. <https://doi.org/10.1038/sj.bjp.0705542>

Regnault-Roger C, Vincent C, Arnason JT (2012) Essential Oils in Insect Control: Low-Risk Products in a High-Stakes World. *Annu Rev Entomol* 57:405–424. <https://doi.org/10.1146/annurev-ento-120710-100554>

Resh VH, Cardé RT (2009) *Encyclopedia of Insects*, 2nd edn. Academic Press, California

Rocha AG, Oliveira BMS, Melo CR, et al (2018) Lethal Effect and Behavioral Responses of Leaf-Cutting Ants to Essential Oil of *Pogostemon cablin* (Lamiaceae) and Its Nanoformulation. *Neotrop Entomol* 47:769–779. <https://doi.org/10.1007/s13744-018-0615-6>

Rusch A, Chaplin-Kramer R, Gardiner MM, et al (2016) Agricultural landscape simplification reduces natural pest control: A quantitative synthesis. *Agric Ecosyst Environ* 221:198–204. <https://doi.org/10.1016/j.agee.2016.01.039>

SAS Institute (2008) *SAS/STAT user's guide*, version 8.1. Carry: SAS Institute 890

Santos AA, de Oliveira BMS, Melo CR, et al (2017) Sub-lethal effects of essential oil of *Lippia sidoides* on drywood termite *Cryptotermes brevis* (Blattodea: Termitoidea). *Ecotoxicol Environ Saf* 145:436–441. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2017.07.057>

Santos ACC, Cristaldo PF, Araújo APA, et al (2018) *Apis mellifera* (Insecta: Hymenoptera) in the target of neonicotinoids: A one-way ticket? Bioinsecticides can be an alternative. *Ecotoxicol Environ Saf* 163:28–36. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2018.07.048>

Santos VSV, Pereira BB (2019) Properties, toxicity and current applications of the biolarvicide spinosad. *J Toxicol Environ Heal - Part B Crit Rev* 00:1–14. <https://doi.org/10.1080/10937404.2019.1689878>

Schaffazick SR, Guterres SS, De Lucca Freitas L, Pohlmann AR (2003) Caracterização e estabilidade físico-química de sistemas poliméricos nanoparticulados para administração de fármacos. *Quim Nova* 26:726–737. <https://doi.org/10.1590/s0100-40422003000500017>

Silva IM, Martins GF, Melo CR, et al (2018) Alternative control of *Aedes aegypti* resistant to pyrethroids: lethal and sublethal effects of monoterpene bioinsecticides. *Pest Manag Sci* 74:1001–1012. <https://doi.org/10.1002/ps.4801>

Smith RL, Cohen SM, Doull J, et al (2005) A procedure for the safety evaluation of natural flavor complexes used as ingredients in food: Essential oils. *Food Chem Toxicol* 43:345–363. <https://doi.org/10.1016/j.fct.2004.11.007>

Toledo V de AA de, Halak AL, Chambó ED, et al (2013) Polinização por abelhas em laranja (*Citrus sinensis* L. Osbeck). *Sci Agrar Parana* 12:236–246. <https://doi.org/10.1818/sap.v12i4.3974>

Vieira DL, Souza GMM de, Oliveira R de, et al (2013) Aplicação de Óleos comerciais no controle ovicida de *Aleurocanthus woglumi* Asbhy. *Biosci J* 29:1126–1129

Vieira Lima BMF, de Oliveira RA, dos Santos EA, et al (2017) Phytochemical characterization and bioactivity of ethanolic extracts on eggs of citrus blackfly. *Ciência Rural* 47:1–6. <https://doi.org/10.1590/0103-8478cr20170092>

Werdin González JO, Gutiérrez MM, Ferrero AA, Fernández Band B (2014) Essential oils nanoformulations for stored-product pest control - Characterization and biological properties. *Chemosphere* 100:130–138. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2013.11.056>

Youssefi MR, Tabari MA, Esfandiari A, et al (2019) Efficacy of Two Monoterpenoids, Carvacrol and Thymol, and Their Combinations against Eggs and Larvae of the West Nile Vector *Culex pipiens*. *Molecules* 24:. <https://doi.org/10.3390/molecules24101867>

Zaki AM, Zaki AH, Farghali AA, Abdel-Rahim EF (2017) Sodium titanate -*Bacillus* as a new nanopesticide for cotton leaf-worm. *J Pure Appl Microbiol* 11:725–732. <https://doi.org/10.22207/JPAM.11.2.11>

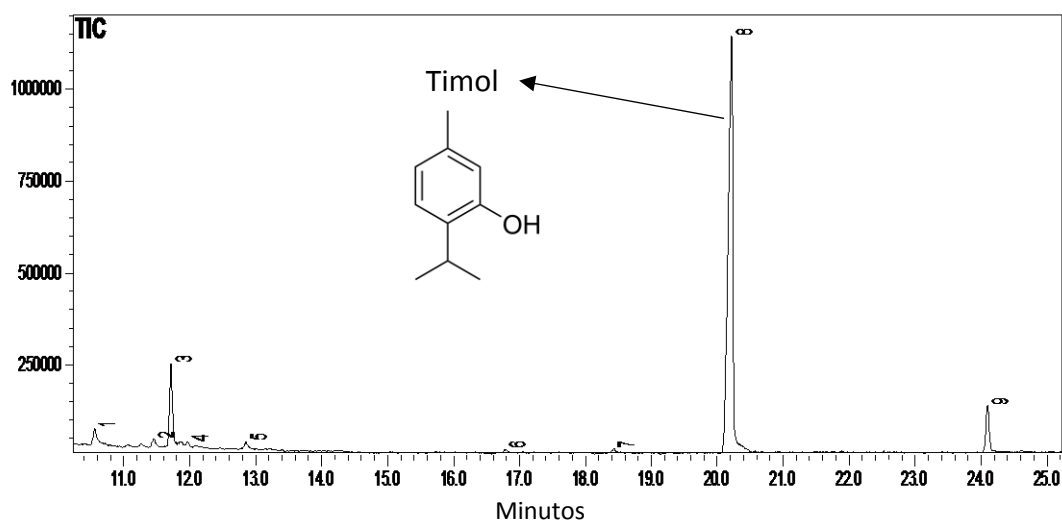


Figura 1. Cromatograma do óleo essencial do *Lippia sidoides* analisado por cromatografia gasosa acoplada a um detector por ionização de chama (CG-FID).

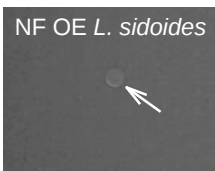
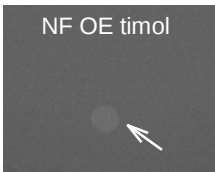
Imagem (aumento 20.000 x)	Tamanho da partícula (nm)	Potencial zeta (mV)	Índice de polidispersão	pH
 NF OE <i>L. sidoides</i>	58,0	-27,0	0,37	6,97
 NF OE timol	78,0	-31,0	0,28	8,85

Figura 2. Imagem obtida por microscopia de luz polarizada e propriedades físicas e químicas das nanoformulações contendo OE de *Lippia sidoides* (NF OE *L. sidoides*) e timol (NF timol). As setas indicam as partículas contendo os compostos.

Tabela 1. Toxicidade por contato dos tratamentos imidacloprido, espinetoram, óleo essencial de *Lippia sidoides* (OE *L. sidoides*), nanoformulação do óleo essencial de *L. sidoides* (NF OE *L. sidoides*), timol e nanoformulação do timol (NF timol) sobre adultos de *Aleurocanthus woglumi* após 12 horas de exposição.

Tratamento	N^a	CL ₅₀ (IC 95%) (mg ml ⁻¹)	CL ₉₅ (IC 95%) (mg ml ⁻¹)	β^b	χ^2	P
Imidacloprido	275	11,37 (1,959-17,31)	48,83 (28,44-1398)	2,59 ($\pm 0,62$)	7,77	0,08
Espinetoram	205	5,381 (4,053-6,686)	45,10 (29,99-88,60)	1,78 ($\pm 0,24$)	4,35	0,50
OE <i>L. sidoides</i>	437	3,996 (3,790-4,202)	5,674 (5,261-6,343)	10,80 ($\pm 1,25$)	0,43	0,80
NF OE <i>L. sidoides</i>	200	55,11 (47,58-61,58)	128,9 (105,2-189,6)	4,45 ($\pm 0,76$)	1,68	0,44
Timol	250	0,8922 (0,6079-1,1358)	3,426 (2,706-4,962)	2,81 ($\pm 0,43$)	2,15	0,80
NF timol	201	39,68 (32,85-46,37)	138,7 (108,2-204,6)	3,02 ($\pm 0,39$)	5,38	0,15

^a Número de insetos. ^b β = inclinação da curva $\pm$ erro padrão.

Tabela 2. Toxicidade por fumigação dos tratamentos imidacloprido, espinetoram, óleo essencial de *Lippia sidoides* (OE *L. sidoides*), nanoformulação do óleo essencial de *L. sidoides* (NF OE *L. sidoides*), timol e nanoformulação do timol (NF timol) sobre adultos de *Aleurocanthus woglumi* após 12 horas de exposição.

Tratamento	N^a	CL ₅₀ (IC 95%) ($\mu\text{l L}^{-1}$)	CL ₉₅ (IC 95%) ($\mu\text{l L}^{-1}$)	β^b	χ^2	P
Imidacloprido	247	583,8 (504,3-654,7)	1717 (1381-2471)	3,51 ($\pm 0,49$)	2,23	0,70
Espinetoram	193	16,04 (15,07-16,89)	24,11 (22,08-27,88)	9,28 ($\pm 1,30$)	3,66	0,10
OE <i>L. sidoides</i>	358	2,715 (2,490-2,902)	4,656 (4,252-5,325)	7,02 ($\pm 0,84$)	4,97	0,46
NF OE <i>L. sidoides</i>	280	54,04 (43,41-61,39)	124,4 (108,8-157,2)	4,54 ($\pm 0,74$)	4,73	0,62
Timol	200	5,033 (4,295-5,771)	14,28 (11,58-19,60)	3,63 ($\pm 0,44$)	0,39	0,97
NF timol	205	9,074 (3,165-15,20)	94,84 (63,93-192,1)	1,61 ($\pm 0,32$)	1,51	0,65

^a Número de insetos. ^b β = inclinação da curva $\pm$ erro padrão.

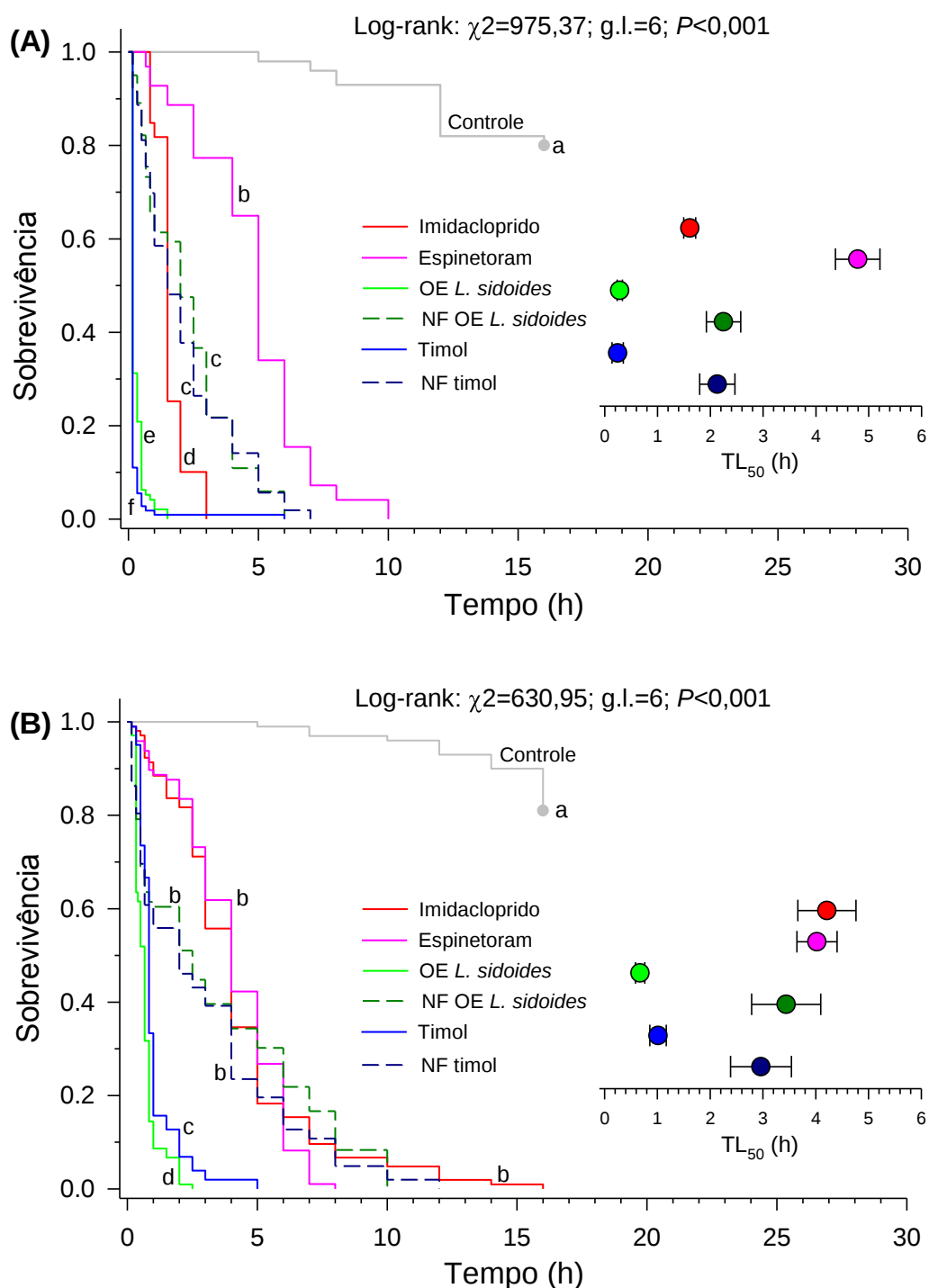


Figura 3. Curvas de sobrevivência e tempo letal (TL₅₀) (média $\pm$ IC95%) de adultos de *Aleurocanthus woglumi* expostos nas CLS₉₅ dos tratamentos imidacloprido, espinetoram, óleo essencial de *Lippia sidoides* (OE *L. sidoides*), nanoformulação do óleo essencial de *L. sidoides* (NF OE *L. sidoides*), timol e nanoformulação do timol (NF timol), por contato (A) e fumigação (B). Curvas de sobrevivência seguidas pela mesma letra não diferem significativamente pelo método de Holm-Sidak (teste de Log-rank, $\alpha = 0,05$).

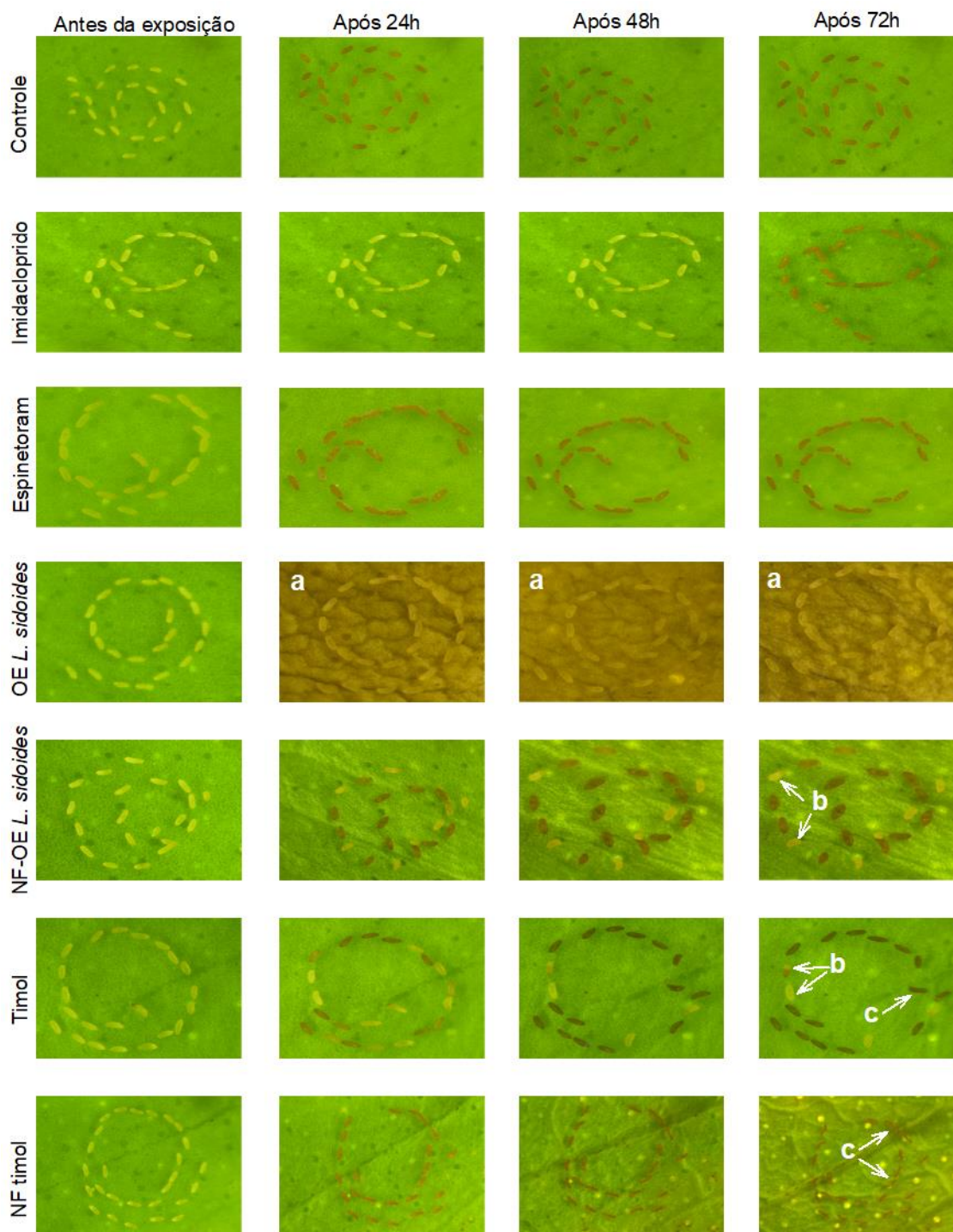


Figura 4. Fitotoxicidade às folhas de *Citrus sinensis* e mortalidade de ovos de *Aleurocanthus woglumi* expostos as CLS₉₅ dos tratamentos imidacloprido, espineteram, óleo essencial de *Lippia sidoides* (OE *L. sidoides*), nanoformulação do óleo essencial de *L. sidoides* (NF OE *L. sidoides*), timol e nanoformulação do timol (NF timol), após 24, 48 e 72 horas de exposição. a = fitotoxicidade nas folhas, b = ovos com coloração diferente do controle e, c = ovos deformados.

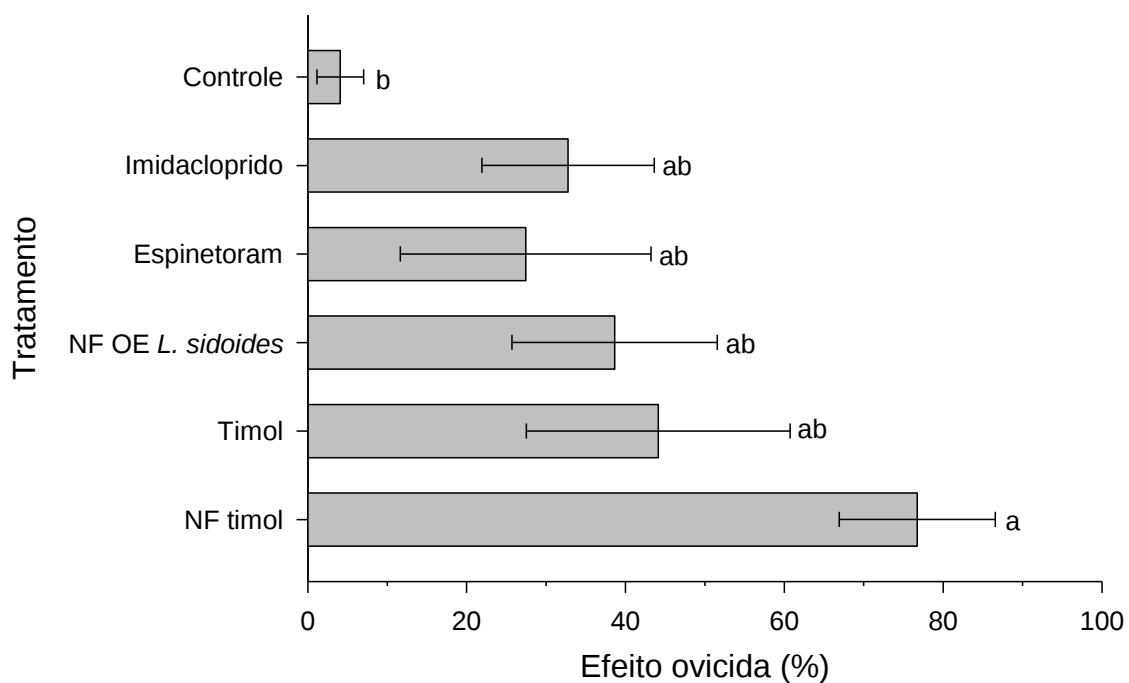


Figura 5. Efeito ovicida (%) (média $\pm$ EP) das CL_{S95} dos tratamentos imidacloprido, espinetoram, nanoformulação do óleo essencial de *L. sidoides* (NF OE *L. sidoides*), timol e nanoformulação do timol (NF timol) em ovos de *Aleurocanthus woglumi*, após 72 horas de exposição. Não foi possível verificar o efeito ovicida do óleo essencial de *Lippia sidoides* uma vez que este causou fitotoxicidade as folhas de *Citrus sinensis*. Médias seguidas pela mesma letra não diferem pelo teste de Tukey ($P < 0,05$).

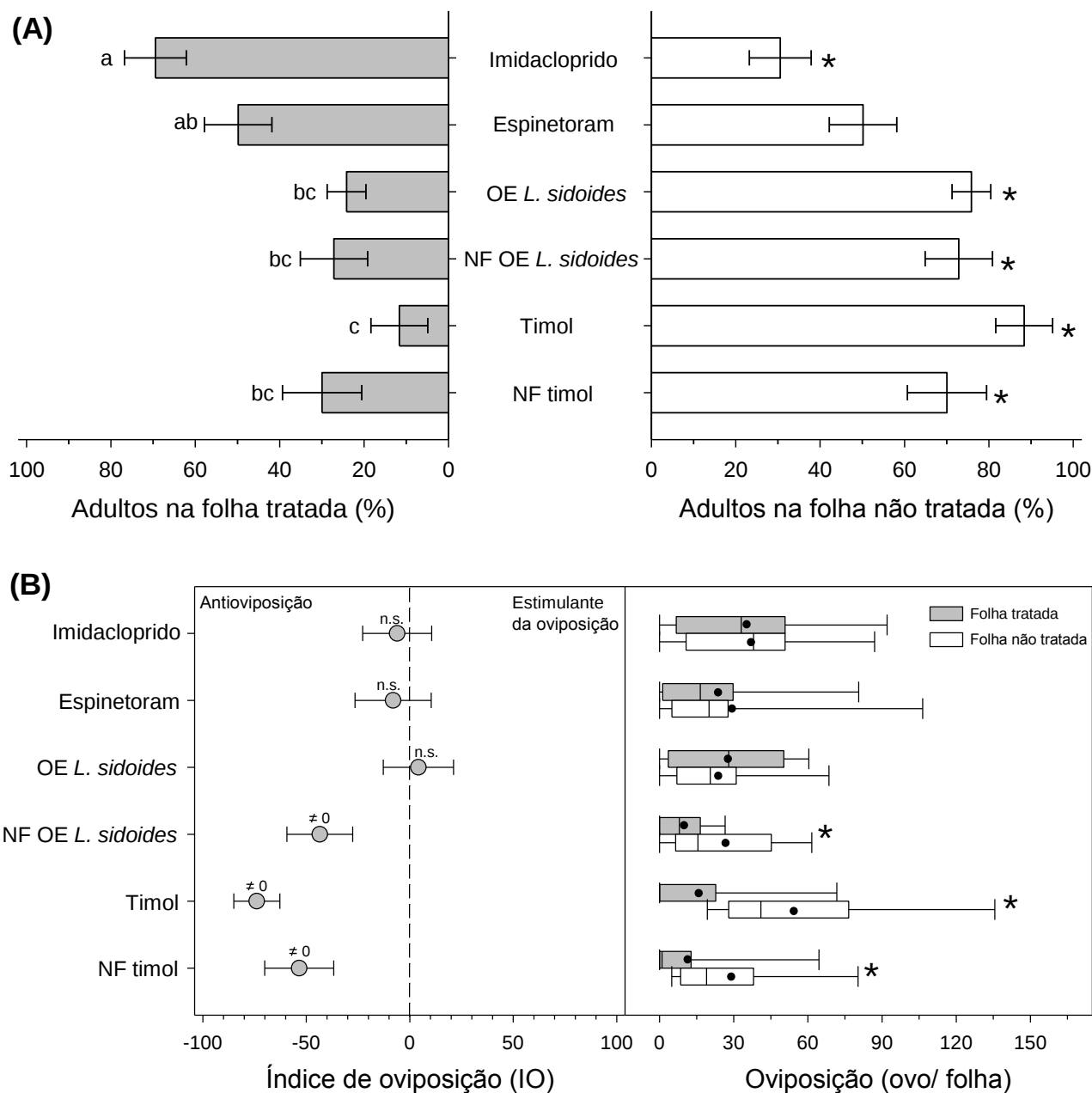


Figura 6. Repelência/deterrência de adultos (A) e antioviposição (índice de oviposição - IO e oviposição) (B) de *Aleurocanthus woglumi* em folhas de *Citrus sinensis* imersas nas soluções dos tratamentos imidacloprido, espinetoram, nanoformulação do óleo essencial de *L. sidoides* (NF OE *L. sidoides*), timol e nanoformulação do timol (NF timol). Médias seguidas pela mesma letra não diferem pelo teste de Tukey ($P < 0,05$) e médias seguidas por asterisco, indicam diferenças entre o número de adultos (A) e ovos (B) nas folhas tratada e a não tratada pelo teste de t pareado ($P < 0,05$). n.s. = IO não difere de zero e $\neq 0$ = IO diferente de zero, pelo teste de χ^2 . Na oviposição (ovos/ folha) (B), as linhas do erro representam os percentis 10 e 90 e as extremidades da caixa os percentis 25 e 75. A linha sólida dentro da caixa representa a mediana e o círculo preto a média.

5. CONSIDERAÇÕES FINAIS

Os resultados deste trabalho demonstram que os bioinseticidas óleo essencial de *Lippia sidoides*, timol e suas respectivas nanoformulações possuem efeitos letais e subletais sobre *Aleurocanthus woglumi*, apresentando toxicidade superior ao principal ingrediente ativo utilizado atualmente no controle dessa praga.

Portanto, baseados em princípios sustentáveis, esses compostos são fontes promissoras para a síntese de novas moléculas inseticidas, as quais poderão contribuir com o Manejo Integrado da mosca negra em pomares cítricos.