

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE ALAGOAS  
INSTITUTO DE QUÍMICA E BIOTECNOLOGIA  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BIOTECNOLOGIA DA RENORBIO**

**Lays Nogueira Miranda**

**Caracterização química e bioatividade dos óleos essenciais de *Croton  
tricolor* Klotzsch ex Baill. (Euphorbiaceae)**

**Maceió  
2022**

**Lays Nogueira Miranda**

**Caracterização química e bioatividade dos óleos essenciais de *Croton tricolor* Klotzsch ex Baill. (Euphorbiaceae)**

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Biotecnologia da Rede Nordeste de Biotecnologia – RENORBIO, Ponto Focal Alagoas, Universidade Federal de Alagoas, como requisito parcial para a obtenção do Título de Doutora em Biotecnologia, Área de Concentração: Biotecnologia em Saúde.

Orientador: Prof. Dr. Luciano Aparecido Meireles Grillo  
Coorientadora: Prof.<sup>a</sup> Dr.<sup>a</sup> Sâmia Andréia Souza da Silva

**Maceió**

**2022**

**Catálogo na Fonte**  
**Universidade Federal de Alagoas**  
**Biblioteca Central**  
**Divisão de Tratamento Técnico**

Bibliotecário: Marcelino de Carvalho Freitas Neto – CRB-4 – 1767

- M672c    Miranda, Lays Nogueira.  
          Caracterização química e bioatividade dos óleos essenciais de *Croton tricolor*  
          Klotzsch ex Baill. (Euphorbiaceae) / Lays Nogueira Miranda. – 2022.  
          141 f. : il. color.
- Orientador: Luciano Aparecido Meireles Grillo.  
          Coorientadora: Sâmia Andricia Souza da Silva.  
          Tese (doutorado em Biotecnologia) – Universidade Federal de Alagoas. Instituto de  
          Química e Biotecnologia. RENORBIO. Maceió, 2022.
- Bibliografia: f. 109-119.  
          Apêndices: f. 121-135.  
          Anexos: f. 137-141.
1. Prospecção tecnológica. 2. Biotecnologia. 3. Bioinseticidas. 4. *Tribolium*. I. Título.

CDU: 602.6:633.912


LAYS NOGUEIRA MIRANDA

**Caracterização química e bioatividade dos óleos essenciais de *Croton tricolor* Klotzsch ex Baill. (Euphorbiaceae)**

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Biotecnologia da Rede Nordeste de Biotecnologia – RENORBIO, Ponto Focal Alagoas, Universidade Federal de Alagoas, como requisito parcial para a obtenção do Título de Doutora em Biotecnologia, Área de Concentração: Biotecnologia em Saúde.


Aprovada em: 07/03/2022.

**BANCA EXAMINADORA**

Documento assinado digitalmente  
 LUCIANO APARECIDO MEIRELES GRILLO  
Data: 12/04/2022 19:45:59-0300  
Verifique em <https://verificador.iti.br>


---

Prof. Dr. Luciano Aparecido Meireles Grillo  
Orientador - Universidade Federal de Alagoas - UFAL

Documento assinado digitalmente  
 SAMIA ANDRÍCIA SOUZA DA SILVA  
Data: 12/04/2022 20:23:11-0300  
Verifique em <https://verificador.iti.br>


---

Profa. Dra. Sâmia Andrícia Souza da Silva  
Coorientadora - Universidade Federal de Alagoas - UFAL

Documento assinado digitalmente  
 Francis Soares Gomes  
Data: 07/04/2022 08:04:35-0300  
Verifique em <https://verificador.iti.br>

---

Prof. Dr. Francis Soares Gomes  
Universidade Federal de Alagoas - UFAL


Documento assinado digitalmente  
 Karlos Antonio Lisboa Ribeiro Junior  
Data: 09/04/2022 14:17:07-0300  
Verifique em <https://verificador.iti.br>

---

Prof. Dr. Karlos Antônio Lisboa Ribeiro Júnior  
Universidade Federal de Alagoas - UFAL

---

Profa. Dra. Ruth Rufino do  
Universidade Federal de A

Documento assinado digitalmente  
 TICIANO GOMES DO NASCIMENTO  
Data: 08/04/2022 12:50:35-0300  
Verifique em <https://verificador.iti.br>

Documento assinado digitalmente  
RUTH RUFINO DO NASCIMENTO  
Data: 07/04/2022 20:56:12-0300  
Verifique em <https://verificador.iti.br>

---

Prof. Dr. Ticiano Gomes do Nascimento  
Universidade Federal de Alagoas - UFAL

*A Deus, pela dádiva da vida e por ter nos  
conduzido até aqui.*

## AGRADECIMENTOS

Ao Prof. Dr. Luciano Aparecido Meireles Grillo, pelo acolhimento, direcionamento e condução;

À Prof.<sup>a</sup> Dr.<sup>a</sup> Sâmia Andrícia Souza da Silva, por toda generosidade, paciência e conhecimento compartilhado;

Aos professores da banca examinadora, Ruth Rufino, Karlos Lisboa, Francis Soares e Ticiano Gomes, por terem ampliado minha visão através de seus conhecimentos;

Aos benfeitores espirituais, por serem companhia, amor, presença, condução e luz;

Aos meus pais, Joceli e Cicero, irmãs, Lilian e Micheline, e avó, Lindinalva, pois sem eles eu nada seria;

Ao meu esposo Ademir, por ser meu eterno parceiro de vidas, fazendo-se eixo em meio às tempestades e luz em meio à calmaria;

À minha sobrinha Lis, por ser luz e amor;

Aos meus sogros, Claudia e Pires, por tornarem minha família completa;

Aos amados amigos Cynthia e Alexandre, por serem encontro de almas e por terem deixado suas marcas ao longo dessa jornada;

Ao companheiro Adalberto Inácio, por tão generosamente nos conduzir pela caatinga alagoana, preenchendo-nos com seu conhecimento e dedicação;

Aos colegas do LBM, pelo acolhimento, parceria e ensinamentos, em especial Josiel, Meirielly, Thomás e Wanessa;

À professora Magna Suzana e toda equipe do LaFi pela atenção e parceria;

Ao professor João Xavier e todos os colegas do Laboratório de Química Medicinal pelo apoio e conhecimentos compartilhados;

Ao professor Jhonnatan Duarte e seu orientando Orlando Moura;

À prof.<sup>a</sup> Dr.<sup>a</sup> Regina Salles, por ter sido ponte para essa realização;

À Universidade Federal de Alagoas e ao Programa de Pós-Graduação em Biotecnologia da RENORBIO pela oportunidade de aprendizado;

À gestão do Hospital Escola Dr. Helvio Auto, por todo apoio e confiança;

A todos aqueles que me antecederam, por terem aberto caminhos e alimentado um sonho.

## RESUMO

Os óleos essenciais derivados de plantas aromáticas são compostos por misturas complexas de componentes químicos e são menos propensos a deixar resíduos nos produtos armazenados, representando risco mínimo para o ambiente e saúde. Por essa razão esses compostos estão ganhando amplo interesse dos pesquisadores para o controle de pragas em produtos armazenados. Dentre essas pragas encontra-se o *Tribolium castaneum* Herbst. (Coleoptera: Tenebrionidae) que é reconhecido por ter um dos maiores potenciais de crescimento populacional em meio a esses insetos. Através de estudo de revisão patentária sobre produtos inseticidas para controle dessa espécie identificou-se a necessidade de desenvolver novas tecnologias oriundas de produtos naturais. Assim, este estudo tem como objetivo geral avaliar o potencial inseticida e repelente dos óleos essenciais de folhas e ramos de *Croton tricolor* Klotzsch ex Baill contra *T. castaneum*. Os óleos essenciais de *C. tricolor* foram obtidos por meio de hidrodestilação em equipamento Clevenger e a caracterização química foi realizada por meio de cromatografia gasosa acoplada a espectrometria de massas. A avaliação do potencial de repelência foi desenvolvida com base no método de preferência de área e foi realizado bioensaio de toxicidade de contato em adultos e larvas com concentrações de 1, 5 e 10% dos óleos essenciais. Foram avaliados os efeitos dos óleos essenciais sobre os índices nutricionais, metabolismo e reprodução de *T. castaneum* após exposição à DL<sub>50</sub>. Os óleos essenciais de *C. tricolor* apresentaram rendimento de 0,20% para ramos e 0,66% para folhas e os principais compostos incluíram Cariofileno (11,64%), Espatuleno (11,60%) e  $\gamma$ -Elemeno (11,47%) em folhas e Guaiol (9,02%),  $\beta$ -Elemeno (7,63%) e Dihidroagarofurano (7,20%) em ramos. Identificou-se potencial de repelência contra *T. castaneum* em todos os tempos de exposição, com classe variando entre IV a V, sendo o óleo essencial de folhas responsável por maior percentual de repelência. Os ensaios de toxicidade de contato resultaram em DL<sub>50</sub> após 24 horas de exposição de 0,151 mg/larva e 0,092 mg/adulto para folhas e 0,262 mg/larva e 0,219 mg/adulto para ramos. A exposição aos óleos essenciais de *C. tricolor* em adultos provocou aumento no consumo relativo do alimento, porém sem aumento de biomassa, sendo acompanhada por redução significativa nos níveis de colesterol, em especial naqueles que morreram após exposição. As larvas apresentam resposta metabólica diferente, caracterizada por elevação dos níveis de colesterol, triglicerídeos e glicose nos indivíduos que morreram após exposição. Não foram identificados efeitos sobre a reprodução provocados pela exposição de contato. Os resultados deste estudo apontam que os óleos essenciais de *C. tricolor* mostram-se como alternativas promissoras para o controle do inseto-praga *T. castaneum* em produtos armazenados e a toxicidade em adultos parece estar relacionados com a inibição de captação de colesterol, porém nas larvas os efeitos deletérios resultaram em maior demanda metabólica, provavelmente provocando o acesso às fontes energéticas armazenadas no corpo gorduroso, indicando que diferentes mecanismos de ação podem estar envolvidos no potencial inseticida de *C. tricolor*.

**Palavras-chave:** Prospecção tecnológica; Biotecnologia; Bionseticida; *Tribolium castaneum*.

## ABSTRACT

Essential oils derived from aromatic plants are composed by complex mixtures of chemical components and are less likely to leave residues in stored products, representing minimal risk to the environment and health. Therefore, these compounds are gaining wide interest from researchers for pest control in stored products. *Tribolium castaneum* Herbst. (Coleoptera: Tenebrionidae) is one of the stored products pests recognized for having one of the greatest population growth potentials among these insects. Through a patent review study on insecticide products to control this species, the need to develop new technologies from natural products was identified. Thus, this study aims to evaluate the insecticidal and repellent potential of essential oils from leaves and branches of *Croton tricolor* Klotzsch ex Baill against *Tribolium castaneum*. The essential oils of leaves and branches of *C. tricolor* were obtained by hydrodistillation in Clevenger equipment and the chemical characterization was carried out by gas chromatography coupled with mass spectrometry. The evaluation of the repellency potential was developed based on the area preference method and a contact toxicity bioassay was carried out with concentrations of 1, 5 and 10% of essential oils. The effects of essential oil on nutritional indexes, on the metabolism and reproduction of *T. castaneum* after exposure to LD<sub>50</sub> were evaluated. The *C. tricolor* essential oils showed a yield of 0.20% for branches and 0.66% for leaves and major compounds included caryophyllene (11,64%), sphenolol (11,60%) e  $\gamma$ -elemene (11,47%) in leaves and guaiol (9,02%),  $\beta$ -elemene (7,63%) e dihydroagarofuran (7,20%) in branches. Repellency potential was identified against *T. castaneum* at all times of exposure, with a class ranging from IV to V, being the essential oil of *C. tricolor* leaves responsible for higher repellency potential. The contact toxicity tests resulted in an LD<sub>50</sub> of 0,262 mg/larvae and 0,219 mg/adult for the essential oil of branches and 0,151 mg/larvae and 0.092 mg/adult for essential oil of leaves. Exposure to *C. tricolor* essential oils in adults caused an increase in the relative consumption of food, but without an increase in biomass, being accompanied by a significant reduction in cholesterol levels, especially in those who died after exposure. Larvae have a different metabolic response, characterized by increased levels of cholesterol, triglycerides and glucose in individuals who died after exposure. No reproductive effects from contact exposure have been identified. The results of this study point out that *C. tricolor* essential oils are promising alternatives for the control of the insect pest *T. castaneum* in stored products and toxicity in adults seems to be related to the inhibition of cholesterol uptake, but in larvae the deleterious effects resulted in greater metabolic demand, probably causing access to energy sources stored in the fat body, indicating that more than one mechanism of action may be involved on the insecticidal potential of *C. tricolor*.

**Keywords:** Technological prospecting; Biotechnology; Bionsecticide; *Tribolium castaneum*.



## LISTA DE ILUSTRAÇÕES

### REVISÃO DE LITERATURA

- Figura 1 - Visão de cima de um representante da ordem Coleoptera. 18
- Figura 2 - Fases de larva (A), pupa (B) e adulto (C e D) de *T. castaneum* registrada a partir de estereoscópio. 20
- Quadro 1 - Espécies do gênero *Croton* com bioatividade contra insetos descrita na literatura. 26
- Figura 3 - Espécime de *C. tricolor* pertencente ao Herbário Kew – Royal Botanic Gardens (K000186160), coletada em 1859 no Brasil. 30
- Figura 4 - Espécime de *C. tricolor* do município de Olho D'água do Casado/AL. 30
- Figura 5 - Distribuição de *C. tricolor* no território brasileiro. 34

### CAPÍTULO I

- Figura 1 – Fluxograma de identificação e de seleção de documentos de patente para prospecção tecnológica de inseticidas para controle de *T. castaneum* em produtos armazenados. 41
- Gráfico 1 – Evolução anual dos depósitos de patentes relacionadas a produtos inseticidas contra *T. castaneum*. 43
- Gráfico 2 – *Ranking* de países requerentes das patentes, segundo o número de depósitos, relacionadas a produtos inseticidas contra *T. castaneum*. 44
- Gráfico 3 – Classificação CIP dos depósitos de patentes relacionadas a produtos inseticidas contra *T. castaneum*. 45
- Gráfico 4 – Evolução anual dos depósitos de patente por tipo de produto inseticida contra *T. castaneum*. 51

### CAPÍTULO II

- Figura 1 – Ilustração do bioensaio de preferência de área com *T. castaneum*. 63
- Quadro 1 - Classes de Percentual de Repelência. 64
- Figura 2 – Ilustração do bioensaio de toxicidade de contato com *T. castaneum*. 65

Figura 3 – Cromatograma de fluxo iônico total de CG-EM de óleo essencial de folhas de <i>C. tricolor</i> extraído por hidrodestilação.	66
Figura 4 – Cromatograma de fluxo iônico total de CG-EM de óleo essencial de ramos de <i>C. tricolor</i> extraído por hidrodestilação.	67
Figura 5 – Estrutura dos principais compostos dos óleos essenciais de <i>C. tricolor</i> .	69
Figura 6 - Mortalidade de <i>T. castaneum</i> em ensaio de toxicidade de contato 72 horas após exposição.	71
Figura 7 - Curvas de sobrevivência de Kaplan-Meier demonstrando o efeito dos óleos essenciais de <i>C. tricolor</i> sobre larvas e adultos de <i>T. castaneum</i> .	72
<b>CAPÍTULO III</b>	
Figura 1 - Índices nutricionais de adultos jovens de <i>T. castaneum</i> após exposição aos óleos essenciais de <i>C. tricolor</i> .	94
Figura 2 - Índices nutricionais de larvas de <i>T. castaneum</i> após exposição aos óleos essenciais de <i>C. tricolor</i> .	95
Figura 3 - Perfil bioquímico total de adultos de <i>T. castaneum</i> expostos aos óleos essenciais de <i>C. tricolor</i> .	96
Figura 4 - Perfil bioquímico total de larvas de <i>T. castaneum</i> expostos aos óleos essenciais de <i>C. tricolor</i> .	97
Figura 5 – Média de larvas de <i>T. castaneum</i> emergidas 28 dias após a exposição aos óleos essenciais de <i>C. tricolor</i> .	98

## LISTA DE TABELAS

### REVISÃO DE LITERATURA

Tabela 1 - Substâncias encontradas no óleo essencial das folhas de *C. tricolor* de acordo com a literatura. 32

Tabela 2 - Substâncias encontradas no óleo essencial dos ramos de *C. tricolor* de acordo com a literatura. 33

### CAPÍTULO II

Tabela 1 - Rendimento dos óleos essenciais de *Croton tricolor*. 66

Tabela 2 - Composição química dos óleos essenciais de *C. tricolor* extraídos por hidrodestilação. 67

Tabela 3 - Atividade repelente dos óleos essenciais de *C. tricolor* contra adultos de *T. castaneum* em diferentes tempos de exposição. 70

Tabela 4 - Mortalidade de *T. castaneum* em ensaio de toxicidade de contato por tempo após exposição. 71

Tabela 5 - Toxicidade de contato dos óleos essenciais de *C. tricolor* contra larvas de *T. castaneum* após 24, 48 e 72 horas de exposição. 73

Tabela 6 - Toxicidade de contato dos óleos essenciais de *C. tricolor* contra adultos de *T. castaneum* após 24, 48 e 72 horas de exposição. 73

## SUMÁRIO

<b>1 INTRODUÇÃO</b>	12
<b>2 OBJETIVOS</b>	16
2.1 Objetivo geral	16
2.2 Objetivos específicos	16
<b>3 REVISÃO DE LITERATURA</b>	18
3.1 <i>Tribolium castaneum</i>	18
3.2 Óleos essenciais biossintetizados por plantas	21
3.3 O gênero <i>Croton</i> e a espécie <i>C. tricolor</i>	24
<b>CAPÍTULO I - Prospecção tecnológica de inseticidas para controle de <i>Tribolium castaneum</i> Herbst. (Coleoptera: Tenebrionidae) em produtos armazenados</b>	35
<b>RESUMO</b>	36
<b>ABSTRACT</b>	36
<b>1 INTRODUÇÃO</b>	37
<b>2 METODOLOGIA</b>	39
<b>3 RESULTADOS E DISCUSSÃO</b>	41
<b>4 CONSIDERAÇÕES FINAIS</b>	51
<b>5 PERSPECTIVAS FUTURAS</b>	52
<b>REFERÊNCIAS</b>	52
<b>CAPÍTULO II – Caracterização química e bioatividade dos óleos essenciais de <i>Croton tricolor</i> Klotzsch ex Baill. (Euphorbiaceae) sobre <i>Tribolium castaneum</i> Herbst. (Coleoptera: Tenebrionidae)</b>	58
<b>RESUMO</b>	59
<b>1 INTRODUÇÃO</b>	60
<b>2 MATERIAL E MÉTODOS</b>	61
2.1 Material vegetal	61
2.2 Extração do óleo essencial	62
2.3 Cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massas (CG-EM)	62

2.4 Insetos	62
2.5 Ensaio de repelência	63
2.6 Toxicidade de contato	64
2.7 Análise estatística	65
3 RESULTADOS	65
3.1 Rendimento dos óleos essenciais de ramos e folhas de <i>C. tricolor</i>	65
3.2 Composição química dos óleos essenciais de ramos e folhas de <i>C. tricolor</i>	66
3.3 Potencial de repelência dos óleos essenciais	70
3.4 Toxicidade de contato dos óleos essenciais	70
4 DISCUSSÃO	73
5 CONCLUSÃO	78
REFERÊNCIAS	79

**CAPÍTULO III – Efeitos dos óleos essenciais de *Croton tricolor* Klotzsch ex Baill. (Euphorbiaceae) sobre as características nutricionais, metabólicas e de reprodução de *Tribolium castaneum* Herbst.**

(Coleoptera: Tenebrionidae)	87
RESUMO	88
1 INTRODUÇÃO	89
2 MATERIAL E MÉTODOS	90
2.1 Material vegetal e extração do óleo essencial	90
2.2 Insetos	90
2.3 Toxicidade de contato	90
2.4 Avaliação dos efeitos dos óleos essenciais de <i>C. tricolor</i> sobre os índices nutricionais de <i>T. castaneum</i>	91
2.5 Avaliação dos índices bioquímicos <i>T. castaneum</i> após exposição aos óleos essenciais <i>C. tricolor</i>	91
2.6 Efeitos dos óleos essenciais de <i>C. tricolor</i> sobre a reprodução de <i>T. castaneum</i>	92
2.7 Análise estatística	92
3 RESULTADOS	93
3.1 Índices nutricionais de <i>T. castaneum</i>	93

<b>3.2 Alterações metabólicas de <i>T. castaneum</i> após ensaio de toxicidade de contato</b>	95
<b>3.3 Efeitos sobre a reprodução de <i>T. castaneum</i> após ensaio de toxicidade de contato</b>	98
<b>4 DISCUSSÃO</b>	99
<b>5 CONCLUSÃO</b>	102
<b>REFERÊNCIAS</b>	103
<b>4 CONCLUSÃO</b>	107
<b>REFERÊNCIAS</b>	109
<b>APÊNDICES</b>	120
<b>ANEXOS</b>	136

## INTRODUÇÃO

---

## 1 INTRODUÇÃO

As plantas possuem a capacidade de se adaptar às mudanças decorrentes de fatores ambientais, a fim de que esses fatores não afetem seus processos fisiológicos celulares e de desenvolvimento. Tais adaptações estão intimamente relacionadas com a produção de um repertório de metabólitos secundários, que fornecem às plantas a capacidade adaptativa para lidar com situações estressantes impostas por ambientes desafiadores (ISAH, 2019).

A literatura aponta que a produção desses metabólitos secundários é o resultado de 77 milhões de anos de interação entre plantas e patógenos, estando relacionados com a capacidade das plantas de protegerem-se contra herbívoros, bactérias, fungos e vírus, assim como com sinais de comunicação entre plantas e micro-organismos simbióticos e com a atração de polinizadores e dispersores de sementes (YANG *et al.*, 2018; ZAYNAB *et al.*, 2018).

Com o conhecimento acerca desses processos adaptativos presentes nas plantas, a humanidade passou a explorar esses ajustes fisiológicos como fonte de compostos bioativos úteis para fabricação de medicamentos ou ainda outros componentes biotecnológicos para auxiliar na solução de problemas enfrentados pela humanidade (ISAH, 2019). Como, mais recentemente, o combate aos insetos-praga que provocam perdas consideráveis nas produções agrícolas.

Ao longo da evolução humana houve a necessidade de produzir excedentes de produtos agrícolas para consumo e comercialização e, conseqüentemente, a necessidade de armazenamento desses em locais seguros por um período mais longo, a exemplo de celeiros e outras instalações. Nesse processo, muitos insetos continuaram se alimentando de seus hospedeiros naturais preferidos, porém mudaram sua localização para essas estruturas criadas pelos seres humanos (MORRISON *et al.*, 2019b).

Estima-se que os insetos são o problema mais comum da indústria de produtos armazenados, sendo responsáveis por uma perda de 5 a 10% em países desenvolvidos e de 35 a 75% em países em desenvolvimento (MORRISON *et al.*, 2019a). Dessa feita, o controle de pragas de produtos armazenados é economicamente tão importante quanto o aumento da produtividade da lavoura, uma vez que esses danos não são compensados financeiramente (YUN *et al.*, 2018).



Dentre as pragas de produtos armazenados encontra-se o *Tribolium castaneum* Herbst. (Coleoptera: Tenebrionidae), reconhecido por ter um dos maiores potenciais de crescimento populacional em meio a esses insetos. O besouro da farinha vermelha, como é conhecido, causa danos ao se alimentar do germe e do endosperma dos grãos e ao contaminar o grão com partes do corpo e fezes, estando associado ao crescimento do fungo *Aspergillus flavus*, em decorrência do aumento da umidade e da produção de poeira pela rápida multiplicação desse inseto (KHAREL *et al.*, 2019; MEHMOOD *et al.*, 2018).

O fungo *Aspergillus flavus* produz aflatoxinas, em especial a Aflatoxina B1 (AFB1), que são capazes de provocar efeitos adversos graves no organismo humano, estando associada ao risco de desenvolver carcinoma hepatocelular, com um risco maior para pessoas portadoras do Vírus da Hepatite C (SCHRENK *et al.*, 2020). Sendo assim, o consumo de alimentos contaminados representa um risco à saúde do ser humano e de outros animais.

Em virtude dos impactos econômicos e em saúde relacionados à infestação de grãos armazenados por *T. castaneum*, surge a necessidade de desenvolvimento de metodologias de controle dessa praga, sendo os inseticidas químicos sintéticos os mais utilizados com essa finalidade, como organofosforados e carbamatos. Porém, esses inseticidas geram impactos ambientais, devido à aplicação repetida de produtos tóxicos persistentes e por muitas espécies-chave estarem tornando-se resistentes a essas substâncias (MUSTAPHA *et al.*, 2020; VIEGAS JÚNIOR, 2003).

Dessa forma, o desenvolvimento e implementação de abordagens seguras e não tóxicas para o controle de pragas é fator chave para a sustentabilidade dos programas voltados para a preservação dos produtos armazenados e, neste contexto, os mecanismos defensivos das plantas surgem como propostas promissoras de inseticidas naturais, como alternativa ao uso dos inseticidas químicos sintéticos (RIBEIRO *et al.*, 2018). Entre esses, a atividade inseticida dos óleos essenciais tem sido descrita contra diversos insetos.

Os óleos essenciais derivados de plantas aromáticas são compostos por misturas complexas de componentes químicos, como fenóis, aldeídos, hidrocarbonetos e outros, e, devido à sua natureza altamente volátil, são menos propensos a deixar resíduos nos produtos armazenados, representando risco

mínimo para o ambiente e saúde (GAIRE; SCHARF; GONDHALEKAR, 2019; LIANG *et al.*, 2017).

Dentre as plantas que biossintetizam esses compostos encontram-se as do gênero *Croton*, que possuem potencial inseticida comprovado por meio de pesquisas científicas contra algumas ordens de insetos, a exemplo de Isoptera, Coleoptera e Diptera (LIMA *et al.*, 2013a; SANTOS *et al.*, 2019; MAVUNDZA *et al.*, 2013; LIMA *et al.*, 2013b). *Croton tricolor* Klotzsch ex Baill. (Sacatinga), é uma espécie pertencente à família Euphorbiaceae, que se mostra promissora para o desenvolvimento de biotecnologias com essa finalidade por apresentar um óleo essencial reconhecidamente não tóxico para mamíferos (DE FRANÇANETO *et al.*, 2012).

Através de buscas nas bases de artigos científicos e de patente não foram identificados estudos e/ou invenções relacionadas ao uso da espécie *C. tricolor* contra *T. castaneum*. Sendo assim, a partir desta perspectiva de inovação biotecnológica propõe-se o desenvolvimento deste estudo a fim de avaliar o potencial inseticida e repelente dos óleos essenciais da planta *C. tricolor* contra o inseto praga *T. castaneum*.

## OBJETIVOS

---

## 2 OBJETIVOS

### 2.1 Objetivo geral

Avaliar o potencial inseticida e repelente dos óleos essenciais de folhas e ramos de *C. tricolor* contra *T. castaneum*.

### 2.2 Objetivos específicos

- Realizar prospecção tecnológica de inseticidas para controle de *T. castaneum* em produtos armazenados;
- Extrair os óleos essenciais de folhas e ramos de *C. tricolor*;
- Identificar os constituintes químicos presentes nos óleos essenciais de folhas e ramos de *C. tricolor*;
- Avaliar a atividade de repelência dos óleos essenciais de folhas e ramos de *C. tricolor*;
- Avaliar a toxicidade de contato dos óleos essenciais de folhas e ramos de *C. tricolor*;
- Calcular os parâmetros nutricionais de *T. castaneum* após contato com óleos essenciais de folhas e ramos de *C. tricolor*;
- Analisar o perfil bioquímico de *T. castaneum* após contato com óleos essenciais de folhas e ramos de *C. tricolor*;
- Analisar os efeitos do contato com os óleos essenciais de folhas e ramos de *C. tricolor* sobre a reprodução de *T. castaneum*.

## REVISÃO DE LITERATURA

---

### 3 REVISÃO DE LITERATURA

#### 3.1 *Tribolium castaneum*

Os insetos da ordem Coleoptera, representada pelos besouros, são facilmente distinguidos dos demais pela forte esclerose do exoesqueleto e dos élitros (apresentam endurecimento da cutícula por meio de proteínas), que, em repouso, cobrem as asas membranosas, as quais ficam sob eles dobradas e escondidas. Estes insetos, vistos de cima (figura 1), apresentam o tórax representado pelo pronotum, atrás do qual se vê o tergito mesotorácico, que separa os élitros na parte basal (COSTA-LIMA, 1952; MARTINEZ; ROCHA-LIMA, 2020).

Figura 1 - Visão de cima de um representante da ordem Coleoptera.

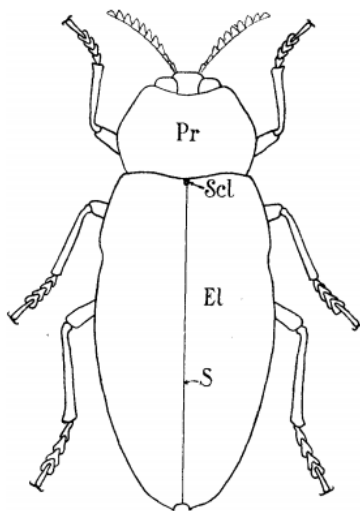


Fig. 1 - *Euchroma gigantea* (L., 1758) (Buprestidae), um pouco aumentado (Buprestidae), vista dorsal; El, élitro; Pr, pronotum; S, sutura; Scl, scutellum (C. Lacerda del.).

Fonte: COSTA-LIMA, 1952.

Essa ordem tem entre 152 e 169 famílias, a depender da referência abordada, e, destas, 104 a 112 ocorrem no Brasil, agrupando cerca de 30.000 espécies. As famílias mais numerosas são: Curculionidae (50.000), Chrysomelidae (35.000), Staphylinidae (30.000), Carambycidae (26.000), Carabidae (25.000), Scarabaeidae (20.500), Tenebrionidae (20.000) e Buprestidae (13.000), as quais agrupam, aproximadamente, dois terços de todas as espécies de besouros existentes no mundo (GASPAR, 2018).

A família Tenebrionidae conglomerada espécies altamente variáveis em forma e tamanho, sendo, essencialmente, detritívoras, ou seja, alimentam-se de

matéria de origem vegetal ou animal em decomposição. Dentre essas, 100 espécies são consideradas de importância econômica em virtude da associação com os produtos armazenados e diversas espécies são reconhecidas como importantes pragas secundárias (SANTOS, 2013; CHERNAKI; ALMEIDA, 2001).

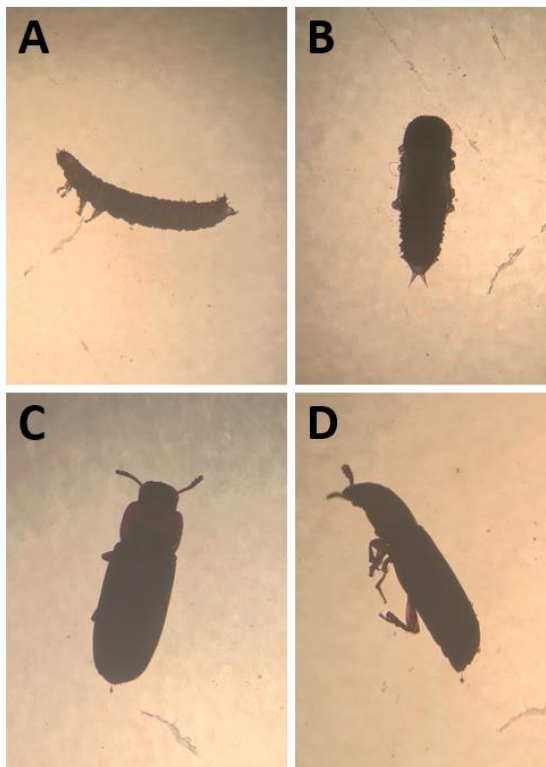
*T. castaneum*, pertencente à família Tenebrionidae, é considerado uma praga secundária por atacar grãos quebrados, farinhas e rações, causando prejuízos elevados por provocar a deterioração desses produtos. Os adultos possuem coloração castanho-avermelhada, medindo 2,3 mm a 4,4 mm e as larvas são branco-amareladas, cilíndricas, medindo até 7 mm de comprimento. As fêmeas chegam a colocar 400 a 500 ovos diretamente na farinha ou outro alimento no qual os adultos estejam vivendo (LORONI *et al.*, 2015).

Não se sabe ao certo quando essa espécie se adaptou ao universo de produtos armazenados, mas sabe-se que ela existe desde antes da prática do homem de armazenar grãos e evoluiu ao longo dos anos no habitat subcortical, chegando em uma tora em decomposição depois que os invasores primários criaram uma quantidade considerável de detritos (DAWSON, 1977).

Esta praga cosmopolita ocorre em todos os lugares do mundo, onde se encontrem produtos armazenados, e possui estágios de desenvolvimento relativamente curtos, compreendendo as fases de ovo, larva, pupa e adulto (figura 2), mas a vida adulta está entre as mais longas registradas para insetos de produtos armazenados, podendo durar até três meses (GOOD, 1936).

O tempo médio de duração dos estágios imaturos de *T. castaneum*, descritos por Leslie e Park (1949), são de 3,82 ( $\pm 0,005$ ) dias para ovo, 22,81 ( $\pm 0,0670$ ) dias para larva e 6,24 ( $\pm 0,071$ ) dias para pupa, enquanto os adultos possuem em média 138,24 ( $\pm 6,21$ ) dias de expectativa de vida. Porém, novas evidências apontam que o tempo médio de desenvolvimento das fases imaturas pode variar de acordo com a temperatura do ambiente, desde 42 dias a 30 °C até 193 dias a 20 °C, para desenvolvimento de ovo até a fase adulta (SKOURTI; KAVALLIERATOS; PAPANIKOLAOU, 2019).

Figura 2 - Fases de larva (A), pupa (B) e adulto (C e D) de *T. castaneum* registrada a partir de estereoscópio.



Fonte: dados da pesquisa (2022).

Estudos desenvolvidos com o objetivo de compreender o ciclo de vida e a história evolucionária deste inseto praga apontam que a capacidade de se desenvolver rapidamente, com mortalidade muito pequena, e de concentrar uma grande parte da reprodução em uma idade jovem, fornecem ao *T. castaneum* a capacidade de expandir rapidamente em número durante um episódio de colonização (MERTZ, 1971).

Associado a isto, tem-se que essa espécie de inseto possui um órgão altamente evoluído, semelhante a um rim, tornando-o capaz de sobreviver em ambientes altamente secos, e que ao longo dos anos desenvolveu resistência a 33 diferentes princípios ativos, com resistência detectada a todas as principais classes de inseticidas utilizadas contra eles (TRIBOLIUM GENOME SEQUENCING CONSORTIUM, 2008; JULIO *et al.*, 2017).

Tais características tornam essa espécie de difícil controle e garantem a avaliação de compostos naturais, que podem ser utilizados contra este inseto praga sem resultar em grande ameaça para a saúde humana e deterioração da qualidade do grão. Assim, os compostos a base de plantas, sendo naturais e



orgânicos, podem fornecer um ponto de partida para tais descobertas (AHMAD *et al.*, 2019).

### **3.2 Óleos essenciais biossintetizados por plantas**

Os organismos precisam transformar e interconverter variados compostos orgânicos para que vivam, cresçam e se reproduzam. Apesar de algumas pequenas variações, as vias para modificar e sintetizar carboidratos, proteínas, gorduras e ácidos nucleicos são essencialmente as mesmas em todos os organismos e, por essa característica, são coletivamente descritos como metabolismo primário. Por outro lado, existem alguns compostos que possuem uma distribuição muito mais limitada na natureza e que são a expressão da individualidade das espécies, chamados de metabólitos secundários (DEWICK, 2008).

Os metabólitos secundários são comumente encontrados entre plantas selvagens, que, ao longo de sua evolução, desenvolveram mecanismos de adaptação para protegerem-se contra herbívoros e patógenos, servirem como atrativos para polinizadores e funcionarem como agentes de competição entre plantas e de simbiose entre plantas e micro-organismos. Sendo eles divididos em três grupos quimicamente distintos: terpenos, fenólicos e componentes contendo nitrogênio (alcaloides) (EMBRAPA, 2010).

Os terpenos e seus derivados são os constituintes majoritários de alguns óleos essenciais, os quais estão despertando amplo interesse dos pesquisadores em virtude de suas diversas atividades biológicas, a exemplo de atividade antibacteriana, antifúngica, larvicida, ovicida, inseticida, antioxidante e outras (KNAAK; FIUZA, 2010).

Quanto aos efeitos dos óleos essenciais sobre os insetos, estudos apontam que eles podem repelir, alterar seus hábitos alimentares e impedir a ovoposição e a emergência de adultos e que, por essas características, são elementos promissores para o combate de insetos pragas, incluindo pragas de produtos armazenados. A atividade repelente caracteriza-se por substâncias que atuam localmente para impedir que os insetos voem nas proximidades ou pousem nos produtos e o potencial inseticida mostra-se presente através de toxicidade de contato e toxicidade fumegante (UPADHYAY *et al.*, 2019).

Ressalta-se que a atividade biológica dos componentes individuais dos óleos essenciais é frequentemente menor que todo o produto, portanto, todo o óleo deve ser utilizado para análise de bioatividade, em vez de isolar e sintetizar o componente individual (NAJDABBASI *et al.*, 2020). Ademais, evidências sugerem que a maioria dos compostos dos óleos essenciais diferem em seu modo de ação e, muitas vezes, apresentam relações sinérgicas mútuas, que podem ampliar a ação inseticida e impedir o desenvolvimento de resistência pelas populações de insetos-alvos (MUTURI *et al.*, 2019).

Por esses produtos serem derivados de fontes orgânicas, que são biodegradáveis e geram menos impacto ao meio ambiente, por apresentarem, muitas vezes, baixos resíduos e baixa toxicidade, muitos óleos essenciais são classificados como “geralmente reconhecidos como seguros” pela *Food and Drug Administration* (FDA) e pela Agência de Proteção Ambiental (*Environmental Protection Agency* - EPA) dos Estados Unidos (NAJDABBASI *et al.*, 2020). Tais informações reafirmam as características promissoras do uso desses produtos para o controle seguro de pragas de produtos armazenados.

Alguns estudos investigaram as atividades inseticida e repelente dos óleos essenciais de plantas contra algumas ordens de insetos, a exemplo de Isoptera, Blattodea, Hymenoptera, Hemiptera, Lepidoptera, Coleoptera e Diptera (ZHU *et al.*, 2003; TIAN *et al.*, 2015; MAGIEROWICZ; GÓRSKA-DRABIK; SEMPRUCH, 2019; TURCHEN *et al.*, 2016; MOURA *et al.*, 2019; SARMA *et al.*, 2019; GAIRE *et al.*; 2017). Estando elas apresentadas por ordem crescente de número de publicações, permite-se inferir que as ordens Coleoptera e Diptera recebem maior atenção dos pesquisadores por seu impacto econômico, seja agrícola ou em saúde, respectivamente, uma vez que à ordem Diptera pertencem muitos vetores naturais de agentes etiológicos de doenças humanas e animais (RODRIGUES, 2011).

Os óleos essenciais de plantas podem ser obtidos por hidrodestilação, destilação a vapor, destilação a seco ou prensagem mecânica a frio e contém várias substâncias bioativas que geralmente são dominadas por dois ou três compostos principais (HARO-GONZÁLEZ *et al.*, 2021). Além desses métodos convencionais, encontram-se os métodos avançados e inovadores de extração, a exemplo de extração assistida por micro-ondas, extração assistida por ultrassom e extração de fluido supercrítico, que visam melhorar o desempenho

da extração, reduzindo o tempo e o consumo de energia para obter extratos orgânicos. Porém, observa-se que os principais compostos voláteis obtidos pelos diversos tipos de extração são os mesmos, podendo ocorrer variação na concentração de cada composto (HARO-GONZÁLEZ *et al.*, 2021; MUTURI *et al.*, 2019).

Em geral, os óleos essenciais sofrem reações de degradação na presença de oxigênio, luz, calor e umidade, o que torna fundamental a adoção de medidas durante o manuseio e armazenamento visando minimizar a ocorrência dessas reações (GUIMARÃES *et al.*, 2008). Em estudo desenvolvido por Moura e colaboradores (2021) observou-se que o aumento da temperatura e a exposição à luz afeta negativamente o óleo essencial de *Ocimum basilicum* por avançar processos de auto-oxidação e formação de radicais livres, concluindo que as condições adequadas de armazenamento são em temperaturas máximas de 20°C e sem exposição à luz.

Em virtude da instabilidade e suscetibilidade à degradação, vários estudos estão sendo desenvolvidos com a finalidade de preservar as atividades biológicas dos óleos essenciais, protegendo os compostos bioativos de fatores extrínsecos e intrínsecos. Essa proteção visa aumentar a duração de sua ação, fornecer uma liberação controlada e aumentar a estabilidade dos óleos essenciais, os quais podem ser favorecidos pela técnica de encapsulamento (ASBAHANI *et al.*, 2015).

O encapsulamento é uma técnica que aprisiona um componente ativo em outra substância e então produz partículas na escala nanométrica ou micrométrica. Várias estratégias podem ser utilizadas para essa formulação, como partículas poliméricas, lipossomas e nanopartículas lipídicas sólidas. Ademais, diferentes métodos físicos, físico-químicos e mecânicos têm sido utilizados para encapsular óleos essenciais, como secagem por pulverização, coacervação, emulsificação e gelificação iônica (MUTLU-INGOK *et al.*, 2020).

Encontram-se descritos na literatura diversos exemplos de encapsulamento de óleos essenciais com a finalidade inseticida e repelente. O óleo essencial de *Mentha pulegium* foi encapsulado em microtransportadores de células de leveduras e teve sua atividade inseticida contra *Myzuz persicae* prolongada em três dias (KAVETSOU *et al.*, 2019). As nanopartículas poliméricas de quitosana foram a estratégia utilizada para encapsulamento do

óleo essencial de hortelã-pimenta (*Mentha x piperita* L.) e demonstraram atividade inseticida contra *T. castaneum* e *Sitophilus oryzae* mais forte que o óleo essencial puro (RAJKUMAR *et al.*, 2020). O encapsulamento do óleo essencial de *Zuccagnia punctata* em matrizes poliméricas de poli( $\epsilon$ -caprolactona) demonstrou excelente atividade repelente contra *Triatoma infestans*, sendo termicamente estável (LÓPEZ *et al.*, 2021).

A aplicação dessas formulações no manejo integrado de pragas vai depender da rota específica de entrada no corpo do inseto, biologia/ecologia da espécie e do tipo de formulação física (gás e vapor, líquido, gel e espuma e sólido). Por exemplo, líquidos podem ser aplicados através do tratamento estrutural de superfícies (revestimentos, pinturas e vernizes), depósito de inseticidas nas superfícies entregues como spray e impregnação de grãos; espumas expansíveis podem ser utilizadas como barreiras inseticidas e para enchimento de cavidades; inseticidas sólidos podem ser úteis para impregnar embalagens e para produção de iscas sólidas (STEJSKAL *et al.*, 2021).

Nesse sentido, estudo desenvolvido por Kala e colaboradores (2020) realizaram a impregnação de pequenos sacos de algodão com nanocápsulas à base de pectina carregadas com óleo essencial de madeira de cedro e identificaram que essa metodologia promove eficácia larvicida duradoura quando comparada à impregnação com o óleo essencial puro. No mais, Pascualvillalobos e colaboradores (2015) identificaram que os óleos essenciais de coentro e manjeriço encapsulados podem ser utilizados como inseticidas em armadilha de funil, como alternativa à vapona, inseticida comercial utilizado contra as espécies *Plodia interpunctella* e *Ephestia kueh-niella*.

Esses e outros estudos demonstram a importância dos óleos essenciais para o desenvolvimento de abordagens ecológicas, eficazes e acessíveis, atuando como inseticidas e repelentes contra muitos insetos, e que podem ser utilizados como alternativa para os inseticidas químicos sintéticos (CHANDRASEKARAN *et al.*, 2019; GUO *et al.*, 2016).

### **3.3 O gênero *Croton* e a espécie *C. tricolor***

*Croton* é o segundo maior gênero da família Euphorbiaceae, com mais de 1.200 espécies distribuídas nos trópicos e subtropicais de todo o mundo, principalmente em áreas áridas e semiáridas, com maior diversidade no Brasil,

Madagascar e Caribe (SILVA *et al.*, 2010). O Brasil é o país da América do Sul que possui maior número de espécies desse gênero, amplamente distribuídas em diversos ambientes, em especial a caatinga, o cerrado e os campos rupestres, mais especificamente nos estados de Alagoas, Bahia, Ceará, Minas Gerais, Paraíba, Pernambuco, Piauí, Sergipe, São Paulo e Paraná (SILVA *et al.*, 2010; LUJÁN; LEÓN; RIINA, 2015).

Na indústria farmacêutica esse gênero é reconhecido por seu potencial valor econômico, devido aos diversos metabólitos secundários encontrados em suas espécies, como alcalóides, flavonóides e terpenóides, os quais muitas vezes lhes conferem propriedades terapêuticas (SILVA; SALES; CARNEIRO-TORRES, 2009). Algumas dessas propriedades, já descritas pela literatura, são: antifúngica, inibidora de acetilcolinesterase, inibidora de estresse oxidativo, anti-inflamatória, hepatoprotetora, antitumoral, antimicrobiana e antinociceptiva (URRUTIA-HERNÁNDEZ *et al.*, 2019; XU; LIU; LIANG, 2018; KUNDU *et al.*, 2020; DUTTA *et al.*, 2018; NJOYA; ELOFF; MCGAW, 2018; LIMA *et al.*; 2018; DÍAZ *et al.*; 2019; OLIVEIRA-JÚNIOR *et al.*, 2018; FONTENELLE *et al.*, 2008).

Além dessas propriedades terapêuticas, estudos apontam o potencial repelente, adulticida, pupicida, larvicida, ovicida e/ou de dissuasão da ovoposição de algumas espécies do gênero *Croton* contra diversas espécies de insetos. Tais potenciais são observados a partir da utilização de óleos essenciais, extratos ou pós de folhas, ramos, raízes e sementes dessas plantas contra insetos das ordens Coleoptera, Diptera, Isoptera e Lepidoptera (Quadro 1).

Quadro 1 – Espécies do gênero *Croton* com bioatividade contra insetos descrita na literatura.

(continua)

BIOATIVIDADE	ESPÉCIE VEGETAL	PRODUTO	INSETO-ALVO	AUTORES (ANO)
Repelente	<i>Croton trinitatis</i> Millsp	Óleo essencial de folhas	<i>Tribolium castaneum</i> Herbst (Coleoptera: Tenebrionidae)	Jaramillo-Colorado, Duarte-Restrepo e Jaimes (2016)
	<i>Croton sonderianus</i> Mull. Arg.	Pó de folhas e ramos	<i>Callosobruchus maculatus</i> Fabr. Coleoptera: Bruchidae)	Melo <i>et al.</i> (2014)
	<i>Croton pseudopulchellus</i> Pax	Óleo essencial da parte aérea	<i>Anopheles gambiae</i> sensu stricto (Diptera: Culicidae)	Odalo <i>et al.</i> (2005)
Adulticida	<i>Croton pulegiodorus</i> Baill	Óleo essencial de folhas	<i>Sitophilus zeamais</i> Motschulsky (Coleoptera: Curculionidae)	Silva <i>et al.</i> (2019)
	<i>Croton pulegiodorus</i> Baill	Óleo essencial de folhas	<i>Sitophilus zeamais</i> Motschulsky (Coleoptera: Curculionidae)	Santos <i>et al.</i> (2019)
	<i>Croton pulegiodorus</i> Baill	Óleo essencial de folhas	<i>Rhyzopertha dominica</i> F. (Coleoptera: Bostrichidae)	Souza <i>et al.</i> (2016)
	<i>Croton menyaarthii</i> Pax	Extrato etanólico e diclorometano das folhas	<i>Anopheles arabiensis</i> Patton (Diptera: Culicidae)	Mavundza <i>et al.</i> (2014)
	<i>Croton sonderianus</i> Müll.Arg.	Óleo essencial de folhas	<i>Nasutitermes corniger</i> Motschulsky (Isoptera: Termitidae)	Lima <i>et al.</i> (2013b)
Pupicida	<i>Croton sonderianus</i> Müll.Arg.	Óleo essencial de folhas	<i>Aedes aegypti</i> L. (Diptera: Culicidae)	Lima <i>et al.</i> (2013a)
	<i>Croton argyrophyloides</i> Müll. Arg.	Óleo essencial de folhas	<i>Aedes aegypti</i> L. (Diptera: Culicidae)	Lima <i>et al.</i> (2013a)

Fonte: dados da pesquisa (2022).

Quadro 1 – Espécies do gênero *Croton* com bioatividade contra insetos descrita na literatura.

(continuação)

BIOATIVIDADE	ESPÉCIE VEGETAL	PRODUTO	INSETO-ALVO	AUTORES (ANO)
Pupicida	<i>Croton nepetaefolius</i> Baill	Óleo essencial de folhas	<i>Aedes aegypti</i> L. (Diptera: Culicidae)	Lima <i>et al.</i> (2013a)
	<i>Croton zehntneri</i> Pax et Hoffm.	Óleo essencial de folhas	<i>Aedes aegypti</i> L. (Diptera: Culicidae)	Lima <i>et al.</i> (2013a)
Larvicida	<i>Croton nepetaefolius</i> Baill	Óleo essencial de folhas	<i>Aedes aegypti</i> L. (Diptera: Culicidae)	Rodrigues <i>et al.</i> (2019)
	<i>Croton nepetaefolius</i> Baill	Óleo essencial de folhas	<i>Aedes albopictus</i> Skuse (Diptera: Culicidae)	Rodrigues <i>et al.</i> (2019)
	<i>Croton jacobinesis</i> Baill.	Óleo essencial de folhas ramos e inflorescência	<i>Aedes aegypti</i> L. (Diptera: Culicidae)	Pinto <i>et al.</i> (2016)
	<i>Croton tiglium</i> L.	Extrato éter de petróleo e clorofórmio metanólico de sementes	<i>Anopheles stephensi</i> Liston (Diptera: Culicidae)	Dohutia <i>et al.</i> (2015)
	<i>Croton caudatus</i> Geisel.	Extrato éter de petróleo e clorofórmio metanólico de raiz	<i>Anopheles stephensi</i> Liston (Diptera: Culicidae)	Dohutia <i>et al.</i> (2015)
	<i>Croton tiglium</i> L.	Extrato éter de petróleo e clorofórmio metanólico de raiz	<i>Culex quinquefasciatus</i> Say (Diptera: Culicidae)	Dohutia <i>et al.</i> (2015)
	<i>Croton caudatus</i> Geisel.	Extrato éter de petróleo e clorofórmio metanólico de raiz	<i>Culex quinquefasciatus</i> Say (Diptera: Culicidae)	Dohutia <i>et al.</i> (2015)
	<i>Croton tiglium</i> L.	Extrato éter de petróleo e clorofórmio metanólico de raiz	<i>Aedes aegypti</i> L. (Diptera: Culicidae)	Dohutia <i>et al.</i> (2015)
	<i>Croton caudatus</i> Geisel.	Extrato éter de petróleo e clorofórmio metanólico de raiz	<i>Aedes aegypti</i> L. (Diptera: Culicidae)	Dohutia <i>et al.</i> (2015)
	<i>Croton bonplandianus</i> Baill.	Extrato metanólico das folhas	<i>Aedes aegypti</i> L. (Diptera: Culicidae)	Deepa <i>et al.</i> (2015)

Fonte: dados da pesquisa (2022).

Quadro 1 – Espécies do gênero *Croton* com bioatividade contra insetos descrita na literatura.

(continuação)

BIOATIVIDADE	ESPÉCIE VEGETAL	PRODUTO	INSETO-ALVO	AUTORES (ANO)
Larvicida	<i>Croton rhamnifolioides</i> Pax & K. Hoffm.	Óleo essencial de folhas	<i>Aedes aegypti</i> L. (Diptera: Culicidae)	Santos <i>et al.</i> (2014)
	<i>Croton sonderianus</i> Müll.Arg.	Extrato salino bruto das sementes	<i>Aedes aegypti</i> L. (Diptera: Culicidae)	Barbosa <i>et al.</i> (2014)
	<i>Croton zehntneri</i> Pax et Hoffm.	Óleo essencial de folhas	<i>Aedes aegypti</i> L. (Diptera: Culicidae)	Lima <i>et al.</i> (2013a)
	<i>Croton nepetaefolius</i> Baill	Óleo essencial de folhas	<i>Aedes aegypti</i> L. (Diptera: Culicidae)	Lima <i>et al.</i> (2013a)
	<i>Croton argyrophylloides</i> Müll. Arg.	Óleo essencial de folhas	<i>Aedes aegypti</i> L. (Diptera: Culicidae)	Lima <i>et al.</i> (2013a)
	<i>Croton sonderianus</i> Müll. Arg.	Óleo essencial de folhas	<i>Aedes aegypti</i> L. (Diptera: Culicidae)	Lima <i>et al.</i> (2013a)
	<i>Croton menyaarthii</i> Pax	Extrato etanólico de folhas	<i>Anopheles arabiensis</i> Patton (Diptera: Culicidae)	Mavundza <i>et al.</i> (2013)
	<i>Croton bonplandianum</i> Baill	Extrato acetato de etila das folhas	<i>Anopheles vagus</i> Doenitz (Diptera: Culicidae)	Bagavan e Rahuman (2011)
	<i>Croton pulegioidorus</i> Baill	Óleo essencial de folhas	<i>Aedes aegypti</i> L. (Diptera: Culicidae)	Dória <i>et al.</i> (2010)
	<i>Croton heliotropiifolius</i> Kunth	Óleo essencial de folhas	<i>Aedes aegypti</i> L. (Diptera: Culicidae)	Dória <i>et al.</i> (2010)
	<i>Croton urucurana</i> Baill	Fração acetato de etila do extrato metanólico da casca do caule	<i>Anagasta kuehniella</i> Zeller (Lepidoptera: Pyralidae)	Silva <i>et al.</i> (2009)
	<i>Croton regelianus</i> Mull. Arg.	Óleo essencial de folhas	<i>Aedes aegypti</i> L. (Diptera: Culicidae)	Torres <i>et al.</i> (2008)

Fonte: dados da pesquisa (2022).



Quadro 1 – Espécies do gênero *Croton* com bioatividade contra insetos descrita na literatura.

(conclusão)

BIOATIVIDADE	ESPÉCIE VEGETAL	PRODUTO	INSETO-ALVO	AUTORES (ANO)
Larvicida	<i>Croton zehntneri</i> Pax et Hoffm.	Óleo essencial folhas ramos e inflorescência	<i>Aedes aegypti</i> L. (Diptera: Culicidae)	Santos <i>et al.</i> (2007)
	<i>Croton zehntneri</i> Pax et Hoffm.	Óleo essencial de folhas	<i>Aedes aegypti</i> L. (Diptera: Culicidae)	Morais <i>et al.</i> (2006)
	<i>Croton nepetaefolius</i> Baill	Óleo essencial de folhas	<i>Aedes aegypti</i> L. (Diptera: Culicidae)	Morais <i>et al.</i> (2006)
	<i>Croton argyrophyloides</i> Müll. Arg.	Óleo essencial de folhas	<i>Aedes aegypti</i> L. (Diptera: Culicidae)	Morais <i>et al.</i> (2006)
	<i>Croton sonderianus</i> Müll. Arg.	Óleo essencial de folhas	<i>Aedes aegypti</i> L. (Diptera: Culicidae)	Morais <i>et al.</i> (2006)
Ovicida	<i>Croton sonderianus</i> Müll.Arg.	Óleo essencial de folhas	<i>Aedes aegypti</i> L. (Diptera: Culicidae)	Lima <i>et al.</i> (2013a)
	<i>Croton argyrophyloides</i> Müll. Arg.	Óleo essencial de folhas	<i>Aedes aegypti</i> L. (Diptera: Culicidae)	Lima <i>et al.</i> (2013a)
	<i>Croton nepetaefolius</i> Baill	Óleo essencial de folhas	<i>Aedes aegypti</i> L. (Diptera: Culicidae)	Lima <i>et al.</i> (2013a)
	<i>Croton zehntneri</i> Pax et Hoffm.	Óleo essencial de folhas	<i>Aedes aegypti</i> L. (Diptera: Culicidae)	Lima <i>et al.</i> (2013a)
Dissuasão da ovoposição	<i>Croton argyrophyloides</i> Müll. Arg.	Óleo essencial de folhas	<i>Aedes aegypti</i> L. (Diptera: Culicidae)	Lima <i>et al.</i> (2013a)
	<i>Croton zehntneri</i> Pax et Hoffm.	Óleo essencial de folhas	<i>Aedes aegypti</i> L. (Diptera: Culicidae)	Lima <i>et al.</i> (2013a)

Fonte: dados da pesquisa (2022).

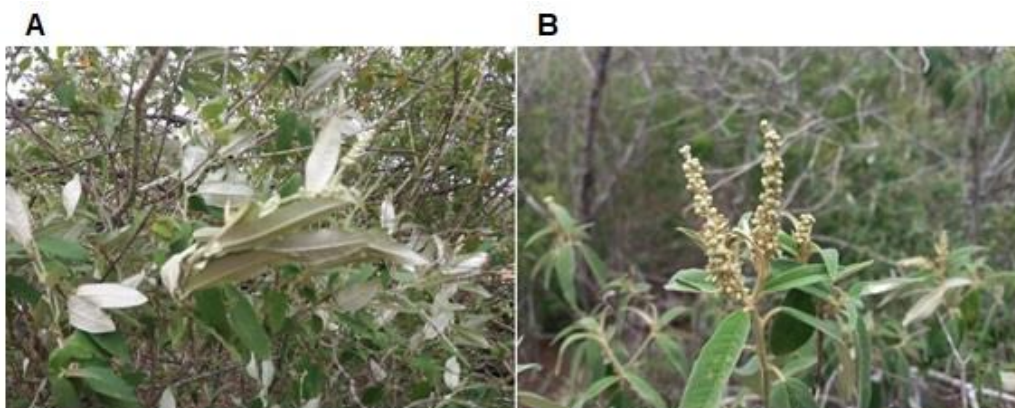
Várias espécies desse gênero possuem óleos essenciais, muitos dos quais são responsáveis por alguns potenciais citados anteriormente. Dentre elas encontra-se a espécie *C. tricolor* (figuras 3 e 4), uma espécie nativa da América do Sul, descrita em 1864 por Johann Friedrich Klotzsch e Henri Ernest Baillon (Andosina 4: 291), sobre a qual se encontram registros de distribuição no Brasil, Bolívia e Guiana Francesa (TROPICOS.ORG, 2020; IPNI, 2020).

Figura 3 - Espécime de *C. tricolor* pertencente ao Herbário Kew – Royal Botanic Gardens (K000186160), coletada em 1859 no Brasil.



Fonte: apps.kew.org.

Figura 4 - Espécime de *C. tricolor* do município de Olho D'água do Casado/AL.



A: folhas; B: inflorescência.

Fonte: dados da pesquisa, 2022.

A espécie *C. tricolor* é conhecida no sertão do estado de Alagoas como Sacatinga e, em busca realizada nas bases de dados de botânica Tropicos.org e *International Plant Names Index* foi possível identificar a ocorrência de quatro sinônimos para esta espécie, sendo eles: *Croton argyrophyloides* Müll. Arg., *Croton tricolor* Müll. Arg. (ilegítimo), *Oxydectes argyrophyloides* (Müll. Arg.) Kuntze e *Oxydectes tricolor* (Klotzsch ex Baill.) Kuntze (TROPICOS.ORG, 2020; IPNI, 2020).

Alguns estudos utilizam o nome *Croton argyrophyloides* Müll. Arg. para designação desta espécie, porém, Müller estabeleceu essa denominação para separar *C. argyrophyloides* de *C. tricolor*, utilizando os caracteres da estípula e tamanho das flores. No entanto, a análise de diversas coleções de diversas localidades mostrou que as estípulas são muito variáveis na forma, até num mesmo indivíduo. Sendo assim, o nome *C. argyrophyloides* foi considerado ilegítimo e tratado então como sinonímia da espécie *C. tricolor* (VAN, 2011).

Em comparação às demais espécies do gênero, existem poucas pesquisas avaliando os potenciais biológicos de *C. tricolor*, sendo elas: a avaliação do potencial antifúngico contra espécies de *Candida* realizada por Miranda e colaboradores (2019), a avaliação da atividade vasodilatadora em ratos desenvolvida por França-Neto e colaboradores (2012), a investigação dos efeitos antimicrobiano, antioxidante, genotóxico e citotóxico realizados por Ferreira (2014) e Vasconcelos (2015) e do potencial larvicida, pupicida e ovicida contra *Aedes aegypti* realizada por Morais e colaboradores (2006) e Lima e colaboradores (2013a), todas utilizando os óleos essenciais dessa espécie.

Quanto à composição de seu óleo essencial, a literatura aponta que, apesar de algumas variações, esse é rico em terpenos (Tabelas 1 e 2). Tornando-se importante ressaltar que ele apresenta baixa ou nenhuma citotoxicidade, avaliada em ensaio citotóxico de *Artemia salina*, e que é considerado não tóxico para roedores, uma vez que obteve resultado de DL<sub>50</sub> superior a 5g/kg quando administrado por via oral, em ensaio *in vivo* com camundongos (FRANÇA-NETO *et al.*, 2012). Ademais, o óleo essencial de *C. tricolor* não induziu danos cromossômicos estruturais e/ou numéricos quando administrado 2000mg/kg do peso de camundongos (FERREIRA, 2014; VASCONCELOS, 2015).

Tabela 1 - Substâncias encontradas no óleo essencial das folhas de *C. tricolor* de acordo com a literatura.

Nome da substância	Estudo 1 PR (%)	Estudo 2 PR (%)	Estudo 3 PR (%)
α-pineno	6,83	20,98	15,76
sabineno	0,22	11,21	3,91
β-pineno	0,57	1,63	-
δ-3-careno	-	2,58	-
1-8-cineol	-	3,71	5,58
terpinen-4-ol	-	1,16	-
eucaliptol	0,30	-	-
limoneno	0,94	-	-
di-hidrocarveol	0,14	-	-
α-capaeno	0,14	-	-
δ-elemeno	-	3,21	-
β-elemeno	5,50	8,52	6,79
E-cariofileno	-	3,96	-
trans-cariofileno	-	-	2,07
aromadendreno	2,24	0,34	4,71
α-humuleno	0,88	0,61	-
alo-aromadendreno	0,17	1,02	-
selina-4,11-dieno	0,72	-	-
germacreno a	0,18	-	-
germacreno d	-	1,43	-
germacreno	-	-	1,88
selina-3,11-dieno	2,65	-	-
biciclogermacreno	15,40	28,09	-
δ-cadineno	0,34	0,45	-
calameneno	0,10	-	-
γ-bisaboleno	0,27	-	-
β-trans-guaieno	-	-	37,51
E-nerolidol	-	0,79	-
nerolidol, trans	0,31	-	-
espatulenol	10,53	2,77	1,67
aromadendrol	1,26	-	-
viridiflorol	0,85	-	-
isolongifoleno	1,16	-	-
7-epi-gama-eudesmol	0,34	-	-
isoespatulenol	0,91	-	-
selina-4,6-dien-8-ol	1,21	-	-
α-cadinol	0,85	-	-
óxido cariofileno	-	1,31	-
Total	55,01	93,77	79,88

Fonte: estudo 1 - MEIRA, 2018; estudo 2 - SOUZA, 2016; estudo 3 - LIMA *et al.*, 2013a. PR = percentagem relativa.

Tabela 2 - Substâncias encontradas no óleo essencial dos ramos de *C. tricolor* de acordo com a literatura.

Nome da substância	Estudo 1 PR (%)	Estudo 2 PR (%)
$\alpha$ -pineno	6,33	1,2
$\beta$ -pineno	5,83	1,4
$\beta$ -felandreno	3,18	0,8
$\alpha$ -copaeno		4,4
copaeno	3,42	
$\beta$ -cariofileno	10,00	9,1
$\alpha$ -cariofileno		2,7
$\alpha$ -bergamotene	1,30	
humuleno	2,57	0,9
$\gamma$ -selineno	0,96	
$\beta$ -cubeno	3,20	
$\beta$ -cadineno	3,77	
$\alpha$ -cadineno	3,10	
$\gamma$ -cadineno	2,50	
óxido cariofileno	2,28	2,2
(+)-ledeno	13,68	
viridifloreno	2,16	3,0
$\gamma$ -himachaleno	1,33	3,4
trans-(Z)- $\alpha$ -bergamotol	2,70	
$\alpha$ -trans-bergamotol		14,4
epiglobulol		19,0
guaiol		1,5
$\gamma$ -edesmol		1,3
$\delta$ -cadinol		4,4
$\alpha$ -acarenol		5,8
$\alpha$ -bisabolol		16,5
Total	68,31	92,0

Fonte: estudo 1 - VASCONCELOS, 2015; estudo 2 - SOUZA, 2016. PR = porcentagem relativa.

No Brasil, a espécie *C. tricolor* é nativa, porém não é endêmica, e encontra-se distribuída no Nordeste, nos estados de Alagoas, Bahia, Ceará, Maranhão, Paraíba, Pernambuco, Piauí, Rio Grande do Norte e Sergipe, no Sudeste, nos estados de Minas Gerais e São Paulo, e no Sul, no estado do Paraná (Figura 5), relacionando-se aos domínios fitogeográficos de Caatinga, Cerrado e Mata Atlântica (FLORA DO BRASIL, 2020).

Figura 5 - Distribuição de *C. tricolor* no território brasileiro.



Fonte: FLORA DO BRASIL, 2020.

**CAPÍTULO I - Prospecção tecnológica de inseticidas para  
controle de *Tribolium castaneum* Herbst. (Coleoptera:  
Tenebrionidae) em produtos armazenados**

(artigo publicado na revista Cadernos de Prospecção)

---

**PROSPECÇÃO TECNOLÓGICA DE INSETICIDAS PARA CONTROLE DE  
*Tribolium castaneum* Herbst. (Coleoptera: Tenebrionidae) EM  
PRODUTOS ARMAZENADOS**

**RESUMO**

*Tribolium castaneum* (Coleoptera: Tenebrionidae) é uma das principais pragas por causar danos quantitativos e qualitativos aos produtos pós-colheita, gerando prejuízos de centenas de milhões de dólares em diversos setores econômicos. Sendo assim, este estudo tem como objetivo identificar invenções inseticidas para controle do *T. castaneum* em produtos armazenados. Trata-se de um estudo de prospecção tecnológica realizado por meio da ferramenta de pesquisa de patente Derwent Innovations Index e das bases Espacenet e Instituto Nacional da Propriedade Industrial (INPI). Foram identificadas 86 patentes relacionadas a produtos com potencial inseticida contra *T. castaneum*, sem duplicata. Destas, a maioria trata de inseticidas químicos sintéticos (66,3%), seguidos de bioinseticidas (23,2%) e produtos transgênicos (10,5%). As patentes relacionadas a bioinseticidas são de origem botânica (70%), de bactéria (25%) e de fungo (5%). Os resultados deste estudo apontam para a importância de serem desenvolvidas tecnologias utilizando-se novas fontes de produtos naturais com potencial inseticida para controle dessa praga que sejam seguros para o meio ambiente e para a saúde humana.

Palavras-chave: Controle de Pragas. Biotecnologia. Prospecção.

**TECHNOLOGICAL PROSPECTION OF INSECTICIDES FOR THE CONTROL  
OF *T. castaneum* IN STORED PRODUCTS**

**ABSTRACT**

*Tribolium castaneum* (Coleoptera: Tenebrionidae) is one of the main pests for causing quantitative and qualitative damage to post-harvest products, generating losses of hundreds of millions of dollars in various economic sectors. Thus, this study aimed to identify insecticide inventions to control *T. castaneum* in stored



products. This is a study of technological prospecting carried out through the patent research tool Derwent Innovations Index and the Espacenet and INPI bases. 86 patents related to products with potential insecticide against *T. castaneum*, without duplicate, were identified. Among these, most are synthetic chemical insecticides (66,3%), followed by bioinsecticides (23,2%) and transgenic products (10,5%). Patents related to bioinsecticides are of botanical origin (70%), bacteria (25%) and fungus (5%). The results of this study point to the importance of developing technologies using new sources of natural products with insecticide potential to control this pest, safe for the environment and human health.

Keywords: Pest Control. Biotechnology. Prospecting.

## 1 INTRODUÇÃO

Entre as pragas de insetos, o *T. castaneum* é uma das principais por causar danos quantitativos e qualitativos aos produtos pós-colheita, gerando prejuízos de centenas de milhões de dólares em diversos setores econômicos em todo o mundo. Acrescenta-se a isso o fato de apresentar alta adaptabilidade, principalmente em ambientes com alta umidade, e expressiva resistência aos inseticidas sintéticos ao longo dos anos (AJAHA *et al.*, 2019; ALCALA-OROZCO *et al.*, 2019; OPIT *et al.*, 2012).

Essa espécie geralmente se alimenta de farinha de trigo, cereais, massas, biscoitos, feijão, nozes, cacau e outros produtos alimentares, causando elevado impacto na economia global, sendo responsável por causar danos em 10 a 40% do total de produtos mundiais (PHANKAEN *et al.*, 2017). Estima-se que a perda anual, em decorrência da infestação por esse inseto-praga, chegue a 36 milhões de toneladas no mundo, ocasionando uma perda em receita de 500 milhões a um bilhão de dólares nos países em desenvolvimento (AL-SHWELLY; AL-GIZY, 2021; ATTIA *et al.*, 2020).

No mais, as infestações de produtos armazenados por *T. castaneum* geralmente estão associadas a fungos de armazenamento, particularmente *Aspergillus flavus*, que liberam toxinas, a exemplo da aflatoxina B1, que induz a geração de radicais livres no corpo, contribuintes para desenvolvimento de doenças cardiovasculares, neurodegenerativas e câncer. Nesse contexto, o

consumo de alimentos contaminados representa um risco à saúde do ser humano e de outros animais (UPADHYAY *et al.*, 2019).

Esse inseto, também conhecido como besouro de farinha vermelha, é uma praga cosmopolita, difícil de controlar, uma vez que explora fissuras, fendas e refúgios dentro dos equipamentos ou na estrutura dos edifícios. Além disso, desenvolveu resistência contra todos os inseticidas utilizados para seu controle, incluindo a fosfina, que tem sido o fumegante mais utilizado mundialmente em virtude do seu baixo custo, rápida difusão e ausência de resíduos nos produtos tratados (HAOUEL-HAMDI *et al.*, 2020; HASSAN; SILEEM; HASSAN, 2020).

Em virtude dessas características, estudos desenvolvidos em diversos países indicam a necessidade de desenvolvimento de novas tecnologias para o controle do *T. castaneum*, com ênfase na produção de alternativas ecologicamente seguras e eficazes para seu controle (BRARI; THAKUR, 2018; GHARSAN *et al.*, 2018; HASHEN *et al.*, 2020; JUNG *et al.*, 2020). Porém, observa-se que o uso de inseticidas químicos sintéticos ainda é a primeira escolha para o controle desse inseto-praga, o que provoca uma preocupação geral sobre os impactos negativos para o ambiente e para a saúde humana decorrentes da utilização desses produtos, a exemplo do efeito adverso nos ecossistemas e seu acúmulo no meio ambiente (BERINE *et al.*, 2018).

Assim, os estudos de prospecção tecnológica surgem como uma estratégia de inteligência competitiva, a fim de nortear as atividades de pesquisa e de desenvolvimento tecnológico para a identificação de diferenciais no mercado de produtos inseticidas para controle de *T. castaneum* em produtos armazenados, uma vez que permitem a identificação de novas possibilidades e redução de incertezas nos processos de tomada de decisão a partir da utilização de informações que possam orientar o futuro desse setor (PARANHOS; RIBEIRO, 2018).

Dessa forma, o presente estudo tem como objetivo realizar uma revisão patentária a fim de identificar invenções inseticidas para controle do *T. castaneum* em produtos armazenados. O desenvolvimento deste estudo justifica-se pela necessidade de delimitar o panorama mundial de biotecnologias eficazes para auxiliar no combate a essa praga cosmopolita e reduzir os impactos econômicos em todo o mundo.

## 2 METODOLOGIA

Trata-se de um estudo de prospecção tecnológica realizado em janeiro de 2021 na ferramenta de pesquisa de patente Derwent Innovations Index e nas bases de patente Espacenet e Instituto Nacional da Propriedade Industrial (INPI), por meio da estratégia de busca *Tribolium castaneum* AND *insecticide*. A associação dessas palavras-chaves com o operador booleano AND deu-se pela necessidade de direcionar a busca para produtos com potencial inseticida, uma vez que a utilização de algoritmos baseados em linguagem booleana torna a recuperação de informação mais qualificada e assertiva (SOBRAL; MIRANDA; SILVA, 2018).

A busca por documentos de patente na ferramenta Derwent e na base Espacenet deu-se a partir das palavras-chave em inglês, por meio do campo tópico da busca básica para a ferramenta e do campo título ou resumo da busca avançada para a base. Por sua vez, a busca na base de patente INPI deu-se com as palavras-chave em português por meio do campo resumo da busca básica. Ressalta-se que em nenhuma das buscas fez-se limitação do intervalo de tempo de depósito, uma vez que este estudo busca identificar todas as produções tecnológicas patenteadas para o controle de *T. castaneum* ao longo dos anos.

As bases e as ferramentas de busca de patentes foram selecionadas com base na sua importância e abrangência para a indexação de pedidos de patentes no Brasil e no mundo. Sobre a ferramenta Derwent, é importante ressaltar que esta é considerada uma ferramenta de pesquisa importante por indexar patentes de 59 autoridades emissoras de patente em todo o mundo (CLARIVATE, 2021). Por sua vez, a base de patente Espacenet, desenvolvida pelo Escritório Europeu de Patentes (European Patent Office – EPO) em parceria com os estados-membros da Organização Europeia de Patentes, contém dados sobre mais de 120 milhões de documentos de patentes do mundo (EPO, 2021) e, por fim, a base de patentes do INPI dá acesso às concessões de patentes fornecidas no Brasil (INPI, 2021).

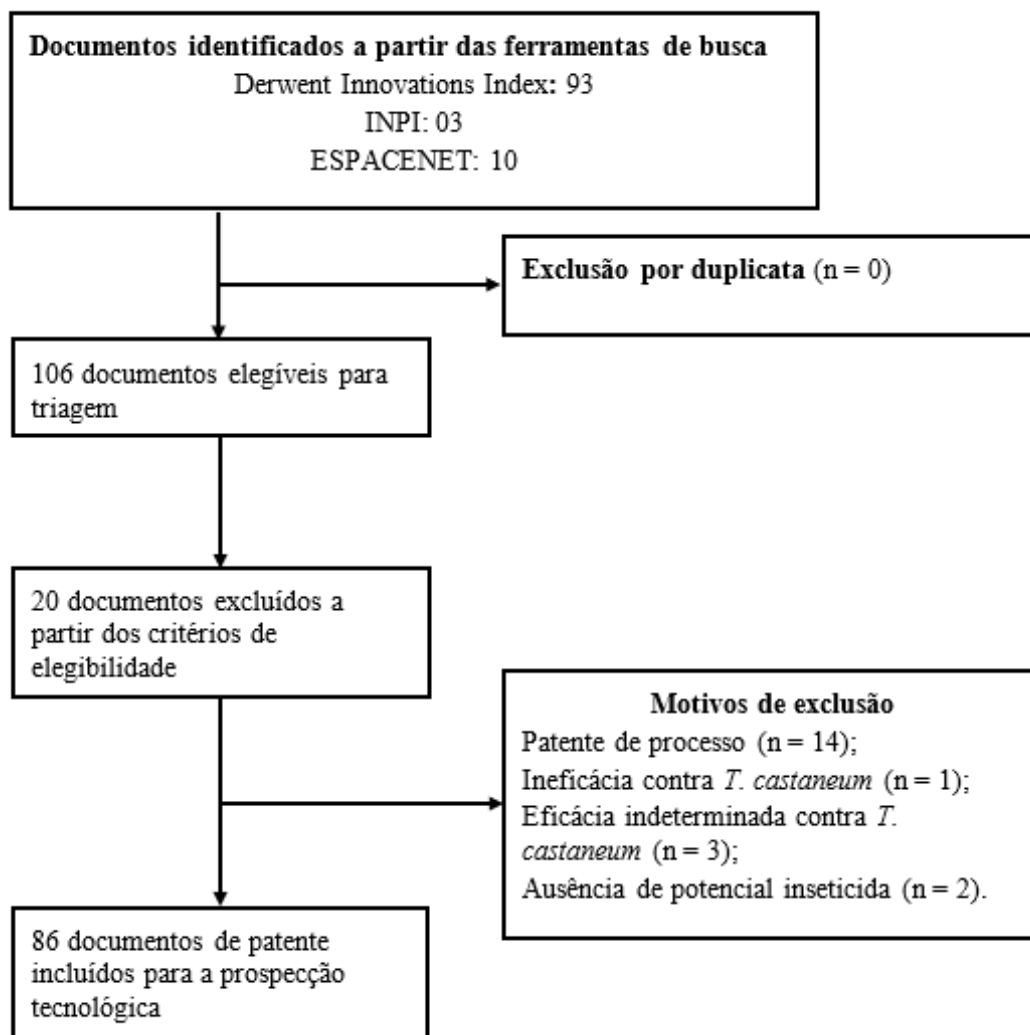
Para a identificação de documentos de patentes relacionadas a produtos inseticidas para controle de *T. castaneum* em produtos armazenados, foram estabelecidos os seguintes critérios de elegibilidade: para inclusão dos

documentos de patentes neste estudo, eles deveriam apresentar, no resumo ou na descrição detalhada, o potencial inseticida contra *T. castaneum* e tratar-se de patente de invenção associada a produto, de modo que as patentes associadas a processos foram excluídas. O fluxograma de identificação e de seleção dos documentos de patente é apresentado na Figura 1.

Após a identificação das patentes elegíveis foi criado um banco de dados do estudo, utilizando o *software* Microsoft Office Excel® (versão office 365), contendo as seguintes informações: número da patente, ano de publicação, país do depositante, código de Classificação Internacional de Patentes (CIP) (*IPC – International Patent Classification*), produto base, origem do produto, nome dos inventores e código de classe Derwent, para as patentes identificadas por meio dessa ferramenta.

O banco de dados produzido por meio deste estudo permitiu a elaboração de gráficos para a análise quantitativa das patentes identificadas, os quais são apresentados no tópico resultados e discussão deste artigo, e, em seguida, realizou-se uma análise qualitativa dos documentos de patente, a fim de elucidar os componentes envolvidos nas invenções, suas formas de aplicação e mecanismos de ação. Por fim, os dados encontrados foram associados aos achados da literatura atual sobre o tema em questão, com o intuito de relacionar as tecnologias empregadas para a solução dessa problemática de interesse mundial com suas possíveis vantagens e desvantagens.

Figura 1 – Fluxograma de identificação e de seleção de documentos de patente para prospecção tecnológica de inseticidas para controle de *T. castaneum* em produtos armazenados.



Fonte: Elaborado pelos autores deste artigo (2021).

### 3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

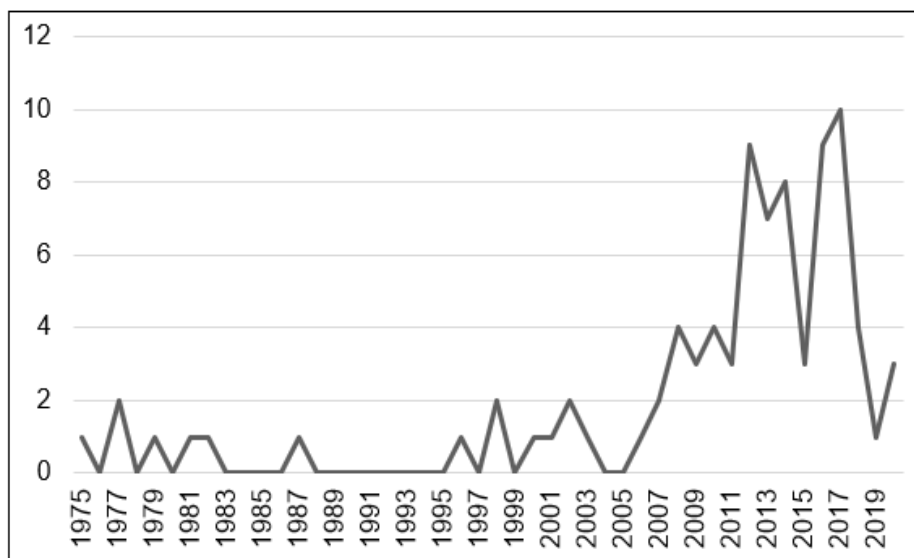
A partir das buscas nas bases de patentes foi possível identificar 86 patentes relacionadas a produtos com potencial inseticida contra *T. castaneum*, sem duplicata. Dessas, 76 estavam indexadas na base Derwent Innovations Index (88,3%), sete na base Espacenet (8,1%) e três na base do INPI (3,5%). Tal dado reforça a importância da ferramenta Derwent na realização de estudos de prospecção tecnológica, uma vez que a busca por meio dessa ferramenta

permite o acesso a mais de 30 milhões de invenções descritas em mais de 65 milhões de documentos de patentes.

Com relação ao ano de publicação dos documentos de patente (Gráfico 1), identificou-se um aumento das publicações a partir do ano de 2008, de modo que o período de 2008 a 2020 soma 79,1% da publicação mundial acerca de tecnologias inseticidas contra *T. castaneum*, com destaque para os anos de 2012, 2016 e 2017, que apresentaram o maior quantitativo de patentes publicadas (9, 9 e 10, respectivamente). O aumento do número de patentes a partir do ano de 2008 corrobora com o perfil mundial de publicação de patentes que apresentou aumento exponencial a partir do mesmo ano (crescimento de 5,8% ao ano), com exceção do ano de 2009, no qual houve ligeira queda (crescimento de 3,8%), segundo dados da Organização Mundial da Propriedade Intelectual (OMPI) (WIPO, 2018).

O perfil mundial de aumento de número de patentes a partir do ano de 2008 mostra-se relacionado com o aumento da participação da China em produção e inovação no período de 2007 a 2017, superando o número de inscrições do *European Patent Office* (EPO) e da República da Coreia em 2005, do Japão em 2010 e dos Estados Unidos em 2011, sendo considerado o maior escritório de patentes do mundo em número de inscrições, enquanto a participação dos outros quatro escritórios diminuiu no mesmo período (WIPO, 2018). Estudiosos da área apontam que o crescimento exponencial de patentes na China relaciona-se com a intensificação da pesquisa e desenvolvimento da economia chinesa, aumento de investimento estrangeiro direto nesse país e alteração das leis de patentes, que passaram a favorecer os detentores de patentes (HU; PENG; LIJING, 2017).

Gráfico 1 – Evolução anual dos depósitos de patentes relacionadas a produtos inseticidas contra *T. castaneum*.



Fonte: Elaborado pelos autores deste artigo (2021).

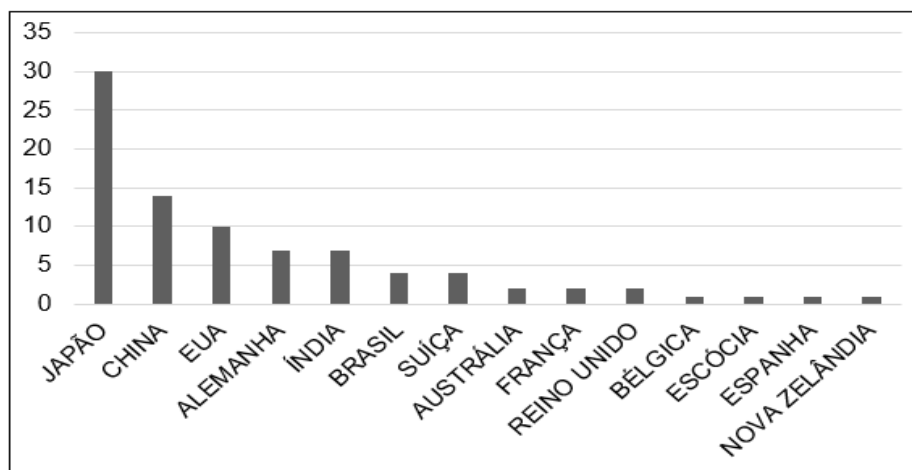
Quanto aos países requerentes das patentes de interesse deste estudo (Gráfico 2), destacam-se aqueles pertencentes ao Continente Asiático, que detêm 59,3% das patentes identificadas, acompanhados do Continente Europeu (20,9%), América (16,3%) e Oceania (3,5%). Torna-se importante ressaltar que a Ásia ocupava quatro lugares no *ranking* dos dez maiores escritórios de pedidos de patente do mundo no ano de 2017, sendo esses lugares ocupados pela China (1º), Japão (3º), República da Coreia (4º) e Índia (7º). Destes, os três primeiros escritórios de propriedade intelectual asiáticos destacam-se por receber a maior parte de inscrições de candidatos residentes, em contraste ao que é observado nos EUA e no Canadá, por exemplo, com mais inscrições de candidatos não residentes (WIPO, 2018).

A Ásia também ocupa lugar de destaque no mercado global de alimentos, tendo sido responsável por pouco mais de 48% da produção mundial de cereais em 2019 (FAO, 2021). China e Índia ganham destaque na produção de trigo e arroz, ocupando o primeiro e o segundo lugar, respectivamente, na produção desses grãos, enquanto a China é o segundo maior produtor de milho (ECONOMIC REPORT, 2016). Esses cereais estão entre aqueles suscetíveis a perdas pós-colheita em virtude de infestação de insetos, como *T. castaneum*,

com relatos de perda de 13% da produção da China por essa razão (JUNG *et al.*, 2020).

O Japão apresenta-se como o maior país requerente de patentes de interesse deste estudo (34,9%), fato que pode estar relacionado à limitação de terras agricultáveis desse país em virtude da alta densidade populacional. No Japão, 12,8% das terras são destinadas à agricultura, o que equivale a, aproximadamente, 46.861 km<sup>2</sup>, enquanto no Brasil, por exemplo, destinam-se 664.248 km<sup>2</sup> para essa finalidade, equivalente a 7,8% do território brasileiro (BERNARDES; CALVENTE, 2014). Além da limitação de terras agricultáveis, estima-se que esse país desperdice a cada ano oito milhões de toneladas de alimentos comestíveis pós-colheita, o que levou o governo japonês a introduzir uma política destinada a reduzir o desperdício na indústria de alimentos a partir de 2012 (MUNESUE; MASUI; FUSHIMA, 2014).

Gráfico 2 – *Ranking* de países requerentes das patentes, segundo o número de depósitos, relacionadas a produtos inseticidas contra *T. castaneum*.



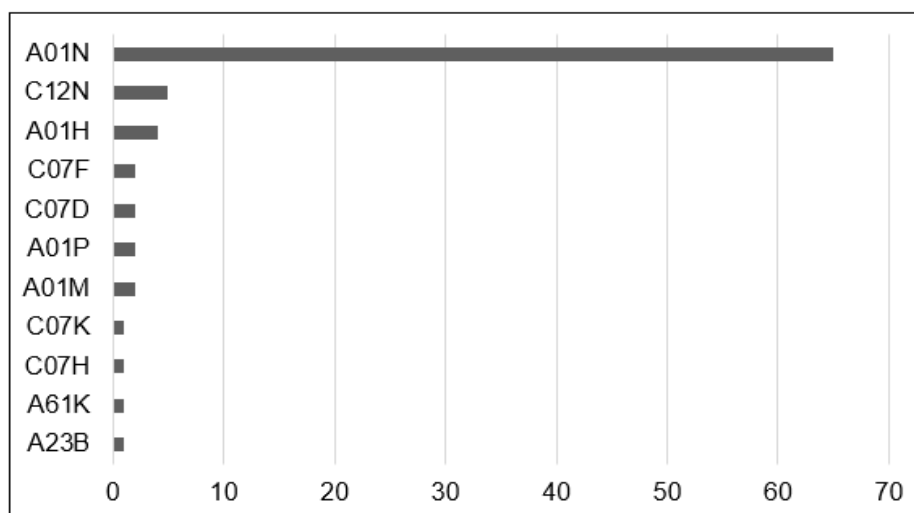
Fonte: Elaborado pelos autores deste artigo (2021).

As patentes identificadas por meio deste estudo são majoritariamente pertencentes à classificação CIP A01N, a qual pertence à seção A – Necessidades Humanas e relaciona-se com “conservação de corpos de seres humanos ou animais ou plantas ou partes dos mesmos; Biocidas, por exemplo, desinfetantes, pesticidas, herbicidas; repelentes ou atrativo de pestes; reguladores de crescimento de planta”, a qual possui relação direta com o objeto de interesse deste estudo. As demais se relacionam a temas como engenharia



genética (C12N), reprodução de plantas (A01H), compostos acíclicos, carbocíclicos ou heterocíclicos (C07F), compostos heterocíclicos (C07D) e outros (WIPO, 2021). Todas as classificações CIP relacionadas às patentes de produtos inseticidas contra *T. castaneum* são apresentadas no Gráfico 3.

Gráfico 3 – Classificação CIP dos depósitos de patentes relacionadas a produtos inseticidas contra *T. castaneum*.



Fonte: Elaborado pelos autores deste artigo (2021).

Os produtos inseticidas desempenham um papel importante na agricultura e saúde pública, pois possibilitam o aumento da produção de alimentos e reduzem os danos às produções agrícolas causados por pragas. Esses inseticidas são divididos pela literatura em dois grupos: o primeiro composto de inseticidas sintéticos atribuídos a grupos com base no modo de ação tóxica, a exemplo de organoclorados, organofosforados e carbamatos; e o segundo são inseticidas naturais, a exemplo da azadiractina, rotenona, espinosade e abamectina (MOSSA; MOHAFRASH; CHANDRASEKARAN, 2018).

Por meio do desenvolvimento deste estudo de prospecção, foi possível identificar que a maioria das patentes de produtos inseticidas contra *T. castaneum* diz respeito a inseticidas químicos sintéticos, com 57 produtos (66,3%), seguidos de 20 produtos bioinseticidas (23,2%) e de nove produtos transgênicos (10,5%). Tal dado confirma os apontamentos da literatura sobre o uso de inseticidas químicos sintéticos como principal estratégia no manejo de insetos-praga, o que acarreta efeitos colaterais, incluindo poluição ambiental,

resistência a inseticidas, ressurgimento de pragas secundárias e toxicidade para organismos não alvos, a exemplo de micro-organismos do solo, polinizadores, peixes e até humanos (EBADOLLAHI; SETZER, 2020).

Porém, é possível perceber, por meio da análise qualitativa dos documentos de patentes, que algumas delas apresentam a preocupação com a preservação do meio ambiente e da saúde humana ao proporcionar produto químico sintético atóxico (CN104026122-A), com baixa toxicidade para animais de sangue quente (JP2010254629-A) ou biodegradável (WO2014001121-A1). Todas produzidas a partir do ano de 2010, demonstrando que essa é uma preocupação recente, quando comparada ao início da produção tecnológica nessa área.

Outra vantagem apresentada por seis produtos químicos sintéticos identificados relaciona-se ao efeito sinérgico do produto proposto, fornecido por meio da associação de mais de um componente ativo (CN103004866-A, WO2012163960-A1, WO2008129967-A1, WO2008129966-A1, WO2008072783-A1 e DE10110570-A1). Assim, uma vez que a resistência a inseticidas é codificada, majoritariamente, por gene único e que a resistência poligênica é pouco comum, a utilização de misturas de componentes químicos mostra-se como uma excelente estratégia para prevenção da resistência em insetos (SOUTH; HASTINGS, 2018).

Ainda no contexto da resistência a inseticidas, as patentes WO2014114250-A1, WO2014079937-A1 e WO2011054871-A1 apresentam produtos eficazes para insetos resistentes a agentes organofosforados e carbamatos, demonstrando a preocupação no desenvolvimento de alternativas aos inseticidas largamente utilizados para controle de insetos-praga, para os quais o *T. castaneum* desenvolveu resistência ao longo dos anos (JULIO *et al.*, 2017).

Com relação aos métodos de aplicação dos produtos químicos sintéticos, entre as 57 patentes identificadas neste estudo, observam-se diversos métodos de aplicação do produto, a exemplo de aplicação direta no inseto, como visto nas patentes WO2018199175-A1 e JP2017122055-A, aplicação no *habitat* da praga, a exemplo de WO2017043385-A1 e WO2017043386-A1, pulverização (exemplo: WO2014100206-A1, WO2014001121-A1) e fumigação (US2010135914-A1 e DE10110570-A1). A literatura aponta que esses métodos de aplicação se

mostram eficazes contra *T. castaneum* por atingir os insetos que se encontram depositados diretamente nos grãos ou inseridos em fissuras e fendas nos equipamentos ou estruturas de armazenamento (HASSAN; SILEEM; HASSAN, 2019).

Os fumegantes químicos são os métodos mais utilizados para o controle de pragas de produtos armazenados por serem reconhecidamente eficazes, a exemplo do brometo de metila e fosfina, porém, devido à propriedade de destruição da camada de ozônio subjacente ao brometo de metila e à potencial genotoxicidade da fosfina para animais de sangue quente, o uso desses inseticidas foi restrito. Surgiu, assim, a necessidade de identificação de produtos naturais, como aqueles derivados de espécies botânicas, com potencial inseticida para fazer frente aos inseticidas químicos sintéticos (GAO *et al.*, 2020).

Nesse contexto, a utilização de inseticidas baseados em compostos que protegem naturalmente as plantas contra várias pragas é uma das práticas incorporadas à agricultura sustentável, com o propósito de atender às necessidades alimentares da população mundial em crescimento contínuo, sem comprometer a mesma necessidade para gerações futuras (MUŽINIĆ; ŽELJEŽIĆ, 2018). As patentes originadas desses produtos, identificadas por meio deste estudo, tiveram como países depositantes Índia (seis patentes), China (cinco patentes), EUA (cinco patentes), Austrália, Brasil, Japão e Nova Zelândia (uma patente cada).

Diversas são as fontes de bioinseticidas, a exemplo de micro-organismos entomopatogênicos, inimigos naturais dos insetos, e fontes botânicas, uma vez que as plantas desenvolveram e aperfeiçoaram uma diversidade considerável de mecanismos de defesa contra artrópodes herbívoros, a exemplo da produção de metabólitos secundários tóxicos. A respeito dos micro-organismos entomopatogênicos, estes podem ser fungos, bactérias, protozoários e nematoides (KAVALLIERATOS *et al.*, 2013; PINTO-ZEVALLOS *et al.*, 2013).

Neste estudo foram identificadas 20 patentes relacionadas a bioinseticidas contra *T. castaneum*, sendo 14 de origem botânica (70%), cinco de bactéria (25%) e uma de fungo (5%). Em relação aos organismos mencionados nessas invenções, tem-se, para plantas: extrato de *Chrysanthemum cinerariaefolium* (JP2020176105-A), extrato de semente de *Citrullus lanatus* (IN201304991-14), composto químico derivado de parte aérea

de *Artemisia pallens* (IN201402530-I1), composto químico derivado da casca de *Piper nigrum* maduro (CN105152877-A), composto químico derivado das folhas de *Lantana camara* (IN201204227-I4), composto químico derivado do caule de *Nothapodites foetida* (WO2012176145-A1), composto químico derivado de *Alpinia galanga* (IN200600397-I1), extrato de raiz de *Decalepis hamiltoni* (IN200500775-I1) e conversão termoquímica do fruto do *Syagrus coronata* (BR 10 2019 007434 5 A2).

Outros produtos de origem botânica referem-se a um *mix* de vegetais contendo, por exemplo: 1. *Sophora flavescens*, *Melia azedarach*, *Radix stemonae* e *Euphorbia fischeriana* (CN103098831-A); 2. Huangjing, folhas de eucalipto, peônia terrestre e pimenta (CN106490026A) e 3. *Fructus forsythia*, *Chenopodium ambrosioides*, *Cymbopogon citratus* e cravo-da-índia (CN106490058A). Quanto ao método de aplicação dos produtos de origem vegetal, observa-se que estes são, majoritariamente, aplicados diretamente nos grãos, a exemplo das patentes WO2012176145-A1, IN201304991-I4 e JP2020176105-A, ou por meio de biofumigação (WO2018141020-A1 e IN201402530-I1).

Os inseticidas à base de plantas, por serem naturais e orgânicos, podem caracterizar-se como alternativa eficaz para o controle de insetos-praga, sem representar muita ameaça à saúde humana e à deterioração da qualidade dos grãos. Nesse contexto, alguns estudos apresentam o potencial inseticida em sistema de grãos armazenados de vários extratos naturais de plantas, os quais podem auxiliar no manejo de pragas, repelindo os insetos, impedindo a alimentação e oviposição e, ao mesmo tempo, podendo atuar como inseticidas (AHMAD *et al.*, 2019).

Algumas patentes de bioinseticidas identificadas neste estudo utilizam extratos de plantas para o controle de *T. castaneum*, mas a literatura também aponta outra fonte de compostos bioativos derivados de plantas com potencial inseticida, sendo eles os óleos essenciais. Esses óleos são metabólitos secundários derivados de plantas aromáticas, caracterizados por misturas complexas de constituintes químicos com diferentes grupos funcionais (GAIRE; SCHARF; GONDHALEKAR, 2019).

Entre os estudos que comprovaram o potencial inseticida de alguns óleos essenciais de plantas, encontram-se aqueles contra espécies como *Acrobasis*

*advenella*, *Musca domestica*, *Culex quinquefasciatus*, *Podisus nigrispinus*, *Anopheles stephensi*, *Cimex lectularius* e outras (GAIRE; SCHARF; GONDHALEKAR, 2019; KATHER; GEDEN, 2019; LI; LAN; LIU, 2009; MAGIEROWICZ; GÓRSKA-DRABIK; SEMPRUCH, 2020; XU *et al.*, 2020). Entretanto, este estudo de prospecção não identificou patentes relacionadas ao uso de óleos essenciais contra *T. castaneum*. Tal fato, associado ao baixo número de patentes de bioinseticidas contra *T. castaneum*, quando comparado ao quantitativo de inseticidas químicos sintéticos, exemplifica a importância do desenvolvimento de estudos acerca de novas fontes de produtos naturais com potencial inseticida para controle desse inseto-praga.

Porém, ressalta-se que os estudos desenvolvidos precisam ser convertidos em patentes, considerando que estas são caracterizadas por serem instrumentos competitivos, uma vez que apenas a empresa detentora da patente pode explorar a tecnologia protegida, eliminando a concorrência, além de possibilitar a remuneração da pesquisa científica e do desenvolvimento tecnológico (ADRIANO; ANTUNES, 2017; FERREIRA; GUIMARÃES; CONTADOR, 2009).

No que concerne aos produtos originados de bactérias, foram identificadas cinco patentes relacionadas a diferentes endotoxinas produzidas pelo micro-organismo *Bacillus thuringiensis*, a exemplo de CryET29, CryET33 e CryET34 (CN111647058-A, PI 9711554-1 B1, PI 9713219-5 B1, AR010993A1 e WO9813497A1), enquanto o produto derivado de fungo não teve a identificação da espécie fúngica apresentada na descrição detalhada da patente (WO2014136070-A1), mas sua ação ocorre por meio da indução de infecção da planta com o endófito fúngico, que a torna mais resistente à ocorrência de pragas.

As patentes relacionadas às proteínas cristalinas, produzidas pela bactéria gram-positiva *B. thuringiensis*, demonstram o potencial de toxicidade dessas proteínas quando misturadas à dieta do inseto e apontam como vantagem do seu uso o fato de serem tóxicas para insetos-alvo específicos, mas inofensivas para plantas e outros organismos não alvos, apontando-as como inseticidas ambientalmente aceitáveis.

Por fim, as nove patentes envolvendo produtos transgênicos referem-se a tecnologias capazes de produzir plantas resistentes contra insetos-praga a

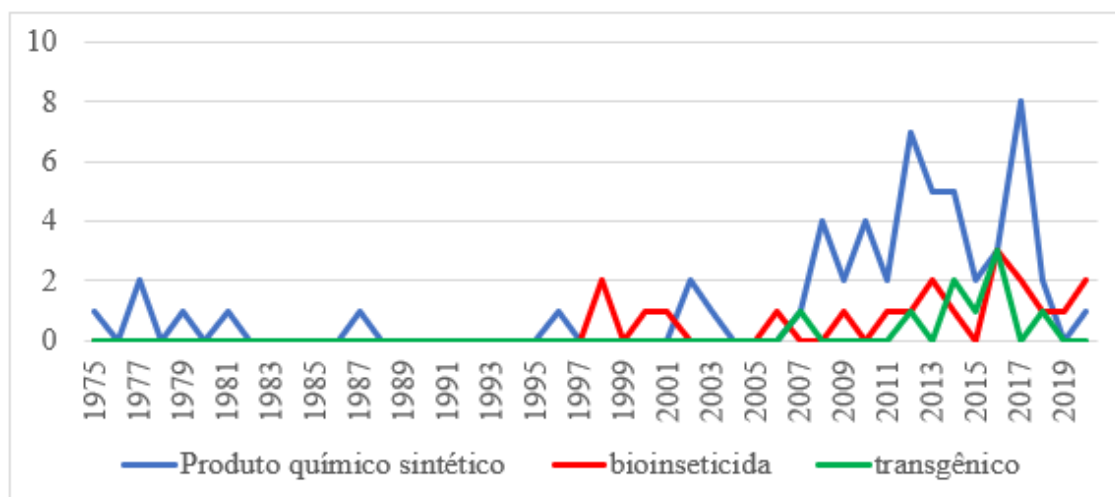
partir da transformação da célula vegetal por meio da introdução de molécula de ácido nucleico e posterior cultivo da planta obtida, a exemplo das patentes WO2018204398-A1, WO2016110691-A1, WO2014100878-A2 e WO2014100879-A2. Os documentos de patente analisados apontam como vantagem dessa tecnologia a possibilidade de produzir plantas capazes de promover alterações importantes no metabolismo dos insetos-alvo, por meio do silenciamento de genes induzido por hospedeiro, levando à morte.

A comercialização de plantas transgênicas iniciou em meados da década de 1990, porém ainda existem algumas preocupações por parte da comunidade científica quanto ao impacto ao meio ambiente, à biodiversidade e à saúde humana, a exemplo de sua possível alergenicidade e toxicidade. Em virtude disso, foram criados protocolos rigorosos de testagem de alimentos geneticamente modificados antes de sua comercialização e a adoção de rotulagem obrigatória desses alimentos para garantir a transparência para o consumidor final (LEE; HU; LEUNG, 2017; RUIZ; KNAPP; GARCIA-RUIZ, 2018).

Nesse contexto, a Organização Mundial da Saúde (OMS) afirma que não é possível fazer declarações gerais sobre a segurança dos alimentos transgênicos, de modo que a segurança deve ser avaliada caso a caso, e que os alimentos disponíveis no mercado internacional foram aprovados na avaliação de segurança, não tendo sido demonstrado nenhum efeito sobre a saúde humana como resultado do consumo desses alimentos pela população em geral (WHO, 2014).

A partir da análise da evolução anual dos depósitos de patente por tipo de produto inseticida, é possível perceber que a produção tecnológica de bioinseticidas e produtos transgênicos é mais recente que a produção de inseticidas químicos sintéticos, demonstrando que o desenvolvimento de resistência e os impactos para o meio ambiente e a saúde humana, produzidos por esses últimos, levaram a comunidade científica e de produção tecnológica a investirem na identificação de alternativas promissoras ao uso desses inseticidas químicos sintéticos. Os produtos transgênicos, mais recentemente, constituem a tecnologia mais produzida com essa finalidade (Gráfico 4).

Gráfico 4 – Evolução anual dos depósitos de patente por tipo de produto inseticida contra *T. castaneum*.



Fonte: Elaborado pelos autores deste artigo (2021).

#### 4 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Por meio do desenvolvimento deste estudo de prospecção tecnológica, foi possível identificar patentes de produtos inseticidas eficazes para o controle de *T. castaneum* em grãos armazenados, sendo classificadas em três grandes grupos: produtos químicos sintéticos, bioinseticidas e produtos transgênicos. Os inseticidas químicos sintéticos surgiram em maior número, porém tiveram sua produção reduzida a partir do ano de 2018, fato que pode estar relacionado aos impactos negativos que esses inseticidas provocam ao meio ambiente e à saúde humana.

A preocupação da comunidade científica e de produção tecnológica com os impactos provocados ao meio ambiente pela utilização de inseticidas químicos sintéticos resultou na busca por produtos reconhecidamente seguros, apontando que os inseticidas com baixo ou nenhum impacto ambiental se mostram como diferenciais de mercado e orientam o futuro desse setor, apesar de ser uma área ainda pouco explorada para o controle de *T. castaneum*, havendo evidências na literatura de outras fontes para identificação desses produtos que ainda não foram exploradas, a exemplo dos óleos essenciais produzidos por plantas aromáticas.

Por fim, o continente asiático surge como importante produtor de tecnologias para o controle de *T. castaneum*, podendo estar relacionado com sua demanda de consumo de alimento e redução de terras agricultáveis, e a ferramenta Derwent mostrou-se relevante para a realização de estudos de prospecção tecnológica, uma vez que possibilita o acesso a diversas patentes de invenção, a exemplo da maioria das patentes identificadas por meio deste estudo.

## 5 PERSPECTIVAS FUTURAS

Espera-se o desenvolvimento de novas tecnologias eficazes para controle de *T. castaneum* em grãos armazenados, com ênfase para o controle de insetos resistentes aos principais grupos de inseticidas utilizados na atualidade. As tendências do mercado apontam para a necessidade de oferta de inseticidas de origem natural, por representarem baixo ou nenhum impacto ao ambiente e à saúde humana ou para a deterioração dos grãos. As plantas surgem como fontes atrativas e eficazes para a identificação dessas novas tecnologias, uma vez que apresentam muitos constituintes tóxicos para herbívoros e com baixo impacto ambiental.

Porém, é imprescindível que o desenvolvimento de estudos para identificação de biotecnologias seguras e eficazes para controle de insetos-praga se revertam em registro de propriedade intelectual, uma vez que as patentes favorecem a competitividade empresarial e possibilitam o retorno financeiro da pesquisa científica e de desenvolvimento tecnológico.

## REFERÊNCIAS

ADRIANO, E.; ANTUNES, M. T. P. Proposta para Mensuração de Patentes. **Revista de Administração Contemporânea**, Curitiba, v. 21, n. 1, p. 126-141, jan.-fev. 2017.

AHMAD, F. *et al.* Comparative insecticidal activity of different plant materials from six common plant species against *Tribolium castaneum* (Herbst) (Coleoptera: Tenebrionidae). **Saudi Journal of Biological Sciences**, [s.l.], v. 26, n. 7, p. 1.804-1.808, Nov. 2019.



- AJAHA, A. *et al.* Effect of 20-Hydroxyecdysone, a Phytoecdysteroid, on Development, Digestive, and Detoxification Enzyme Activities of *Tribolium castaneum* (Coleoptera: Tenebrionidae). **Journal of Insect Science**, [s.l.], v. 19, n. 5, p. 1-6, Oct. 2019.
- ALCALA-OROZCO, M.; CABALLERO-GALLARDO, K.; STASHENKO, E. E.; OLIVERO-VERBEL, J. Repellent and Fumigant Actions of the Essential Oils from *Elettaria cardamomum* (L.) Maton, *Salvia officinalis* (L.) Linnaeus, and *Lippia organoides* (V.) Kunth Against *Tribolium castaneum* and *Ulomoides dermestoides*. **Journal of Essential Oil Bearing Plants**, [s.l.], v. 22, n. 1, p. 18-30, Mar. 2019.
- AL-SHWELLY, A. A. N.; AL-GIZY, S. T. A. Contamination with Aerobic Bacteria Accompanying to Seeds of *Triticum Aestivum*. L that are Stored and Infected with Different Numerical Levels of Rusty Flour Beetle Insect *Tribolium castaneum* (Herbst) Coleoptera: Tenebrionidae. **Annals of the Romanian Society for Cell Biology**, [s.l.], v. 25, n. 4, p. 959-97, Apr. 2021.
- ATTIA, M. A. *et al.* Stored grain pest prevalence and insecticide resistance in Egyptian populations of the red flour beetle *Tribolium castaneum* (Herbst) and the rice weevil *Sitophilus oryzae* (L.). **Journal of Stored Products Research**, [s.l.], v. 87, May 2020.
- BERINE, F. *et al.* Microbial and viral chitinases: Attractive biopesticides for integrated pest management. **Biotechnology Advances**, [s.l.], v. 36, n. 3, p. 818-838, May-Jun. 2018.
- BERNARDES, J. R.; CALVENTE, M. C. M. H. Imigração japonesa e relação com a terra: estudo em Assaí-PR. **Boletim de Geografia.**, Maringá, v. 32, n. 1, p. 17-34, jan.-abr. 2014.
- BRARI, J.; THAKUR, D. R. Larvicidal effects of eight essential oils against *Plodia interpunctella* and *Tribolium castaneum*, serious pests of stored products worldwide. **Journal of Entomology and Zoology Studies**, [s. l.], v. 6, n. 5, p. 738-742, 2018.
- CLARIVATE. **Plataforma Web of Science**: Derwent Innovations Index. 2021. Disponível em: <https://clarivate.libguides.com/webofscienceplatform/dii> Acesso em: 07 jan. 2021.

EBADOLLAHI, A.; SETZER, W. N. Evaluation of the Toxicity of *Satureja intermedia* C. A. Mey Essential Oil to Storage and Greenhouse Insect Pests and a Predator Ladybird. **Foods**, [s.l.], v. 9, n. 712, p. 1-12, Jun. 2020. ECONOMIC REPORT. **Asia-pacific: agricultural perspectives**. Utrecht: Rabobank, 2016.

EPO – EUROPEAN PATENT OFFICE. **Pesquisa de patentes Espacenet**. 2021. Disponível em: <https://www.epo.org/searching-for-patents/technical/espacenet.html> Acesso em: 7 jan. 2021.

FAO – FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION OF THE UNITED NATIONS. Crops. **FAOSTAT**, 2021. Disponível em: <http://www.fao.org/faostat/en/#data/QC>. Acesso em: 5 jun. 2021.

FERREIRA, A. A.; GUIMARÃES, E. R.; CONTADOR, J. C. Patente como instrumento competitivo e como fonte de informação tecnológica. **Gestão e Produção**, São Carlos, v. 16, n. 2, p. 209-221, abr.-jun. 2009.

GAIRE, S.; SCHARF, M. E.; GONDHALEKAR, A. D. Toxicity and neurophysiological impacts of plant essential oil components on bed bugs (Cimicidae: Hemiptera). **Scientific Reports**, [s.l.], v. 9, n. 2.961, p. 1-12, 2019.

GAO, S. *et al.* Insecticidal Activity of *Artemisia vulgaris* Essential Oil and Transcriptome Analysis of *Tribolium castaneum* in Response to Oil Exposure. **Frontiers in genetics**, [s.l.], v. 11, n. 589, p. 1-19, June, 2020.

GHARSAN, F. *et al.* Toxicity of five plant oils to adult *Tribolium castaneum* (Coleoptera: Tenebrionidae) and *Oryzaephilus surinamensis* (Coleoptera: Silvanidae). **Florida Entomologist**, [s.l.], v. 101, n. 4, p. 592-596, 2018.

HAOUEL-HAMDI, S. *et al.* Susceptibility of *Tribolium castaneum* to *Laurus nobilis* essential oil and assessment on semolina quality. **International Journal of Tropical Insect Science**, [s.l.], v. 40, p. 667-675, 2020.

HASHEM, A. *et al.* Pimpinella anisum Essential Oil Nanoemulsion Toxicity against *Tribolium castaneum*? Shedding Light on Its Interactions with Aspartate Aminotransferase and Alanine Aminotransferase by Molecular Docking. **Molecules**, [s.l.], v. 25, n. 20, p. 1-17, 2020.

HASSAN, A. M.; SILEEM, T. M.; HASSAN, R. S. Verification of atmospheric plasma irradiation as an alternative control method for *Tribolium castaneum*

(Herbst). **Brazilian Journal of Biology**, [s.l.], v. 80, n. 3, p. 673-679, jul.-set. 2020.

HU, A. G. Z.; PENG, Z.; LIJING, Z. China as Number One? Evidence from China's most recent patenting surge. **Journal of Development Economics**, [s.l.], v. 124, p. 107-119, Jan. 2017.

INPI – INSTITUTO NACIONAL DA PROPRIEDADE INDUSTRIAL. 2021. Disponível em: <https://dados.gov.br/organization/about/instituto-nacional-da-propriedade-industrial-inpi> Acesso em: 7 jan. 2021.

JULIO, A. H. F. *et al.* Multiple resistance to pirimiphos-methyl and bifenthrin in *Tribolium castaneum* involves the activity of lipases, esterases, and laccase2. **Comparative Biochemistry and Physiology**, [s.l.], v. 195, p. 27-43, May, 2017.

JUNG, J. M. *et al.* Estimating economic damage to cocoa bean production with changes in the spatial distribution of *Tribolium castaneum* (Herbst) (Coleoptera: Tenebrionidae) in response to climate change. **Journal of Stored Products Research**, [s.l.], v. 89, p. 1-9, Dec. 2020.

KATHER, H. F.; GEDEN, C. J. Efficacy and repellency of some essential oils and their blends against larval and adult house flies, *Musca domestica* L. (Diptera: Muscidae). **Journal of Vector Ecology**, [s.l.], v. 44, n. 2, p. 256-263, Dec. 2019.

KAVALLIERATOS, N. G. *et al.* Evaluation of the Entomopathogenic Fungi *Beauveria bassiana*, *Metarhizium anisopliae*, and *Isaria fumosorosea* for Control of *Sitophilus oryzae*. **Journal of Food Protection**, [s.l.], v. 77, n. 1, p. 87-93, 2014.

LEE, T. H.; HU, H. K.; LEUNG, T. F. Genetically modified foods and allergy. **Hong Kong medical journal**, [s.l.], v. 23, n. 3, p. 291-295, Jun. 2017.

LI, T.; LAN, Q.; LIU, N. Larvicidal Activity of Mosquito Sterol Carrier Protein-2 Inhibitors to the Insecticide-Resistant Mosquito *Culex quinquefasciatus* (Diptera: Culicidae). **Journal of Medical Entomology**, [s.l.], v. 46, n. 6, p. 1430-1435, Nov. 2009.

MAGIEROWICZ, K.; GÓRSKA-DRABIK, E.; SEMPRUCH, C. The effect of *Tanacetum vulgare* essential oil and its main components on some ecological

and physiological parameters of *Acrobasis advenella* (Zinck.) (Lepidoptera: Pyralidae). **Pesticide Biochemistry and Physiology**, [s.l.], v. 162, p. 105-112, Jan. 2020.

MOSSA, A. T. H.; MOHAFRASH, S. M. M.; CHANDRASEKARAN, N. Safety of Natural Insecticides: Toxic Effects on Experimental Animals. **Biomed Research International**, [s.l.], n. 4308054, p. 1-17, Oct. 2018.

MUNESUE, Y.; MASUI, T.; FUSHIMA, T. The effects of reducing food losses and food waste on global food insecurity, natural resources, and greenhouse gas emissions. **Environmental Economics and Policy Studies**, [s.l.], v. 17, p. 43-77, May, 2014.

MUŽINIĆ, V.; ŽELJEŽIĆ, D. Non-target toxicity of novel insecticides. **Arhiv za Higijenu Rada i Toksikologiju**, [s.l.], v. 69, p. 86-102, June, 2018.

OPIT, G. P. *et al.* Phosphine Resistance in *Tribolium castaneum* and *Rhyzopertha dominica* From Stored Wheat in Oklahoma. **Journal of Economic Entomology**, [s.l.], v. 105, n. 4, p. 1.107-1.114, Aug. 2012.

PARANHOS, R. C. S.; RIBEIRO, N. M. Importância da Prospecção Tecnológica em Base de Patentes e seus Objetivos da Busca. **Cadernos de Prospecção**, Salvador, v. 11, n. 5, p. 1.274-1.292, dez. 2018.

PHANKAEN, Y. *et al.* Toxicity and repellent action of *Coffea arabica* against *Tribolium castaneum* (Herbst) adults under laboratory conditions. **Journal of Stored Products Research**, [s.l.], v. 71, p. 112-118, Mar. 2017.

PINTO-ZEVALLOS, D. P. *et al.* Compostos orgânicos voláteis na defesa induzida das plantas contra insetos herbívoros. **Química Nova**, São Paulo, v. 36, n. 9, p. 1.395-1.405, 2013.

RUIZ, M. T. G.; KNAPP, A. N.; GARCIA-RUIZ, H. Profile of genetically modified plants authorized in Mexico. **GM Crops and Food**, [s.l.], v. 9, n. 3, p. 152-168, Nov. 2018.

SOBRAL, N. V.; MIRANDA, Z. D.; SILVA, F. M. Estratégia para a recuperação de informação científica sobre as doenças tropicais negligenciadas: análise comparativa da Scopus, PubMed e Web of Science. **Revista Cubana de Información en Ciencias de la Salud**, [s.l.], v. 29, n. 1, p. 35-53, Ene.-Mar. 2018.

SOUTH, A.; HASTINGS, I. M. Insecticide resistance evolution with mixtures and sequences: a model-based explanation. **Malaria Journal**, [s.l.], v. 17, n. 80, p. 1-20, Feb. 2018.

UPADHYAY, N. *et al.* Assessment of *Melissa officinalis* L. essential oil as an eco-friendly approach against biodeterioration of wheat flour caused by *Tribolium castaneum* Herbst. **Environmental Science and Pollution Research**, [s.l.], v. 26, n. 14, p. 14036-14049, May 2019.

WHO – WORLD HEALTH ORGANIZATION. **Food, genetically modified**, 2014. Disponível em: <https://www.who.int/news-room/q-a-detail/food-genetically-modified> Acesso em: 6 jun. 2021.

WIPO – WORLD INTELLECTUAL PROPERTY ORGANIZATION. **Publicação IPC: versão 2020.1**. 2021. Disponível em: <http://ipc.inpi.gov.br/classifications/ipc/ipcpub/?notion=scheme&version=20200101&symbol=none&menulang=pt&lang=pt&viewmode=f&fipcpc=no&showdeleted=yes&indexes=no&headings=yes&notes=yes&direction=o2n&initial=A&cwid=none&tree=no&searchmode=smart> Acesso em: 8 jan. 2021.

WIPO – WORLD INTELLECTUAL PROPERTY ORGANIZATION. **World Intellectual Property Indicators 2018**. Geneva: WIPO, 2018.

XU, Y. *et al.* Chemical composition and larvicidal activities of essential oil of *Cinnamomum camphora* (L.) leaf against *Anopheles stephensi*. **Journal of the Brazilian Society of Tropical Medicine**, [s.l.], v. 53, p. 1-5, 2020.

**CAPÍTULO II – Caracterização química e bioatividade  
dos óleos essenciais de *Croton tricolor* Klotzsch ex  
Baill. (Euphorbiaceae) sobre *Tribolium castaneum*  
Herbst. (Coleoptera: Tenebrionidae)**

---

**CARACTERIZAÇÃO QUÍMICA E BIOATIVIDADE DOS ÓLEOS ESSENCIAIS  
DE *C. tricolor* Klotzsch ex Baill. (Euphorbiaceae) SOBRE *T. castaneum*  
Herbst. (Coleoptera: Tenebrionidae)**

**RESUMO**

*Tribolium castaneum* Herbst. (Coleoptera: Tenebrionidae) é uma das pragas mais destrutivas de produtos armazenados, sendo combatido majoritariamente com produtos químicos sintéticos. Os inseticidas botânicos mostram-se como alternativa promissora para o controle de pragas agrícolas, pois geralmente são seguros para organismos vivos e meio ambiente. Este estudo avaliou a repelência e toxicidade de contato dos óleos essenciais de ramos e folhas de *Croton tricolor* Klotzsch ex Baill. (Euphorbiaceae) sobre adultos e larvas desse inseto-praga. Os óleos essenciais de *C. tricolor* apresentaram rendimento de 0,20% para ramos e 0,66% para folhas. A análise por cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massas revelou 90 compostos químicos presentes nesses óleos essenciais, em especial Cariofileno (11,64%), Espatuleno (11,60%) e  $\gamma$ -Elemeno (11,47%) para folhas e Guaiol (9,02%),  $\beta$ -Elemeno (7,63%) e Dihidroagarofurano (7,20%) para ramos. O ensaio de repelência identificou alto percentual de repelência para os óleos essenciais, com classe IV para ramos em todos os tempos de exposição e classe V para folhas nos tempos de 30 e 60 minutos. Em toxicidade de contato o óleo de ramos apresentou DL<sub>50</sub> após 24 horas de exposição de 0,151 mg/larva e 0,092 mg/adulto e o óleo de folhas 0,262 mg/larva e 0,219 mg/adulto, demonstrando que *T. castaneum* é mais sensível aos efeitos deletérios do óleo de folhas e que as larvas são mais resistentes que os adultos em toxicidade por contato. Os resultados deste estudo demonstram que os óleos essenciais de *C. tricolor* são alternativas promissoras para o controle do inseto-praga *T. castaneum* em produtos armazenados.

**Palavras-chave:** *Croton tricolor*. Óleo essencial. *Tribolium castaneum*. Atividade inseticida. Atividade repelente.

## 1 INTRODUÇÃO

A preocupação com os efeitos deletérios para o meio ambiente e saúde humana provocados pelo uso de inseticidas químicos sintéticos na produção agrícola tem crescido ao longo dos anos, uma vez que estudos apontam que o uso extensivo e indiscriminado desses inseticidas é responsável por provocar bioacumulação de produtos tóxicos nos corpos de predadores e consumidores finais, incluindo humanos, além de poluição ambiental e resistência do organismo alvo (RODRIGUES *et al.*, 2021).

Nessa corrente, ampliaram-se as buscas por tecnologias ecologicamente corretas para o controle de insetos-praga, como *Tribolium castaneum* Herbst. (Coleoptera: Tenebrionidae), que é considerado uma das pragas mais destrutivas de produtos armazenados, alimentando-se particularmente de cereais, sementes oleaginosas, farinha, especiarias e produtos à base de trigo. Porém, essa espécie ainda é majoritariamente combatida através do uso de compostos organofosforados e carbamatos (MUSTAPHA *et al.*, 2020).

Os organofosforados, por exemplo, estão entre os produtos químicos sintéticos mais detectados no meio ambiente, bem como em tecidos animais e humanos. A exposição a esses inseticidas está associada à efeitos deletérios para a saúde humana, como distúrbios neurológicos e psiquiátricos a longo prazo, incluindo deficiências na atenção, memória e outros domínios da cognição, e mesmo na exposição de baixo nível pode estar associada a fraqueza muscular e dormência em agricultores expostos (HONGSIBSONG; SITTITON; SAPBAMRER, 2017; NAUGHTON; TERRY JR., 2018).

Os inseticidas botânicos mostram-se como alternativa promissora para o controle de pragas agrícolas, pois tendem a possuir atividade de amplo espectro, são relativamente específicos em seu modo de ação e geralmente são seguros para organismos vivos e meio ambiente. Dentre eles encontram-se os óleos essenciais de plantas, uma classe de produtos naturais que são sintetizados através das vias metabólicas secundárias, sendo responsáveis pelo sabor e aroma específicos das plantas aromáticas (LIANG *et al.*, 2021; WANG *et al.*, 2019).

O gênero *Croton* é rico em plantas aromáticas, indicando a presença de constituintes voláteis bioativos em seus óleos essenciais, para os quais foram



descritas atividade antiespasmódica, antifúngica, antibacteriana, anti-inflamatória, antinociceptiva e cicatrizante, além de atividade larvicida contra *Aedes aegypti* (CAVALCANTI *et al.*, 2012; CUCHO-MEDRANO *et al.*, 2021; HAJHASHEMI; ZOLFAGHARI; AMIN, 2021; LIMA *et al.*, 2020; RODRIGUES *et al.*, 2019; SANTOS *et al.*, 2014; VALAREZO *et al.*, 2021). Dentre as plantas aromáticas desse gênero encontra-se a espécie *Croton tricolor* Klotzsch ex Baill. (Euphorbiaceae), nativa e amplamente distribuída na América do Sul, para a qual não existem relatos de estudos sobre a bioatividade contra pragas de produtos armazenados.

Neste estudo, os compostos químicos dos óleos essenciais de folhas e ramos de *C. tricolor* foram analisados por cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massa e foram avaliadas quanto às atividades repelente e inseticida contra *T. castaneum*.

## 2 MATERIAL E MÉTODOS

### 2.1 Material vegetal

Ramos e folhas da espécie *C. tricolor* foram coletados de diferentes espécimes no Assentamento Gastone Beltrão, localizado no município Olho d'Água do Casado, Alagoas, Brasil, coordenadas geográficas 9°30'59.7"S 37°50'56.4"W, mediante autorização de coleta/transporte de material botânico concedido pelo Sistema de Autorização e Informação em Biodiversidade (SISBIO) do Ministério do Meio Ambiente do Brasil sob número 81042 (anexo 1), no mês de dezembro de 2019. A identificação da espécie foi realizada pelos pesquisadores do Herbário MAC, do Instituto do Meio Ambiente do Estado de Alagoas (IMA) (anexo 2).

A amostra vegetal coletada foi armazenada sob refrigeração em saco hermético transparente Ziploc® (produzido por SCJohnson em polietileno, livre de impurezas) e conduzida ao Laboratório de Farmacognosia do Instituto de Ciências Farmacêuticas da Universidade Federal de Alagoas, no qual foi feita a separação de ramos e folhas. Posteriormente, as amostras foram trituradas separadamente e mantidas em refrigeração até extração dos óleos essenciais.

Para desenvolvimento da pesquisa, essa foi cadastrada no Sistema Nacional de Gestão de Patrimônio Genético e do Conhecimento Tradicional

Associado (SisGen) do Ministério do Meio Ambiente do Brasil sob número de cadastro AE02540 (anexo 3).

## 2.2 Extração do óleo essencial

Para extração dos óleos essenciais, ramos e folhas trituradas de *C. tricolor* (200 g e 120 g, respectivamente), foram submetidos separadamente à hidrodestilação em equipamento Clevenger. O início da destilação foi marcado pela ebulição do solvente (1.000 ml de água deionizada) e teve duração de cinco horas. A fase oleosa foi separada da fase aquosa utilizando um funil de separação e a água residual foi removida adicionando sulfato de sódio anidro.

Os óleos essenciais foram armazenados em frascos de vidro âmbar e mantidos em freezer (-1°C a -4°C). Os volumes dos óleos essenciais foram registrados e o rendimento (%) calculado através da fórmula:

$$\text{Rendimento (\%)} = (V_{oe}/M_p),$$

onde  $V_{oe}$  refere-se ao volume do óleo essencial obtido e  $M_p$  à massa da planta fresca para extração.

## 2.3 Cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massas (CG-EM)

As amostras foram analisadas no laboratório do Instituto Federal de Alagoas (IFAL) por cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massas utilizando equipamento CG-MS QP2010 ultra (Shimadzu, Kyoto, Japan), equipado com injetor e coluna capilar ZB-5HT (comprimento: 30m; diâmetro: 0,32mm; espessura: 0,10µm). A temperatura do forno foi mantida a 35°C por 10 minutos e depois aumentada para 180°C a uma velocidade de aquecimento de 3°C/minuto e mantida a 180°C por mais 10 minutos. A temperatura do aquecedor de íons e da interface foi 250°C. O hélio foi utilizado como gás de transporte em fluxo de 3,90 ml/min com um volume de injeção de 1µL de solução Hexano HPLC a 2% no modo split 1:30. A identificação dos compostos foi realizada por comparação dos seus tempos de retenção e espectros de massas com as bibliotecas de espectro de massas NIST14, NIST14s e Wiley9.

## 2.4 Insetos

Adultos jovens (até 07 dias) e larvas não sexados de *T. castaneum* foram coletados da cultura mantida pelo Laboratório de Bioquímica Metabólica do

Instituto de Ciências Farmacêuticas da Universidade Federal de Alagoas, na qual eles foram criados em meio de cultura de farinha de trigo (umidade: 72% a 76%, temperatura: 23°C a 29°C, ciclo claro-escuro: 12 horas).

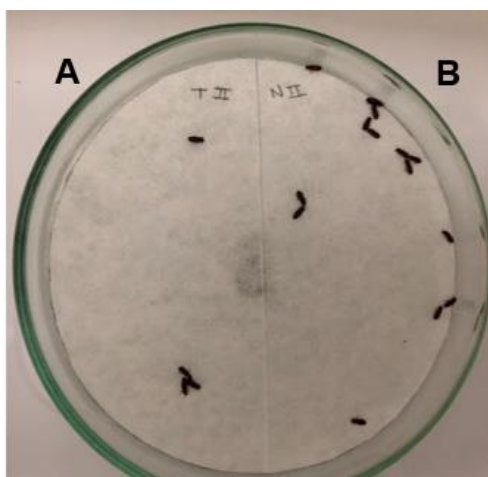
## 2.5 Ensaio de repelência

A avaliação do potencial de repelência dos óleos essenciais de *C. tricolor* contra adultos de *T. castaneum* foi desenvolvida com base no método de preferência de área proposto por Baccari e colaboradores (2020). Para tanto, os óleos essenciais de ramos e folhas foram colocados em discos circulares de 9 cm de papel filtro, cortados em semicírculos.

Foi preparada uma solução de 4  $\mu\text{L}$  de óleo essencial diluído em 1 ml de acetona e uma medida de 0,5 mL da solução foi distribuída uniformemente no primeiro semicírculo, resultando numa concentração aproximada de 0,06  $\mu\text{L}/\text{cm}^2$  (0,4%, v/v), e a outra metade foi mergulhada em 0,5 mL de acetona, atuando como controle.

Os papéis filtro foram secos por 10 minutos e fixados no fundo de uma placa de Petri com o auxílio de fita dupla face. Então, 20 insetos adultos jovens (até 07 dias) não sexados foram depositados no meio do disco de papel filtro e o número de insetos em cada metade foi registrado após 15, 30, 60 e 120 minutos (Figura 1). O teste foi realizado em cinco réplicas e o repelente DEET (N,N-Dietil-m-toluamida) 15% (CIMED, São Paulo, Brasil) foi utilizado como controle positivo numa concentração aproximada de 2,36  $\mu\text{L}/\text{cm}^2$ .

Figura 1 – Ilustração do bioensaio de preferência de área com *T. castaneum*.



A: semicírculo tratado com óleo essencial diluído em acetona; B: semicírculo controle (acetona). Imagem registrada minutos após o depósito de 20 insetos no centro do disco de papel filtro.

Fonte: dados da pesquisa, 2022.

O Percentual de Repelência (PR) em cada tempo foi calculado pela seguinte fórmula:

$$PR (\%) = [(Nc - Nt)/(Nc + Nt)] \times 100,$$

onde Nc refere-se ao número de adultos no semicírculo controle e Nt ao número no semicírculo tratado com óleo essencial. Os valores obtidos no teste foram analisados com base nas classes de PR propostas por McDonald e colaboradores (1970) apresentados na Quadro 1.

Quadro 1 - Classes de Percentual de Repelência.

CLASSE	PERCENTUAL DE REPELÊNCIA (%)
0	> -0,1 a < 0,1
I	0,1 a 20
II	20,1 a 40
III	40,1 a 60
IV	60,1 a 80
V	80,1 a 100

Fonte: MCDONALD *et al.*, 1970.

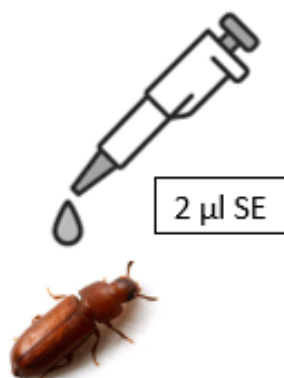
## 2.6 Toxicidade de contato

Para o desenvolvimento do bioensaio de toxicidade de contato contra *T. castaneum*, larvas e adultos jovens foram tratados com concentrações de 1, 5 e 10% de óleo essencial de folhas e ramos de *C. tricolor*. Dez insetos foram coletados em placas de Petri e mantidos no freezer por 1 minuto, a fim de reduzir a mobilidade dos mesmos e tornar seu manuseio mais fácil (DEB; KUMAR, 2020).

Preparou-se a solução de óleo essencial diluído em acetona, nas concentrações acima mencionadas, e uma alíquota de 2,0 µL desta solução foi aplicada topicamente à região mesotorácica dos insetos (Figura 2). Após 2 minutos da exposição eles foram transferidos para recipientes plásticos contendo farinha de trigo como meio de cultura e a mortalidade foi registrada em 24, 48 e 72 horas. Por sua vez, o controle do ensaio foi realizado com acetona em mesma metodologia e cada teste foi realizado em triplicata. Para identificação de DL<sub>50</sub> e DL<sub>90</sub> foram utilizadas as concentrações de 1, 2,5, 5, e 10% de óleo essencial de folhas de *C. tricolor* (OEFCT) e 1, 5, 10, 15 e 20% de

óleo essencial de ramos de *C. tricolor* (OERCT), com base na realização dos bioensaios iniciais.

Figura 2 – Ilustração do bioensaio de toxicidade de contato com *T. castaneum*.



SE = solução estoque (óleo essencial diluído em acetona).  
Fonte: dados da pesquisa, 2022.

## 2.7 Análise estatística

As análises estatísticas foram realizadas utilizando o software SPSS® statistics (versão: 28.0.0.0). Após verificação dos parâmetros de homogeneidade e normalidade das variâncias, foi aplicado o teste não-paramétrico Wilcoxon para comparação entre grupos e qui-quadrado para análise de associação entre variáveis categóricas. Em todos os casos, foi considerado nível de significância mínimo com valor  $p < 0,05$ . Os dados de mortalidade ao longo de 72 horas foram utilizados para traçar a curva de sobrevivência de Kaplan-Meier. Para cálculo de  $DL_{50}$  e  $DL_{90}$ , os resultados de todas as réplicas foram empregados em análise probit.

## 3 RESULTADOS

### 3.1 Rendimento dos óleos essenciais de ramos e folhas de *C. tricolor*

A partir do método de hidrodestilação dos ramos e folhas frescas de *C. tricolor* foram obtidos óleos essenciais de coloração amarelo límpido, com rendimento de 0,20% para ramos e 0,66% (v/m) para folhas (Tabela 1).

Tabela 1 - Rendimento dos óleos essenciais de *C. tricolor*.

Óleo essencial	M <sub>p</sub> (g) <sup>a</sup>	V <sub>oe</sub> (ml) <sup>b</sup>	Rendimento <sup>c</sup>
OEFCT	120	0,8	0,66
OERCT	200	0,4	0,20

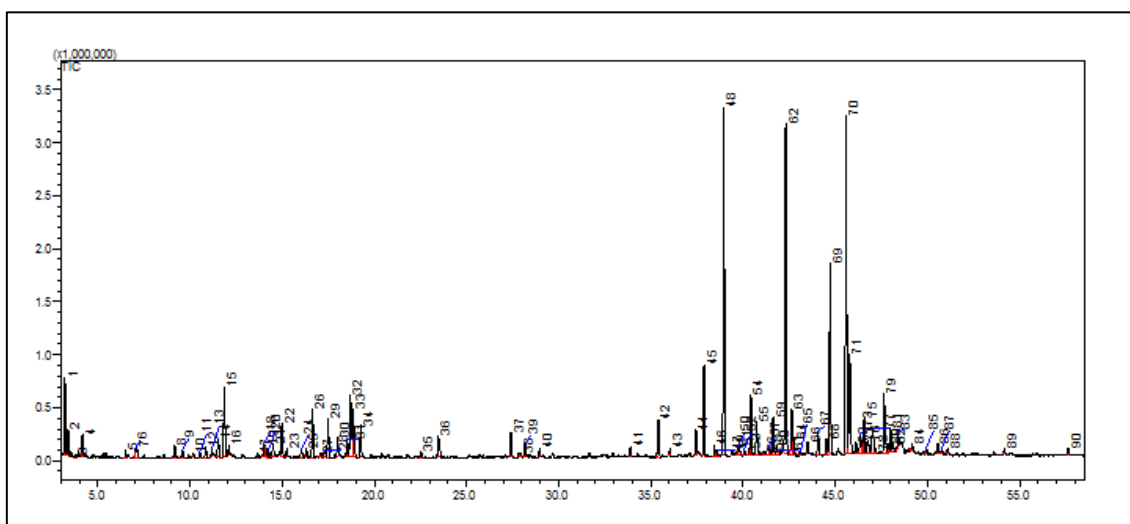
OEFCT = óleo essencial de folhas de *C. tricolor*; OERCT = óleo essencial de ramos de *C. tricolor*. Os resultados referem-se a: <sup>a</sup>Massa de planta fresca para extração. <sup>b</sup>Volume de óleo essencial obtido. <sup>c</sup>Rendimento (% v/m).

### 3.2 Composição química dos óleos essenciais de ramos e folhas de *C. tricolor*

Através da metodologia utilizada foi possível identificar 90 compostos (83,11% do OEFCT e 81,43% do OERCT), sendo 29 presentes apenas no OEFCT (32,2%), 33 apenas no OERCT (36,7%) e 28 compostos presentes em ambos (31,1%). Os cromatogramas dos óleos essenciais de *C. tricolor* extraídos por hidrodestilação são apresentados nas figuras 3 e 4 e a composição química dos óleos essenciais de folhas e ramos é apresentada na Tabela 2.

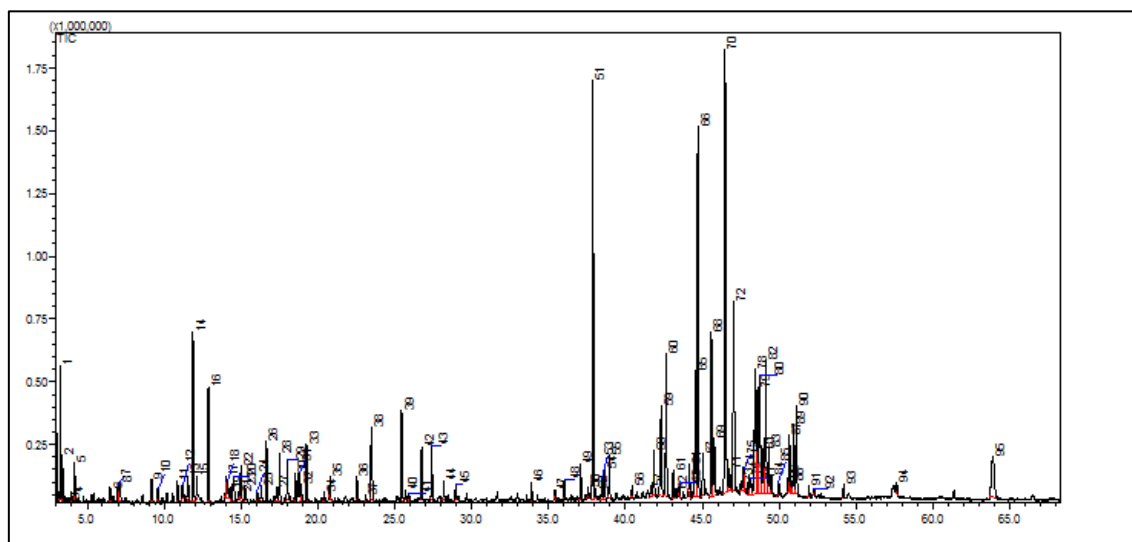
Os principais compostos incluíram Cariofileno (11,64%), Espatuleno (11,60%) e  $\gamma$ -Elemeno (11,47%) para folhas e Guaiol (9,02%),  $\beta$ -Elemeno (7,63%) e Dihidroagarofurano (7,20%) para ramos (Figura 5), demonstrando a prevalência de sesquiterpenos na constituição química desses óleos essenciais. Entre os componentes, 62,89% do OEFCT é constituído por sesquiterpenos e 16,17% por monoterpenos, enquanto no OERCT encontram-se 55,52% de sesquiterpenos e 19,54% de monoterpenos.

Figura 3 – Cromatograma de fluxo iônico total de CG-EM de óleo essencial de folhas de *C. tricolor* extraído por hidrodestilação.



Fonte: dados da pesquisa (2022).

Figura 4 - Cromatograma de fluxo iônico total de CG-EM de óleo essencial de ramos de *C. tricolor* extraído por hidrodestilação.



Fonte: dados da pesquisa (2022).

Tabela 2 – Composição química dos óleos essenciais de *C. tricolor* extraídos por hidrodestilação.

No.	Compostos	OEFCT		OERCT	
		TR	PR (%)	TR	PR (%)
1	Octano	4.169	0,46		
2	2-Metileno ciclopentanol	6.487	0,25		
3	Nonano	9.587	0,29	9.608	0,25
4	Ácido acetoacético	10.533	0,15		
5	$\alpha$ -Tujeno	11.537	0,75	11.550	0,55
6	(+)- $\alpha$ -Pineno	11.864	2,83	11.877	3,84
7	Canfeno			12.882	2,51
8	Ciclohexanometanol	14.493	0,61		
9	$\beta$ -Pineno	14.984	1,22	15.003	0,73
10	1-acetil-1,2-epoxi-ciclopentano			15.257	0,25
11	1-Octan-3-ol	16.040	0,31	16.055	0,15
12	Mesitileno	16.318	0,23	16.328	0,28
13	$\beta$ -Mirceno	16.653	1,73	16.661	1,23
14	Pseudolimoneno	17.083	0,17		
15	Undecano	17.316	0,27	17.326	0,27
16	3-Careno	17.499	1,36	17.508	0,96
17	$\alpha$ -Linalol			18.009	0,76
18	o-Cimeno	18.532	0,57	18.538	0,48
19	$\beta$ -Felandreno	18.706	2,89		
20	D-Limoneno			18.783	1,02
21	Eucaliptol	18.865	1,88	18.914	0,34
22	(Z)- $\beta$ -Ocimeno			20.407	0,15
23	$\gamma$ -Terpineno			20.791	0,37
24	(-)-Car-4-eno			22.530	0,45
25	2-Careno	22.532	0,22		
26	Hidrato de cis-Sabineno			23.121	0,10
27	Linalol	23.481	0,93	23.481	1,63

OEFCT = óleo essencial de folhas de *C. tricolor*; OERCT = óleo essencial de ramos de *C. tricolor*; TR = tempo de retenção; PR = porcentagem relativa.

Tabela 2 – Composição química dos óleos essenciais de *C. tricolor* extraídos por hidrodestilação.

No.	Compostos	OEFCT		OERCT	
		TR	PR (%)	TR	PR (%)
28	Cânfora			25.444	1,63
29	Borneol			26.745	0,89
30	Terpinen-4-ol	27.413	0,85	27.404	1,00
31	p-Cimeno-8-ol	27.944	0,13		
32	$\alpha$ -Terpineol	28.179	0,45	28.183	0,33
33	Dodecano	28.964	0,28		
34	Tridecano			33.894	0,36
35	Pentadecano	33.896	0,32		
36	$\delta$ -Elemeno	35.410	1,36	35.406	0,16
37	Acetato de $\alpha$ -terpenila	36.029	0,19	36.030	0,32
38	$\alpha$ -Copaeno			37.085	0,65
39	(-)- $\beta$ -Bourboneno	37.451	0,87		
40	$\beta$ -Elemeno	37.880	2,99	<b>37.883</b>	<b>7,63</b>
41	$\beta$ -Cadineno			38.042	0,20
42	Tetradecano	38.455	0,38	38.451	0,38
43	$\alpha$ -Gurjuneno	38.574	0,26		
44	Metileugenol			38.622	0,56
45	Cariofileno	<b>38.960</b>	<b>11,64</b>	38.953	0,79
46	$\beta$ -Cubebeno	39.415	0,14	41.643	0,21
47	Aromandendreno	39.804	0,28		
48	Germacreno D	40.075	0,14		
49	Dehidroaromadendreno	40.315	0,18		
50	1,5,9,9-Tetrametil-1,4,7-ciclundecatrieno			40.427	0,19
51	Aloaromadendreno	40.737	1,19		
52	Hexadecano	41.130	0,12		
53	$\beta$ -copaeno	41.641	1,29		
54	$\beta$ -Selineno	41.834	0,31		
55	$\alpha$ -Curcumeno			41.843	0,97
56	1,5-Dimetil-3-hidroxi-8-(1-metileno-2-hydroxietil-1)-biciclo[4.4.0]dec-5-eno	41.927	0,16		
57	$\gamma$ -Elemeno	<b>42.316</b>	<b>11,47</b>	42.308	2,23
58	8-Isopropenil-1,5-dimetil-ciclodeca-1,5-dieno			42.639	2,00
59	Germacreno A	42.640	1,6		
60	4-epi-cubebol	43.082	0,14		
61	$\alpha$ -Funebrene			43.103	0,52
62	$\delta$ -Cadineno	43.509	0,37	43.512	0,21
63	$\alpha$ -Copaen-11-ol			44.155	0,47
64	Elemol	44.536	0,52	44.534	2,27
65	Dihidroagarofurano			<b>44.704</b>	<b>7,20</b>
66	Cicloheptano, 4-metileno-1-metil-2-(2-metil-1-propen-1il)-1-vinil-	44.720	7,47		
67	Elemicina			45.030	0,91
68	Espatulenol	<b>45.591</b>	<b>11,60</b>	45.578	3,07
69	Óxido de cariofileno	45.782	4,51	45.765	1,58
70	Viridiflorol	46.124	0,32		
71	Guaiol	46.470	0,43	<b>46.471</b>	<b>9,02</b>
72	Ledol	46.577	1,29		
73	Octadieno			46.752	0,54
74	Hinesol	47.039	1,16	47.042	4,20

OEFCT = óleo essencial de folhas de *C. tricolor*; OERCT = óleo essencial de ramos de *C. tricolor*; TR = tempo de retenção; PR = percentagem relativa.

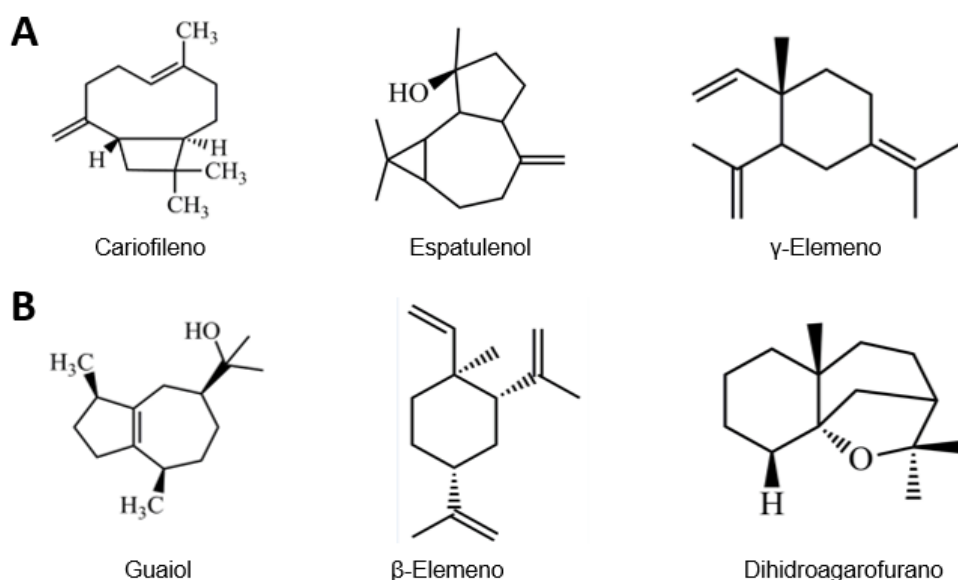


Tabela 2 – Composição química dos óleos essenciais de *C. tricolor* extraídos por hidrodestilação.

No.	Compostos	OEFCT		OERCT	
		TR	PR (%)	TR	PR (%)
75	$\beta$ -Panasinene			47.502	0,14
76	$\gamma$ -Eudesmol			47.734	0,40
77	Eudesma-4,11-dien-2-ol	48.156	0,29		
78	$\beta$ -Eudesmol	48.410	0,52		
79	Selina-6-en-4-ol			48.579	2,64
80	$\beta$ -Espatuleno			48.976	1,23
81	Bulnesol			49.122	3,19
82	Heptadecano			50.563	0,22
83	2,6,10,15-Tetrametilheptadecano	50.569	0,39		
84	6-Isopropenil-4,8a-dimetil-1,2,3,5,6,7,8,8a-octahidro-naftalen-2-ol			50.944	1,22
85	Longifolenaldeído			51.098	1,83
86	Óxido de ledeno			51.924	0,20
87	Longiborneol			52.251	0,10
88	Octadecano	54.188	0,18		
89	Heneicosano	57.642	0,2	57.641	0,17
90	Podocarp-7-en-3-ona, 13 $\beta$ -metil-13-vinil-			63.903	2,28
	Total		83,11		81,43
	Desconhecido		16,89		18,57
	Monoterpeno		16,17		19,54
	Sesquiterpeno		62,89		55,52
	Hidrocarboneto		2,73		2,47
	Outros		1,32		3,90

OEFCT = óleo essencial de folhas de *C. tricolor*; OERCT = óleo essencial de ramos de *C. tricolor*; TR = tempo de retenção; PR = percentagem relativa.

Figura 5 – Estrutura dos principais compostos dos óleos essenciais de *C. tricolor*.



A: linha de compostos majoritários do óleo essencial de folhas de *C. tricolor*; B: linha de compostos majoritários do óleo essencial de ramos de *C. tricolor*.

Fonte: dados da pesquisa (2022).

### 3.3 Potencial de repelência dos óleos essenciais

Os óleos essenciais de *C. tricolor* apresentaram potencial de repelência contra *T. castaneum*, na concentração aproximada de 0,06  $\mu\text{L}/\text{cm}^2$ , em todos os tempos de exposição com classe de PR variando de IV a V, sendo o óleo essencial de folhas da *C. tricolor* (OEFCT) responsável por maior PR, obtendo classe V em 30 e 60 minutos após exposição (Tabela 3), igualando-se em classe ao controle positivo (DEET 2,36  $\mu\text{L}/\text{cm}^2$ ) ainda que em menor concentração.

Tabela 3 - Atividade repelente dos óleos essenciais de *C. tricolor* contra adultos de *T. castaneum* em diferentes tempos de exposição.

Amostra testada	Tempo (min.)	Atividade repelente (%) <sup>a</sup>	Classe
OEFCT	15	80 $\pm$ 0,0*	IV
	30	84 $\pm$ 11,0*	V
	60	96 $\pm$ 5,5*	V
	120	80 $\pm$ 12,2*	IV
OERCT	15	68 $\pm$ 8,3*	IV
	30	66 $\pm$ 18,1*	IV
	60	66 $\pm$ 18,1*	IV
	120	72 $\pm$ 13,0*	IV
DEET	15	98 $\pm$ 4,4*	V
	30	96 $\pm$ 8,9*	V
	60	100 $\pm$ 0,0*	V
	120	100 $\pm$ 0,0*	V

OEFCT = óleo essencial de folhas de *C. tricolor*; OERCT = óleo essencial de ramos de *C. tricolor*; cada grupo teve 20 indivíduos e o resultado representa: <sup>a</sup>média (PR)  $\pm$  desvio padrão de cinco repetições. \* $p < 0,05$  apresenta diferença significativa em relação ao grupo controle de acordo com teste não paramétrico Wilcoxon.

### 3.4 Toxicidade de contato dos óleos essenciais

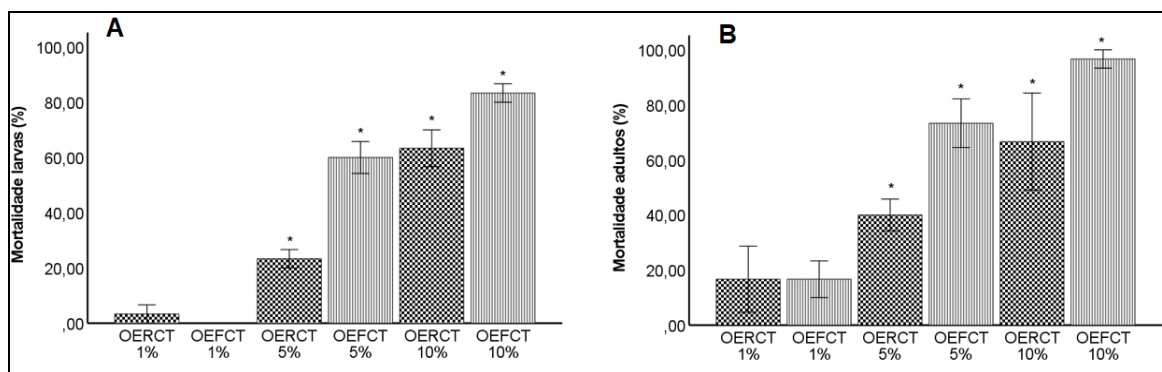
O ensaio de toxicidade de contato com óleo essencial de folhas e ramos de *C. tricolor* em concentração de 1, 5 e 10%, permitiu identificar potencial inseticida contra larvas e adultos jovens de *T. castaneum* em 24, 48 e 72 horas após exposição (Tabela 4). Indivíduos na fase adulta mostraram-se mais suscetíveis aos efeitos tóxicos dos óleos essenciais, porém nas duas fases de vida foi possível observar uma resposta dependente da concentração e do tempo (Figura 6).

Tabela 4 - Mortalidade de *T. castaneum* em ensaio de toxicidade de contato por tempo após exposição.

Fase de vida	Tempo	OERCT		OEFCT		
		C (%) <sup>a</sup>	M (%) ± DP <sup>b</sup>	C (%) <sup>a</sup>	M (%) ± DP <sup>b</sup>	
Larvas	24h	1	0,00 ± 0,0	1	0,00 ± 0,0	
		5	23,33 ± 5,8*	5	46,67 ± 11,5*	
		10	40,00 ± 0,0*	10	73,33 ± 11,5*	
	48h	1	0,00 ± 0,0	1	0,00 ± 0,0	
		5	23,33 ± 5,8*	5	56,67 ± 15,2*	
		10	50,00 ± 10,0*	10	80,00 ± 10,0*	
	72h	1	0,33 ± 0,58	1	0,00 ± 0,0	
		5	23,33 ± 5,8*	5	60,00 ± 10,0*	
		10	63,33 ± 11,5*	10	83,33 ± 5,8*	
	Adultos jovens	24h	1	0,00 ± 0,0	1	6,67 ± 5,8
			5	16,67 ± 20,8*	5	56,67 ± 15,3*
			10	50,00 ± 20,0*	10	93,30 ± 11,5*
48h		1	6,67 ± 5,8	1	13,33 ± 5,8	
		5	33,33 ± 5,8*	5	73,33 ± 15,3*	
		10	63,33 ± 25,1*	10	96,70 ± 5,8*	
72h		1	16,67 ± 20,8	1	16,67 ± 11,5	
		5	40,00 ± 10,0*	5	73,33 ± 15,3*	
		10	66,67 ± 30,5*	10	96,70 ± 5,8*	

OEFCT = óleo essencial de folhas de *C. tricolor*; OERCT = óleo essencial de ramos de *C. tricolor*. Cada grupo teve 10 indivíduos e os resultados referem-se a: <sup>a</sup>Concentração (% v/v). <sup>b</sup>Média de mortalidade ± desvio padrão da triplicata. \* $p < 0,05$  de acordo com o teste qui-quadrado.

Figura 6 - Mortalidade de *T. castaneum* em ensaio de toxicidade de contato 72 horas após exposição.

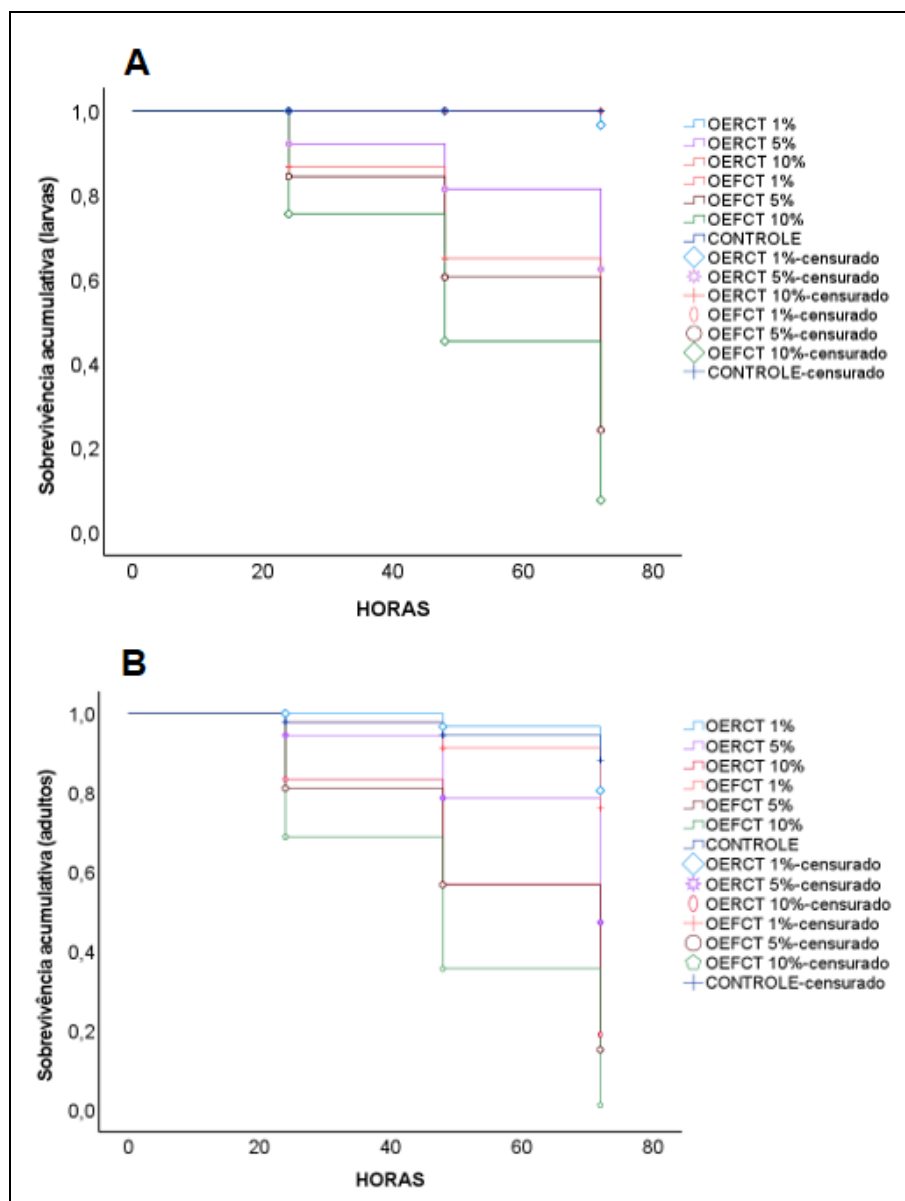


A: mortalidade de larvas após exposição aos óleos essenciais de *C. tricolor*; B: mortalidade adultos jovens após exposição aos óleos essenciais de *C. tricolor*. OERCT = óleo essencial de ramos de *C. tricolor*; OEFCT = óleo essencial de folhas de *C. tricolor*. As barras correspondem à média ± desvio padrão das três repetições. \* $p < 0,05$  em relação ao grupo controle pelo teste qui-quadrado.

No tempo de 24 horas, o OERCT 10% atingiu 40,00% de mortalidade em larvas e 50,00% em adultos e o OEFCT 10% provocou 73,33% de mortalidade em larvas e 93,30% em adultos, demonstrando a rápida ação de seus compostos sobre a sobrevivência de *T. castaneum* (Figura 7). As maiores mortalidades

foram observadas nos ensaios com OEFCT 10%, o qual provocou 83,33% de mortalidade em larvas e 96,70% em adultos no tempo de 72 horas após a exposição.

Figura 7 - Curvas de sobrevivência de Kaplan-Meier demonstrando o efeito dos óleos essenciais de *C. tricolor* sobre larvas e adultos de *T. castaneum*.



A: sobrevivência de larvas após exposição ao óleo essencial de *C. tricolor*; B: sobrevivência de adultos jovens após exposição ao óleo essencial de *C. tricolor*. OERCT = óleo essencial de ramos de *C. tricolor*. OEFCT = óleo essencial de folhas de *C. tricolor*.

No mais, a comparação do percentual de mortalidade de *T. castaneum* 72 horas após exposição aos dois óleos essenciais de *C. tricolor* mostrou que o OEFCT provoca maior mortalidade com uma concentração final menor que a do

OERCT (Figura 6). Tal dado é ratificado pelos valores de DL<sub>50</sub>/DL<sub>90</sub>, os quais mostram que o *T. castaneum* é mais sensível ao OEFCT em ensaio de toxicidade de contato, pois na fase de larva apresenta valores DL<sub>50</sub> em 24 horas de 0,262 mg/larva para OERCT e 0,151 mg/larva para OEFCT (Tabela 5), enquanto na fase adulta tem-se valores de DL<sub>50</sub> em 24 horas de 0,219 mg/adulto para OERCT e 0,092 mg/adulto para OEFCT (Tabela 6).

Tabela 5 - Toxicidade de contato dos óleos essenciais de *C. tricolor* contra larvas de *T. castaneum* após 24, 48 e 72 horas de exposição.

Óleo essencial	Tempo (h)	DL <sub>50</sub> (mg/larva) <sup>a</sup> (IC)	DL <sub>90</sub> (mg/larva) <sup>b</sup> (IC)	χ <sup>2</sup>	Valor p
OERCT	24	0,262 (0,201 – 0,516)	0,736 (0,415 – 4,248)	3,364	0,339
	48	0,217 (0,179 – 0,319)	0,515 (0,341 – 1,534)	2,210	0,530
	72	0,204 (0,159 – 0,316)	0,716 (0,419 – 2,376)	3,731	0,294
OEFCT	24	0,151 (0,126 – 0,189)	0,391 (0,282 – 0,749)	5,503	0,138
	48	0,126 (0,106 – 0,149)	0,291 (0,227 – 0,451)	4,436	0,218
	72	0,118 (0,100 – 0,138)	0,258 (0,207 – 0,374)	4,002	0,261

OERCT = óleo essencial de ramos de *C. tricolor*. OEFCT = óleo essencial de folhas de *C. tricolor*. Os resultados referem-se a: <sup>a</sup>Dose letal que mata 50% dos organismos de teste, intervalo de confiança 95% (IC). <sup>b</sup>Dose letal que mata 90% dos organismos de teste, intervalo de confiança 95% (IC). χ<sup>2</sup>: qui-quadrado.

Tabela 6 - Toxicidade de contato dos óleos essenciais de *C. tricolor* contra adultos de *T. castaneum* após 24, 48 e 72 horas de exposição.

Óleo essencial	Tempo (h)	DL <sub>50</sub> (mg/adulto) <sup>a</sup> (IC)	DL <sub>90</sub> (mg/adulto) <sup>b</sup> (IC)	χ <sup>2</sup>	Valor p
OERCT	24	0,219 (0,003 – 0,575)	0,483 (0,260 – ...)	9,898	0,019
	48	0,137 (0,103 – 0,173)	0,474 (0,350 – 0,768)	6,989	0,072
	72	0,105 (0,012 – 0,252)	0,536 (0,231 – 103,210)	7,972	0,047
OEFCT	24	0,092 (-)	0,360 (-)	11,085	0,011
	48	0,060 (0,045 – 0,076)	0,216 (0,159 – 0,357)	4,876	0,181
	72	0,056 (0,041 – 0,070)	0,199 (0,147 – 0,322)	2,239	0,524

OERCT = óleo essencial de ramos de *C. tricolor*. OEFCT = óleo essencial de folhas de *C. tricolor*. Os resultados referem-se a: <sup>a</sup>Dose letal que mata 50% dos organismos de teste, intervalo de confiança 95% (IC). <sup>b</sup>Dose letal que mata 90% dos organismos de teste, intervalo de confiança 95% (IC). χ<sup>2</sup>: qui-quadrado.

#### 4 DISCUSSÃO

O rendimento dos óleos essenciais biossintetizados por plantas são diretamente afetados pelas condições de temperatura e precipitação da região de coleta (FIGUEIREDO *et al.*, 2008). Os resultados deste estudo apontam que as folhas da espécie *C. tricolor* apresentam maior acúmulo de óleo essencial

(0,66%) que os ramos (0,20%), quando coletados no último mês da primavera, período caracterizado por uma média anual de baixos índices pluviométricos e elevada temperatura no estado de Alagoas (CLIMATOLOGIA, 2022).

Estudo anterior apontou que o óleo essencial da parte aérea da espécie *C. tricolor* apresenta rendimento que varia de 0,16% a 0,89%, sendo o valor mais alto observado em períodos mais secos, característica compartilhada com a espécie *Myrcia eximia* DC encontrada na Amazônia brasileira (FERREIRA *et al.*, 2020; SOUZA *et al.*, 2017).

Esses valores de rendimento são semelhantes aos de espécies como *Lavandula angustifolia* Mill. (Lavanda, 0,7%), *Foeniculum vulgare* Mill. (Funcho, 0,68%) e *Mentha arvensis* L. (Hortelã brasileiro, 0,67%), porém inferiores aos rendimentos de *Thymus vulgaris* L. (Tomilho, 1,25%), *Satureja pilosa* Velen. (2,03%) e *Syzygium aromaticum* L. (Cravo-da-Índia, 12,96%-16,73%) (ALFIKRI *et al.*, 2020; BORUGA *et al.*, 2014; MANH; TUYET, 2020; SERMEDJIEVA *et al.*, 2020; WILSON *et al.*, 2021; ZHELJAZKOV *et al.*, 2013).

Quanto à composição química de seus óleos essenciais, os sesquiterpenos mostraram-se altamente predominantes em folhas e ramos de *C. tricolor*, com maiores concentrações de Cariofileno, Espatulenol e  $\gamma$ -Elemeno em folhas e Guaiol,  $\beta$ -Elemeno e Dihidroagarofurano em ramos. Na literatura,  $\alpha$ -Pineno, Espatulenol e Sabineno são apontados como principais constituintes do óleo de folhas dessa espécie, enquanto o óleo essencial de ramos apresenta maior variação de compostos químicos (LIMA *et al.*, 2013; MEIRA, 2018; SOUZA, 2016). No estudo de Vasconcelos (2015) os compostos (+)-Ledeno e  $\beta$ -Cariofileno apresentam-se majoritariamente em ramos, ao passo que o estudo de Souza (2016) aponta maior concentração de Epiglobulol e  $\alpha$ -trans-Bergamotol.

Essas variações de compostos e concentrações podem estar relacionadas com a metodologia utilizada para extração dos óleos essenciais, uma vez que os estudos citados apresentaram variações na técnica (hidrodestilação e destilação à vapor) e no tempo (90 a 240 minutos) de extração. Por conseguinte, a influência do ambiente na variação da composição química desses óleos não pôde ser analisada uma vez que esses dados não foram apresentados pelos autores (LIMA *et al.*, 2013; MEIRA, 2018; SOUZA, 2016; VASCONCELOS, 2015).

Os sesquiterpenos estão intimamente relacionados com a modulação da defesa das plantas contra herbívoros, seja atuando como sinalizadores para atrair inimigos naturais de herbívoros, preparando o tecido vegetal não atacado para respostas de defesa ao potencial ataque subsequente ou ainda através de toxicidade de contato e repelência contra esses insetos, o que indica a importância e o valor das plantas ricas em sesquiterpenos no controle de insetos-praga (BARRETO; ALMEIDA; SENA FILHO, 2021).

Neste estudo, os óleos essenciais de folhas e ramos de *C. tricolor* apresentaram PR de classe IV e V contra *T. castaneum* na concentração aproximada de 0,06 µl/cm<sup>2</sup>. O maior PR foi observado no óleo essencial de folhas no tempo de 60 minutos (96%), reduzindo com o passar do tempo. Uma vez que os óleos essenciais são constituídos por compostos voláteis, infere-se que os compostos desse óleo que se volatilizam no intervalo entre 30 e 60 minutos após exposição são responsáveis por maior PR. Tais dados são corroborados pelos achados de Guo e colaboradores (2016), Cao colaboradores (2018b), Li e colaboradores (2018) e Qi e colaboradores (2020), os quais identificaram o mesmo perfil de decréscimo no PR, porém nos intervalos entre 2 e 4 horas após exposição.

O PR dos óleos essenciais de *C. tricolor*, após 120 minutos de exposição, (OERCT = 72% e OEFCT = 80%) mostrou-se maior que *Evodia lenticellata* (64%) e *Zanthoxylum planispinum* (78%), porém inferior ao identificado com *Evodia rutaecarpa* (PR = 82%), *Crithmum Maritimum* (PR = 93%), *Melissa officinalis* (100%) e *Ligusticum jeholense* (100%) (CAO *et al.*, 2018a; MUSTAPHA *et al.*, 2020; UPADHYAY *et al.*, 2019; LUO *et al.*, 2019; CAO *et al.*, 2018b; WANG *et al.*, 2019).

Em virtude da sensibilidade dos óleos essenciais à presença de oxigênio, luz, umidade e calor, muitos estudos estão sendo desenvolvidos no sentido de produzir ferramentas biotecnológicas para aumentar o tempo de biodisponibilidade desses produtos. Dentre essas, o encapsulamento tem se mostrado como um método eficiente para a formulação de bioativos, uma vez que permite uma liberação lenta e contínua do agente ativo no meio ambiente (CHOUHAN; SHARMA; GULERIA, 2017).

Para fins pesticidas, o encapsulamento deve permitir uma liberação inicial rápida com concentração média entre a escala de eficiência e toxicidade,

seguida de uma liberação longa e constante ao longo de, preferencialmente, sete dias, para evitar a necessidade de aplicações repetidas. As quatro principais técnicas de encapsulamento descritas na literatura são: partículas geradas por uma matriz, onde os óleos essenciais são dispersos; cápsulas com uma membrana envolvendo um núcleo, onde residem os óleos essenciais; complexos, onde os óleos essenciais são estabilizados em cavidades por interações químicas; e gotículas criadas por uma simples emulsão em tensoativos (MAES; BOUQUILLON; FAUCONNIER, 2019).

Estudo utilizando nanogéis à base de quitosana e goma de caju identificou que as nanopartículas apresentaram liberação mais lenta e sustentada e que a eficácia larvicida mostrou-se superior ao óleo puro e em outro utilizando encapsulamento em complexos de inclusão de  $\beta$ -ciclodextrina demonstrou que essa técnica possibilitou uma entrega contínua por até 11 dias, tais estudos são exemplos dos resultados promissores da utilização do encapsulamento para elaboração de produtos pesticidas à base de óleo essencial de plantas (ABREU *et al.*, 2012; KOTRONIA *et al.*, 2017).

Quanto à toxicidade de contato em adultos de *T. castaneum*, o óleo essencial de folhas de *C. tricolor* mostrou-se mais tóxico para esse inseto ( $DL_{50} = 0,092$  mg/adulto) que o de ramos ( $DL_{50} = 0,219$  mg/adulto), além de obter  $DL_{50}$  inferior ao relatado em outras espécies, como *Thymus quinquecostatus* ( $DL_{50} = 0,095$  mg/adulto), *Ajania nematoloba* ( $DL_{50} = 0,102$  mg/adulto), *Ajania fruticulosa* ( $DL_{50} = 0,105$  mg/adulto) e *Nardostachys chinensis* ( $DL_{50} = 0,147$  mg/adulto), porém maior que os resultados encontrados em *Mentha piperita* ( $DL_{50} = 0,002$  mg/adulto), *Artemisia stolonifera* ( $DL_{50} = 0,008$  mg/adulto), *Acorus calamus* ( $DL_{50} = 0,032$  mg/adulto) e *Zingiber purpureum* ( $DL_{50} = 0,039$  mg/adulto) (CHEN *et al.*, 2015; FENG *et al.*, 2020; LI *et al.*, 2018; LIANG *et al.*, 2016; LU *et al.*, 2021; PANG *et al.*, 2019; WANG *et al.*, 2015; ZHANG *et al.*, 2015).

Ademais, os adultos de *T. castaneum* apresentaram-se 64,1% mais suscetíveis que as larvas, quando expostos ao óleo essencial de folhas de *C. tricolor*, e 19,6% mais sensíveis aos efeitos tóxicos do óleo essencial de ramos. Esse perfil de sensibilidade corrobora os achados de Liang e colaboradores (2020), os quais identificaram  $DL_{50}$  de 7,79  $\mu$ g/adulto e 24,87  $\mu$ g/larva em ensaio de toxicidade por contato do óleo essencial de *Elsholtzia ciliata* contra *T.*



*castaneum*, indicando que as diferenças fisiológicas desses estágios de vida interferem na suscetibilidade do inseto à exposição aos óleos essenciais.

A mortalidade de *T. castaneum* após exposição aos óleos essenciais de *C. tricolor* pode estar relacionada com o alto teor de terpenos presente nesses óleos, uma vez que esses compostos voláteis estão associados à defesa das plantas e, sozinhos ou em combinação, possuem atividade inseticida comprovada contra outros insetos, como *Aedes*, *Anopheles* e *Culex* (DEWICK, 2008; DHINAKARAN; MATHEW; MUNUSAMY, 2019).

Os seis compostos majoritários identificados nesse estudo possuem atividade inseticida relatada na literatura contra espécies das ordens Coleoptera, Díptera e Lepidoptera, em especial o composto Cariofileno. O Cariofileno é um dos principais compostos bioativos dos óleos essenciais de plantas, sendo comumente encontrado em especiarias, como canela (*Cinnamomum* spp.), pimenta preta (*Piper nigrum* L.) e cravo (*Syzygium aromaticum*), e possui atividade inseticida comprovada contra *Sitophilus granarius* (Coleoptera: Curculionidae) em toxicidade de contato ( $DL_{50} = 138,51 \mu\text{g/adulto}$ ), *Sitophilus oryzae* (Coleoptera: Curculionidae) em toxicidade fumegante e de contato residual ( $CL_{50} = 0.009 \text{ mg/cm}^2$ ), *Lasioderma serricorne* (Coleoptera: Anobiidae) em toxicidade de contato ( $DL_{50} = 35,5 \mu\text{g adult}^{-1}$ ) e *Aedes aegypti* (Díptera: Culicidae) em atividade larvicida ( $CL_{50} = 146.58 \mu\text{g/ml}$ ) (FIDYT *et al.*, 2016; HUANG *et al.*, 2019; LEE *et al.*, 2008; PAVENT *et al.*, 2020; YOU *et al.*, 2015).

O sesquiterpeno espatulenol, além de potencial inseticida contra *Lasioderma serricorne* (Coleoptera: Anobiidae) com  $DL_{50}$  de  $17,8 \mu\text{g adult}^{-1}$  (YOU *et al.*, 2015), também apresentou toxicidade de contato contra *T. castaneum* em estudo desenvolvido por Luo e colaboradores (2019), alcançando 45% de mortalidade na concentração de 10%. Por sua vez, o  $\gamma$ -elemeno mostrou-se tóxico contra *Spodoptera litura* (Lepidoptera: Noctuidae) com  $CL_{50}$  de  $10,64 \mu\text{g/ml}$  (BENELLI *et al.*, 2018; LIU *et al.*, 2013).

Quanto aos compostos majoritários do óleo essencial de ramos de *C. tricolor*, foi relatado potencial larvicida do Guaiol contra *Mythimna separate* (Lepidoptera: Noctuidae) e *Plutella xylostella* (Lepidoptera: Plutellidae), com  $DL_{50}$  de  $0,07 \text{ mg/larva}$  e  $8,9 \text{ mg/larva}$ , respectivamente. Enquanto o  $\beta$ -elemeno apresentou potencial larvicida em 24 horas contra três espécies da ordem Díptera, a saber: *Anopheles subpictus* ( $CL_{50} = 10,26 \mu\text{g/ml}$ ), *Aedes albopictus*

( $CL_{50} = 11,15 \mu\text{g/ml}$ ) e *Culex tritaeniorhynchus* ( $CL_{50} = 12,05 \mu\text{g/ml}$ ) (GOVINDARAJAN; BENELLI, 2016; LIU *et al.*, 2013).

Por fim, o composto Dihidroagarofurano foi relatado como tóxico para larvas de duas espécies da ordem Lepidoptera, família Noctuidae, sendo elas: *Spodoptera frugiperda*, com  $CL_{50}$  em 24 horas entre 7,5 e 8,2 ppm, e *Mythimna separate*, com  $DL_{50}$  de  $252,3 \mu\text{g g}^{-1}$  em igual período (CÉSPEDES *et al.*, 2001; WEI; JI; ZHANG, 2009). Os resultados dos estudos mencionados indicam que os compostos dos óleos essenciais de *C. tricolor* podem atuar somando suas ações para promoção de toxicidade contra diversas espécies, incluindo *T. castaneum*.

Considerando os achados descritos, os óleos essenciais de *C. tricolor* mostram-se como alternativas promissoras para o controle do inseto-praga *T. castaneum* em produtos armazenados, caracterizando-se como uma tecnologia bioinseticida com baixo impacto para o meio ambiente, identificado através de ensaios de citotoxicidade, toxicidade por via oral e genotoxicidade (FRANÇA-NETO *et al.*, 2012; FERREIRA, 2014; VASCONCELOS, 2015).

## 5 CONCLUSÃO

Os óleos essenciais de *C. tricolor* são constituídos majoritariamente de sesquiterpenos, em especial Cariofileno, Espatuleno e  $\gamma$ -Elemeno para folhas e Guaiol,  $\beta$ -Elemeno e Dihidroagarofurano para ramos, e apresentam potencial repelente e de toxicidade por contato contra *T. castaneum*. Esse inseto mostrou-se mais suscetível ao óleo essencial de folhas em todos os testes e as larvas mostraram-se mais resistentes aos efeitos tóxicos do óleo essencial quando comparadas aos adultos. Esses achados indicam que os óleos essenciais de *C. tricolor* podem ser promissores para a formulação de biotecnologias para controle de *T. castaneum*. No entanto, novos estudos precisam ser desenvolvidos para elucidar o mecanismo de ação desses óleos sobre a sobrevivência desse inseto-praga.

## REFERÊNCIAS

ABREU, F. O . M. S. et al. Chitosan/cashew gum nanogels for essential oil encapsulation. **Carbohydrate Polymers**, [s.l.], v. 89, n. 4, p. 1277-1282, Aug. 2012.

ALFIKRI, F. N. et al. Yield, Quality, and Antioxidant Activity of Clove (*Syzygium aromaticum* L.) Bud Oil at the Different Phenological Stages in Young and Mature Trees. **Scientifica**, Cairo, v. 2020, p. 1-8, Jun. 2020.

BACCARI, W. et al. Composition and insecticide potential against *Tribolium castaneum* of the fractionated essential oil from the flowers of the Tunisian endemic plant *Ferula tunetana* Pomel ex Batt. **Industrial Crops & Products**, [s.l.], v. 193, p. 1-7, Jan. 2020.

BARRETO, I. C.; ALMEIDA, A. S.; SENA FILHO, J. G. Taxonomic Insights and Its Type Cyclization Correlation of Volatile Sesquiterpenes in Vitex Species and Potential Source Insecticidal Compounds: A Review. **Molecules**, [s.l.], v. 26, n. 21, p. 1-29, Oct. 2021.

BENELLI, G. et al. High toxicity of camphene and  $\gamma$ -elemene from *Wedelia prostrata* essential oil against larvae of *Spodoptera litura* (Lepidoptera: Noctuidae). **Environmental science and pollution research international**, [s.l.], v. 25, n. 11, p. 10383-10391, Apr. 2018.

BORUGA, O. et al. *Thymus vulgaris* essential oil: chemical composition and antimicrobial activity. **Journal of Medicine and Life**, [s.l.], v. 7, n. 3, p. 56-60, 2014.

CAO, J. Q. et al. Toxicity and repellency of essential oil from *Evodia lenticellata* Huang fruits and its major monoterpenes against three stored-product insects. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, [s.l.], v. 160, p. 342-348, Sep. 2018a.

CAO, J. Q.; et al. Contact Toxicity and Repellency of the Essential Oils of *Evodia lenticellata* Huang and *Evodia rutaecarpa* (Juss.) Benth. Leaves against Three Stored Product Insects. **Journal of oleo science**, [s.l.], v. 67, n. 8, p. 1027-1034, Aug. 2018b.

CAVALCANTI, J. M. et al. The essential oil of *Croton zehntneri* and trans anethole improves cutaneous wound healing. **Journal of Ethnopharmacology**, [s.l.], v. 144, n. 2, p. 240-247, Nov. 2012.

CÉSPEDES, C. L. et al. Insect Growth Regulator and Insecticidal Activity of  $\beta$  Dihydroagarofurans from *Maytenus* spp. (Celastraceae). **Zeitschrift für Naturforschung. C, Journal of biosciences**, [s.l.], v. 56, n. 7-9, p. 603-613, Jul./Aug. 2001.

CHEN, H. P. et al. Repellent and insecticidal activities of shyobunone and isoshyobunone derived from the essential oil of *Acorus calamus* rhizomes. **Pharmacognosy Magazine**, [s.l.], v. 11, n. 44, p. 675-681, Oct./Dec. 2015.

CHOUHAN, S.; SHARMA, K.; GULERIA, S. Antimicrobial Activity of Some Essential Oils - Present Status and Future Perspectives. **Medicine**, Basel, v. 4, n. 3, p. 1-21, Aug. 2017.

CLIMATOLOGIA e histórico de previsão do tempo. **Climatempo**, 2022. Disponível em: <https://www.climatempo.com.br/climatologia/8/maceio-al> Acesso em: 21 jan. 2022.

CUCHO-MEDRANO, J. L. L. et al. Chemical Profile of the Volatile Constituents and Antimicrobial Activity of the Essential Oils from *Croton adipatus*, *Croton thurifer*, and *Croton collinus*. **Antibiotics**, Basel, v. 10, n. 11, p. 1-16, Nov. 2021.

DEB, M.; KUMAR, D. Bioactivity and efficacy of essential oils extracted from *Artemisia annua* against *Tribolium castaneum* (Herbst. 1797) (Coleoptera: Tenebrionidae): an eco-friendly approach. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 189, p. 1-7, Feb. 2020.

DEWICK, P. M. **Medicinal natural products: a biosynthetic approach**. 3th ed. New Jersey: John Wiley & sons, 2008. 539p.

DHINAKARAN, S. R.; MATHEW, N.; MUNUSAMY, S. Synergistic terpene combinations as larvicides against the dengue vector *Aedes aegypti* Linn. **Drug Development Research**, [s.l.], v. 80, n. 6, p. 791-799, Sep. 2019.

FENG, Y. X. et al. Contact toxicity and repellent efficacy of *Valerianaceae* spp. to three stored product insects and synergistic interactions between two major

compounds camphene and bornyl acetate. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, [s.l.], v. 190, p. 1-10, Mar. 2020.

FERREIRA, O. O. et al. First Report on Yield and Chemical Composition of Essential Oil Extracted from *Myrcia eximia* DC (Myrtaceae) from the Brazilian Amazon. **Molecules**, [s.l.], v. 25, n. 4, p. 1-11, Feb. 2020.

FERREIRA, S. B. **Investigação dos efeitos antimicrobiano, citotóxico e genotóxico do óleo essencial das folhas de *Croton tricolor* Klotsch ex Baill (Euphorbiaceae)**. 2014. 80 f. Dissertação (Mestrado em Produtos Naturais e Sintéticos Bioativos) – Centro de Ciências da Saúde, Universidade Federal da Paraíba, João Pessoa, 2014.

FIDYT, K. et al.  $\beta$ -caryophyllene and  $\beta$ -caryophyllene oxide - natural compounds of anticancer and analgesic properties. **Cancer medicine**, [s.l.], v. 5, n. 10, p. 3007-3017, Oct. 2016.

FIGUEIREDO, A. C. et al. Factors affecting secondary metabolite production in plants: volatile components and essential oils. **Flavour and fragrance journal**, [s.l.], v. 23, n. 4, p. 213-226, July/Aug. 2008.

FRANÇA-NETO, A. et al. Essential Oil of *Croton argyrophylloides*: Toxicological Aspects and Vasorelaxant Activity in Rats. **Natural Product Communications**, [s.l.], v. 7, n. 10, p. 1397-1400, 2012.

GOVINDARAJAN, M.; BENELLI, G.  $\alpha$ -Humulene and  $\beta$ -elemene from *Syzygium zeylanicum* (Myrtaceae) essential oil: highly effective and eco-friendly larvicides against *Anopheles subpictus*, *Aedes albopictus*, and *Culex tritaeniorhynchus* (Diptera: Culicidae). **Parasitology research**, Berlin, v. 115, n. 7, p. 2771-2778, July 2016.

GUO, S. et al. Contact and Repellent Activities of the Essential Oil from *Juniperus formosana* against Two Stored Product Insects. **Molecules**, [s.l.], v. 21, n. 504, p. 1-11, 2016.

HAJHASHEMI, V.; ZOLFAGHARI, B.; AMIN, P. Anti-nociceptive and anti-inflammatory effects of hydroalcoholic extract and essential oil of *Pinus eldarica* in animal models. **Avicenna journal of phytomedicine**, Mashhad, v. 11, n. 5, p. 494-504, Sep./Oct. 2021.

HONGSIBSONG, S.; SITTITOON, N. SAPBAMRER, R. Association of health symptoms with low-level exposure to organophosphates, DNA damage, AChE activity, and occupational knowledge and practice among rice, corn, and double-crop farmers. **Journal of Occupational Health**, [s.l.], v. 59, n. 2, p. 165-176, Mar. 2017

HUANG, H. T. et al. Phytochemical composition and larvicidal activity of essential oils from herbal plants. **Planta**, Berlin, v. 250, n. 1, p. 59-68, July 2019.

KOTRONIA, M. et al. Encapsulation of Oregano (*Origanum onites* L.) Essential Oil in  $\beta$ -Cyclodextrin ( $\beta$ -CD): Synthesis and Characterization of the Inclusion Complexes. **Bioengineering**, [s.l.], v. 74, n. 4, p. 1-15, 2017.

LEE, E. J. et al. Toxicity of Cassia and Cinnamon Oil Compounds and Cinnamaldehyde-Related Compounds to *Sitophilus oryzae* (Coleoptera: Curculionidae). **Journal of economic entomology**, [s.l.], v. 101, n. 6, p. 1960-1966, Dec. 2008.

LI, Y., et al. Insecticidal Activities and Chemical Composition of the Essential Oils of *Ajania nitida* and *Ajania nematoloba* from China. **Journal of oleo science**, [s.l.], v. 67, n. 12, p. 1571-1577, Dec. 2018.

LIANG, J. et al. Chemical Constituents of the Essential Oil Extracted from *Elsholtzia densa* and Their Insecticidal Activity against *Tribolium castaneum* and *Lasioderma serricorne*. **Foods**, Basel, v. 10, n. 10, p. 1-15, Sep. 2021.

LIANG, J. Y. et al. Chemical Constituents and Insecticidal Activities of *Ajania fruticulosa* Essential Oil. **Chemistry e biodiversity**, [s.l.], v. 13, n. 8, p. 1053-1057, Aug. 2016.

LIANG, J. Y. et al. Toxicity and Synergistic Effect of *Elsholtzia ciliate* Essential Oil and Its Main Components against the Adult and Larval Stages of *Tribolium castaneum*. **Foods**, Basel, v. 9, n. 3, p. 1-13, Mar. 2020.

LIMA, C. C. et al. Antispasmodic effects of the essential oil of *Croton zehnteneri*, anethole, and estragole, on tracheal smooth muscle. **Heliyon**, [s.l.], v. 6, n. 11, p. 1-10, Nov. 2020.

LIMA, G. P. G. et al. Further insecticidal activities of essential oils from *Lippia sidoides* and *Croton* species against *Aedes aegypti* L. **Parasitology research**, Berlin, v. 112, p. 1953-1958, May 2013.

LIU, T. et al. Guaiol - A Naturally Occurring Insecticidal Sesquiterpene. **Natural product communications**, Westerville, v. 8, n. 10, p. 1353-1354, Oct. 2013.

LU, X. X. et al. Insecticidal and Repellent Activity of *Thymus quinquecostatus* Celak. Essential Oil and Major Compositions against Three Stored-Product Insects. **Chemistry e biodiversity**, [s.l.], v. 18, n. 11, p. e2100374, Nov. 2021.

LUO, C. et al. Bioactivities of 3-Butylidenephthalide and n-Butylbenzene from the Essential Oil of *Ligusticum jeholense* against Stored-product Insects. **Journal of oleo science**, [s.l.], v. 68, n. 9, p. 931-937, Sep. 2019.

MAES, C.; BOUQUILLON, S.; FAUCONNIER, M. L. Encapsulation of Essential Oils for the Development of Biosourced Pesticides with Controlled Release: A Review. **Molecules**, [s.l.], v. 24, n. 14, p. 1-15, July 2019.

MANH, H. D.; TUYET, O. T. Larvicidal and Repellent Activity of *Mentha arvensis* L. Essential Oil against *Aedes aegypti*. **Insects**, [s.l.], v. 11, n. 3, p. 1-9, Mar. 2020.

MCDONALD, L. L.; GUY, R. H.; SPEIRS, R. D. **Preliminary evaluation of new candidate materials as toxicants, repellents, and attractants against stored-product insects**. 882<sup>nd</sup> ed. Virginia: U.S. Agricultural Research Service, 1970. 20p.

MEIRA, C. H. F. **Análise da composição do óleo essencial de *Croton tricolor* como um modelo na criação de acordes em fragrâncias na indústria da perfumaria**. 2018. 50f. Dissertação (Mestrado em Ciências) – Instituto de Química, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2018.

MUSTAPHA, M. B. et al. Chemical Composition and Insecticidal Activity of *Crithmum Maritimum* L. Essential Oil against Stored-Product Beetle *Tribolium Castaneum*. **Chemistry e biodiversity**, [s.l.], v. 17, n. 3, p. e190052, Mar. 2020.

NAUGHTON, S. X.; TERRY JR., A. V. Neurotoxicity in acute and repeated organophosphate exposure. **Toxicology**, [s.l.], v. 408, p. 101-112, Sep. 2018.

PANG, X. et al. Toxicity and repellent activity of essential oil from *Mentha piperita* Linn. Leaves and its major monoterpenoids against three stored product insects. **Environmental science and pollution research international**, v. 27, n. 7, p. 7618-7627, Dec. 2019.

PAVENT, G. et al. Biological Activity of *Humulus lupulus* (L.) Essential Oil and Its Main Components against *Sitophilus granarius* (L.). **Biomolecules**, [s.l.], v. 10, n. 8, p. 1-16, July 2020.

QI, X. J. et al. Comparative analysis on bioactivity against three stored insects of *Ligusticum pteridophyllum* Franch. rhizomes essential oil and supercritical fluid (SFE-CO<sub>2</sub>) extract. **Environmental science and pollution research international**, [s.l.], v. 27, n. 13, p. 15584-15591, May 2020.

RODRIGUES, A. M. et al. Different susceptibilities of *Aedes aegypti* and *Aedes albopictus* larvae to plant-derived products. **Journal of the Brazilian Society of Tropical Medicine**, [s.l.], v. 52, n. e20180197. 2019.

RODRIGUES, G. C. S. et al. In Silico Studies of *Lamiaceae* Diterpenes with Bioinsecticide Potential against *Aphis gossypii* and *Drosophila melanogaster*. **Molecules**, [s.l.], v. 26, n. 3, p. 1-39, Feb. 2021.

SANTOS, G. K. N. et al. Effects of *Croton rhamnifolioides* Essential Oil on *Aedes aegypti* Oviposition, Larval Toxicity and Trypsin Activity. **Molecules**, [s.l.], v. 19, n. 10, p. 16573-16587, Oct. 2014.

SERMEDJIEVA, I. B. et al. Essential Oil Yield and Composition of the Balkan Endemic *Satureja pilosa* Velen. (Lamiaceae). **Molecules**, [s.l.], v. 25, n. 4, p. 1-18, Feb. 2020.

SOUZA, G. S. et al. Chemical composition and yield of essential oil from three *Croton* species. **Ciência Rural**, Santa Maria, v.47, n. 8, p. 1-8, 2017.

SOUZA, G. S. **Influência de fatores ambientais no óleo essencial de três espécies de *Croton* L.: rendimento, composição e atividades biológicas**. 2016. 92 f. Dissertação (Mestrado Acadêmico em Recursos Naturais) – Centro de Ciências e Tecnologia, Universidade Estadual do Ceará, Fortaleza, 2016.

UPADHYAY, N. et al. Assessment of *Melissa officinalis* L. essential oil as an eco-friendly approach against biodeterioration of wheat flour caused by



*Tribolium castaneum* Herbst. **Environmental Science and Pollution Research international**, [s.l.], v. 26, n. 14, p. 14036-14049, May 2019.

VALAREZO, E. et al. Chemical Constituents of the Essential Oil from Ecuadorian Endemic Species *Croton ferrugineus* and Its Antimicrobial, Antioxidant and  $\alpha$ -Glucosidase Inhibitory Activity. **Molecules**, [s.l.], v. 26, n. 15, p. 1-11, July 2021

VASCONCELOS, I. R. A. **Investigação dos efeitos antibacteriano, antioxidante, citotóxico e genotóxico do óleo essencial do caule de *Croton tricolor* Klortzsch ex Baill.** 2015. 92f. Dissertação (Mestrado em Produtos Naturais e Sintéticos Bioativos) – Universidade Federal da Paraíba, 2015.

WANG, Y. et al. Bioactivity of Essential Oil of *Zingiber purpureum* Rhizomes and Its Main Compounds against Two Stored Product Insects. **Journal of economic entomology**, [s.l.], v. 108, n. 3, p. 925-932, June 2015.

WANG, Y. et al. Insecticidal and repellent efficacy against stored-product insects of oxygenated monoterpenes and 2-dodecanone of the essential oil from *Zanthoxylum planispinum* var. *dintanensis*. **Environmental science and pollution research international**, [s.l.], v. 26, n. 24, p. 24988-24997, Aug. 2019.

WEI, S.; JI, K.; ZHANG, J. A New Insecticidal Sesquiterpene Ester from *Celastrus Angulatus*. **Molecules**, [s.l.], v. 14, n. 4, p. 1396-1403, Mar. 2009.

WILSON, T. M. et al. Essential Oil Profile and Yield of Corolla, Calyx, Leaf, and Whole Flowering Top of Cultivated *Lavandula angustifolia* Mill. (Lamiaceae) from Utah. **Molecules**, [s.l.], v. 26, n. 8, p. 1-10, Apr. 2021.

YOU, C. X. et al. Chemical Constituents and Activity of *Murraya microphylla* Essential Oil against *Lasioderma serricorne*. **Natural Product Communications**, [s.l.], v. 10, n. 9, p. 1635-1638, Sep. 2015.

ZHANG, W. J. et al. Bioactivity of essential oil from *Artemisia stolonifera* (Maxim.) Komar and its main compounds against two stored-products insects. **Journal of oleo science**, [s.l.], v. 64, n. 3, p. 299-307, Feb. 2015.

ZHELJAZKOV, V. D. et al. Distillation time modifies essential oil yield, composition, and antioxidant capacity of fennel (*Foeniculum vulgare* Mill). **Journal of oleo science**, [s.l.], v. 62, n. 9, p. 665-672, 2013.

**CAPÍTULO III – Efeitos dos óleos essenciais de *Croton tricolor* Klotzsch ex Baill. (Euphorbiaceae) sobre as características nutricionais, metabólicas e de reprodução de *Tribolium castaneum* Herbst. (Coleoptera: Tenebrionidae)**

---

**EFEITOS DOS ÓLEOS ESSENCIAIS DE *Croton tricolor* Klotzsch ex Baill.  
(Euphorbiaceae) SOBRE AS CARACTERÍSTICAS NUTRICIONAIS,  
METABÓLICAS E DE REPRODUÇÃO DE *Tribolium castaneum* Herbst.  
(Coleoptera: Tenebrionidae)**

**RESUMO**

Óleos essenciais de plantas são metabólitos secundários que se mostram como alternativa para controle de pragas por baixa poluição, baixa toxicidade para mamíferos e rápida degradação no meio ambiente. Apesar do aumento de pesquisas para identificar óleos essenciais com efeitos tóxicos contra insetos, poucos estudos são desenvolvidos para identificar os alvos bioquímicos e suas alterações bioquímicas mediadas. Este estudo objetivou elucidar o mecanismo de ação associado à toxicidade dos óleos essenciais de ramos e folhas de *C. tricolor* contra *T. castaneum* utilizando DL<sub>50</sub> de 0,151 mg/larva e 0,092 mg/adulto para o óleo essencial de folhas e 0,262 mg/larva e 0,219 mg/adulto para o óleo essencial de ramos, em ensaio de toxicidade de contato. A exposição aos óleos essenciais de *C. tricolor* em adultos provocou aumento no consumo relativo do alimento, porém sem aumento de biomassa dos insetos, sendo acompanhada por redução significativa nos níveis de colesterol, em especial naqueles que morreram após exposição. As larvas apresentam resposta metabólica diferente, caracterizada por elevação dos níveis de colesterol, triglicerídeos e glicose nos indivíduos que morreram após exposição aos óleos essenciais. Não foram identificados efeitos sobre a reprodução provocados pela exposição de contato. Os efeitos tóxicos em adultos parecem estar relacionados com a inibição de captação de colesterol, porém nas larvas os efeitos deletérios resultaram em maior demanda metabólica, provavelmente provocando o acesso às fontes energéticas armazenadas no corpo gorduroso. Os resultados deste estudo indicam que mais de um mecanismo de ação pode estar envolvido no potencial inseticida de *C. tricolor*.

**Palavras-chave:** *Croton tricolor*. Atividade inseticida. Óleo essencial. Ensaio bioquímico. *Tribolium castaneum*.

## 1 INTRODUÇÃO

Os óleos essenciais de origem vegetal são metabólitos secundários de plantas aromáticas que podem ser extraídos das folhas, flores, frutos, caules, raízes, ramos e resina, estando relacionados com processos de defesa dessas espécies. Esses compostos apresentam diversos potenciais bioativos descritos na literatura, a exemplo de atividade antibacteriana, antioxidante, de regulação da função intestinal, anti-inflamatória, analgésica, antimutagênica, repelente e inseticida (AL-ROWAILY *et al.*, 2020; LIU *et al.*, 2020; ZAO *et al.*, 2021).

Quanto ao potencial contra insetos, esses óleos essenciais representam alternativa para controle de pragas com baixa poluição, baixa toxicidade para mamíferos e rápida degradação no meio ambiente, tornando-os adequados para o manejo de insetos mesmo na agricultura orgânica. Seus constituintes são responsáveis por causar efeitos letais e subletais em diversas ordens de insetos, como atividade biocida, infertilidade, fagoinibição e repelência (BEDINI *et al.*, 2018; BRÜGGER *et al.*, 2019).

Apesar do crescente desenvolvimento de pesquisas para identificar óleos essenciais com efeitos tóxicos contra insetos de interesse para a humanidade, a exemplo de vetores de doenças e pragas de produtos agrícolas, poucos estudos são desenvolvidos para identificar os alvos bioquímicos e suas alterações bioquímicas mediadas, como o metabolismo de carboidratos e lipídios, que são as principais fontes de armazenamento energético e mostram-se essenciais para o crescimento e reprodução dos insetos (ARRESE; SOULAGES, 2010; HASHEM *et al.*, 2020).

Dentre as espécies de plantas produtoras de óleos essenciais encontra-se a *C. tricolor*, uma planta aromática produtora de óleo essencial rico em sesquiterpenos, como Cariofileno, Epatulenol e  $\gamma$ -Elemeno, Guaiol,  $\beta$ -Elemeno e Dihidroagarofurano, quando coletada em período de baixos índices pluviométricos e elevada temperatura, e com potencial inseticida e repelente comprovado contra o inseto-praga *T. castaneum*. Sua toxicidade aguda rápida é representada por atingir mortalidade de até 93,3% em adultos e 73,3% em larvas 24 h após exposição na concentração de 10% (capítulo II).

Dessa forma, com o intuito de elucidar o mecanismo de ação associado aos efeitos tóxicos dos óleos essenciais de ramos e folhas de *C. tricolor* contra

adultos e larvas de *T. castaneum*, o presente estudo objetiva analisar os efeitos desses óleos essenciais sobre as características nutricionais, metabólicas e de reprodução desse inseto-praga de produtos armazenados.

## **2 MATERIAL E MÉTODOS**

### **2.1 Material vegetal e extração do óleo essencial**

Amostras de *C. tricolor* foram coletados no município Olho d'Água do Casado, Alagoas, Brasil (9°30'59.7"S 37°50'56.4"W) em dezembro de 2019 e a identificação taxonômica foi feita pelos pesquisadores do Herbário MAC, do Instituto do Meio Ambiente do Estado de Alagoas (IMA). Ramos e folhas foram armazenadas em saco hermético transparente Ziploc® (produzido por SCJohnson em polietileno, livre de impurezas) para posterior extração dos óleos essenciais.

Um total de 200 g de ramos e 120 g de folhas foram triturados separadamente e submetidos à hidrodestilação em equipamento Clevenger. O início da destilação foi marcado pela ebulição da água deionizada (1.000 ml) e teve duração de cinco horas. A camada de óleo foi separada da fase aquosa utilizando um funil de separação e a remoção do excesso de água foi realizada adicionando sulfato de sódio anidro. Os óleos essenciais foram armazenados em frascos de vidro âmbar e mantidos em freezer (-1°C a -4°C) até a realização dos bioensaios.

### **2.2 Insetos**

*T. castaneum* foi coletado da cultura mantida pelo Laboratório de Bioquímica Metabólica do Instituto de Ciências Farmacêuticas da Universidade Federal de Alagoas, na qual eles foram criados em meio de cultura de farinha de trigo a uma temperatura de 23 a 29 °C, umidade de 72 a 76% e um período de 12 h de luz e 12 h de escuridão.

### **2.3 Toxicidade de contato**

Resultados prévios de bioensaio, realizados por este grupo de pesquisa, revelaram que os óleos essenciais de ramos (OERCT) e folhas (OEFCT) de *C. tricolor* são tóxicos para *T. castaneum* em exposição por contato, apresentando

resultados de DL<sub>50</sub> após 24 horas de exposição de 0,151 mg/larva e 0,092 mg/adulto para o óleo essencial de folhas e 0,262 mg/larva e 0,219 mg/adulto para o óleo essencial de ramos (capítulo II). Sendo assim, essas doses foram utilizadas neste estudo uma vez que assumimos que 50% dos insetos sobreviveriam à exposição para que fosse possível avaliar os efeitos letais e subletais dos óleos essenciais no *T. castaneum*.

As doses mencionadas foram obtidas a partir de solução estoque constituída de óleo essencial diluído em acetona e foram aplicadas topicamente na região mesotorácica dos insetos (2 µl/inseto), seguindo a metodologia proposta por Deb e Kumar (2020). Após exposição, os insetos foram mantidos nas condições ambientais da colônia de origem. Para todos os ensaios foram utilizados adultos jovens (até 07 dias) e larvas não sexadas e o controle foi realizado com acetona em mesma metodologia, sendo cada teste desenvolvido em triplicata.

#### **2.4 Avaliação dos efeitos dos óleos essenciais de *C. tricolor* sobre os índices nutricionais de *T. castaneum***

Antes da realização do bioensaio de toxicidade de contato e após 72 horas de exposição aos óleos essenciais de ramos e folhas de *C. tricolor* foram verificadas as massas dos insetos e dos meios de cultura contendo farinha de trigo para análise dos índices nutricionais conforme equações propostas por Napoleão e colaboradores (2013). Sendo elas:

1. *Taxa de Consumo Relativo* =  $A/(B \times \text{dias})$ ,

onde A é a massa do alimento ingerido em mg e B corresponde à biomassa inicial do inseto em mg;

2. *Taxa de Crescimento Relativa* =  $C/(B \times \text{dias})$ ,

onde C corresponde à biomassa obtida em mg; e

3. *Eficiência de Conversão do Alimento Ingerido* =  $C/(A \times 100)$ .

#### **2.5 Avaliação dos índices bioquímicos *T. castaneum* após exposição aos óleos essenciais *C. tricolor***

Com a finalidade de analisar os efeitos bioquímicos da exposição aos óleos essenciais de *C. tricolor*, avaliaram-se os níveis de proteínas totais, açúcares totais, glicose, colesterol e triglicerídeos 24 h após exposição. Para

tanto, foram preparados os extratos dos insetos totais através de maceração em tampão fosfato de sódio 50 mM / pH 7,5 acrescido de NaCl 50 mM. Em seguida, os extratos foram centrifugados por 15 minutos a 6.000 x g a 4° C e o sobrenadante foi coletado.

A quantificação de proteínas totais foi realizada através do método de Bradford (1976) com albumina sérica bovina como proteína padrão (0,009-250 µg/mL) e para determinação de açúcares totais foi utilizado o método colorimétrico proposto por Dubois e colaboradores (1956). As análises de glicose, colesterol e triglicerídeos foram realizadas utilizando a metodologia padrão dos kits comerciais (Quibasa-Bioclin, Belo Horizonte, BR). Todos os testes foram realizados em triplicata com tampão fosfato de sódio 50 mM / pH 7,5 acrescido de NaCl 50 mM como controle negativo.

Assim, foram analisados, separadamente, os efeitos bioquímicos dos insetos que morreram (grupo mortos) e dos que sobreviveram (grupo vivos) após 24 horas de exposição aos óleos essenciais, utilizando-se como controle indivíduos da mesma colônia expostos apenas à acetona e mantidos em mesmas condições de meio de cultura e ambiente dos insetos tratados.

## **2.6 Efeitos dos óleos essenciais de *C. tricolor* sobre a reprodução de *T. castaneum***

A avaliação dos impactos sobre a reprodução foi realizada por meio da metodologia adaptada de Lima e colaboradores (2020), através da qual a capacidade dos insetos de reproduzirem-se após 28 dias da exposição por contato à DL<sub>50</sub> de OERCT e OEFCT foi avaliada a partir da contagem do número de larvas emergidas durante o bioensaio e de adultos vivos ao final dos 28 dias, sendo o resultado apresentado através da média de larvas emergidas por adulto vivo de cada grupo (larvas/adulto).

## **2.7 Análise estatística**

As análises estatísticas foram realizadas utilizando o software SPSS® statistics (versão: 28.0.0.0). Após verificação dos parâmetros de homogeneidade e normalidade das variâncias, foi aplicado o teste de Tukey para comparação de médias. Em todos os casos, foi considerado nível de significância mínimo com valor  $p < 0,05$ .



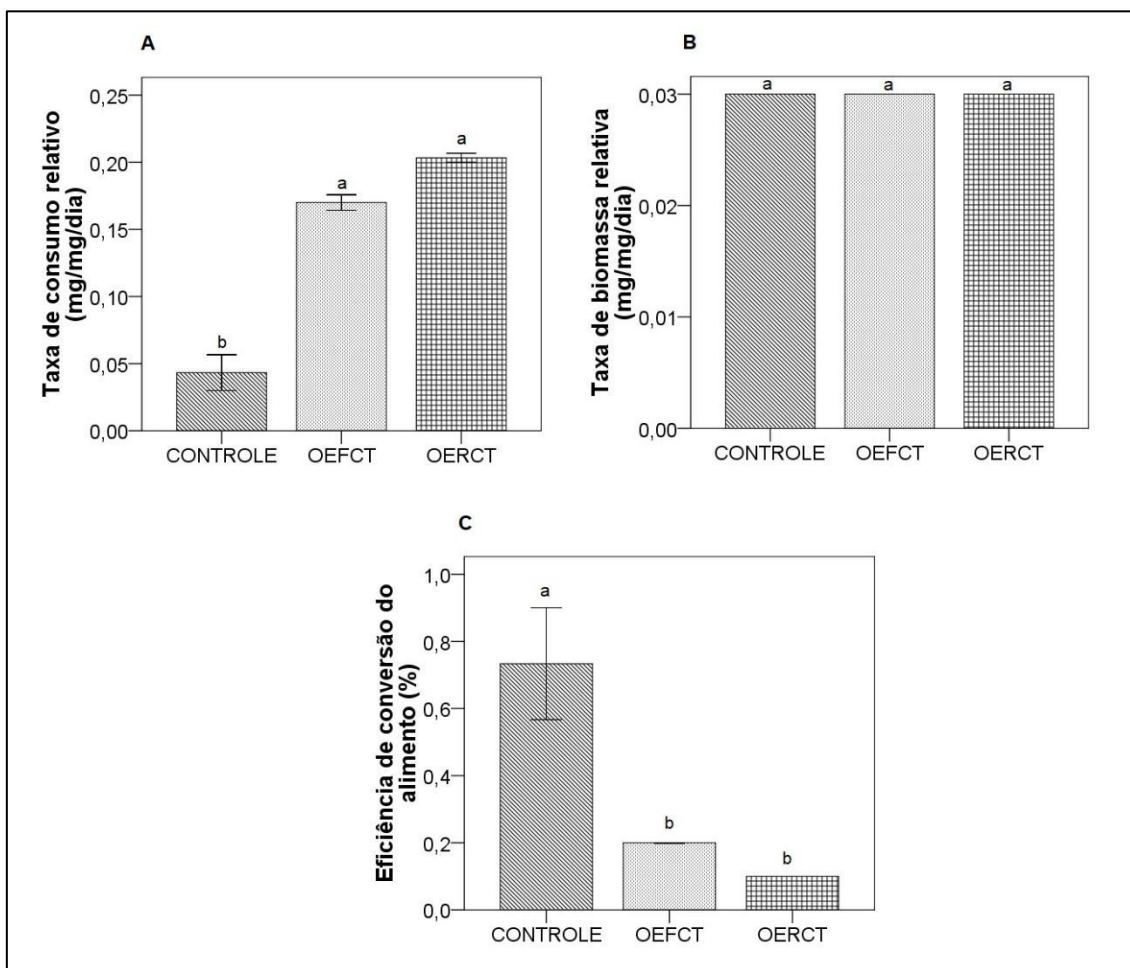
### 3 RESULTADOS

#### 3.1 Índices nutricionais de *T. castaneum*

A partir da análise dos índices nutricionais de adultos de *T. castaneum*, 72 horas após a exposição por contato aos óleos essenciais de *C. tricolor* na dose de 0,923 µg/adulto para OEFCT e 2,193 µg/adulto para OERCT, foi possível observar que os grupos tratados apresentaram consumo relativo do alimento significativamente maior que o grupo controle ( $p < 0,05$ ), porém sem aumento de biomassa dos insetos (Figuras 1A e 1B).

Tais dados demonstram que os insetos dos grupos tratados tentaram compensar os efeitos deletérios da exposição aos óleos essenciais modificando seu comportamento em relação à ingestão da dieta, porém esse esforço resultou em maior gasto de energia ou na redução da absorção e/ou transporte de nutrientes da dieta, com baixas eficiências na conversão do alimento ingerido (Figura 1C) quando comparado ao grupo controle, não havendo diferença estatisticamente significativa entre os grupos tratados com DL<sub>50</sub> de OERCT e OEFCT.

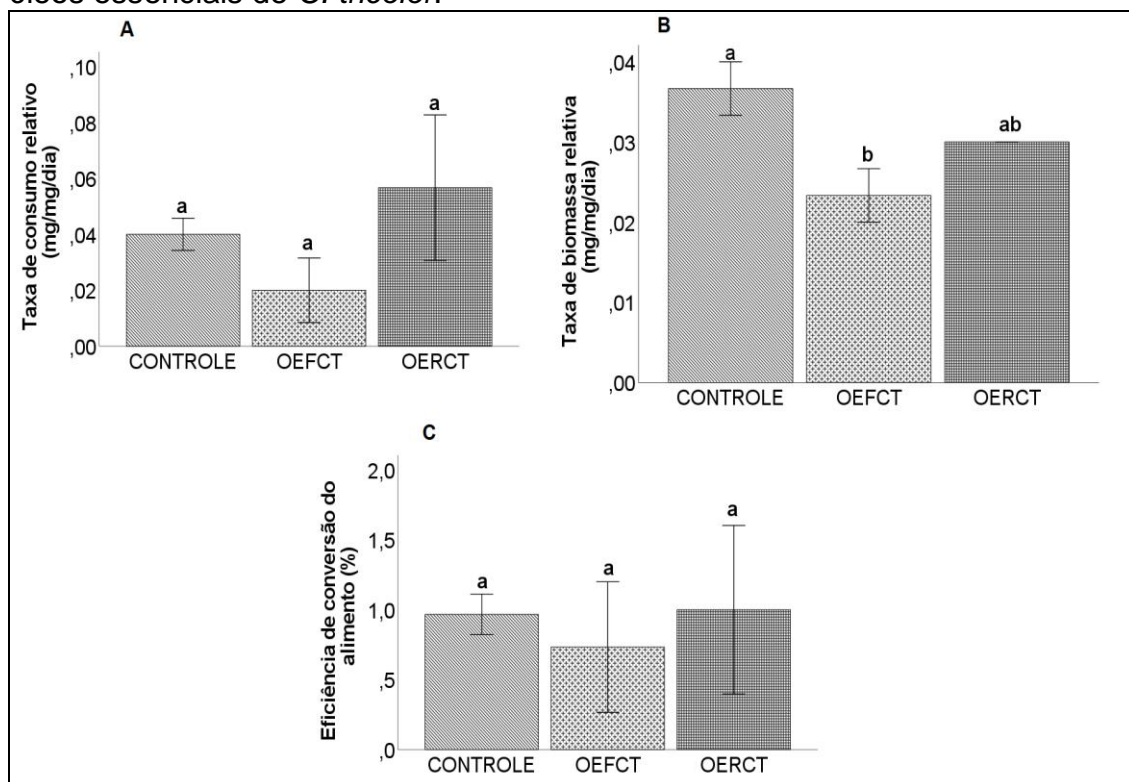
Figura 1 - Índices nutricionais de adultos jovens de *T. castaneum* após exposição aos óleos essenciais de *C. tricolor*.



A: taxa de consumo do alimento; B: taxa relativa de biomassa do inseto; C: eficiência de conversão do alimento ingerido. Cada grupo teve 10 indivíduos e cada barra corresponde à média  $\pm$  a diferença estatística de três repetições. Letras diferentes indicam diferenças significativas ( $p < 0,05$ ) entre os grupos pelo teste de Tukey.

Quanto aos índices nutricionais das larvas expostas à dose de 0,151 mg/larva de OEFCT e 0,262 mg/larva de OERCT, observa-se que a exposição por contato aos óleos essenciais não provocou alteração nos parâmetros de consumo relativo e eficácia de conversão do alimento ingerido, quando comparadas ao controle (Figuras 2A e 2C), apesar de ter ocorrido uma redução significativa na biomassa dos indivíduos tratados com OEFCT (Figura 2B).

Figura 2 - Índices nutricionais de larvas de *T. castaneum* após exposição aos óleos essenciais de *C. tricolor*.



A: taxa de consumo do alimento; B: taxa relativa de biomassa do inseto; C: eficiência de conversão do alimento ingerido. Cada grupo teve 10 indivíduos e cada barra corresponde à média  $\pm$  a diferença estatística de três repetições. Letras diferentes indicam diferenças significativas ( $p < 0,05$ ) entre os grupos pelo teste de Tukey.

### 3.2 Alterações metabólicas de *T. castaneum* após ensaio de toxicidade de contato

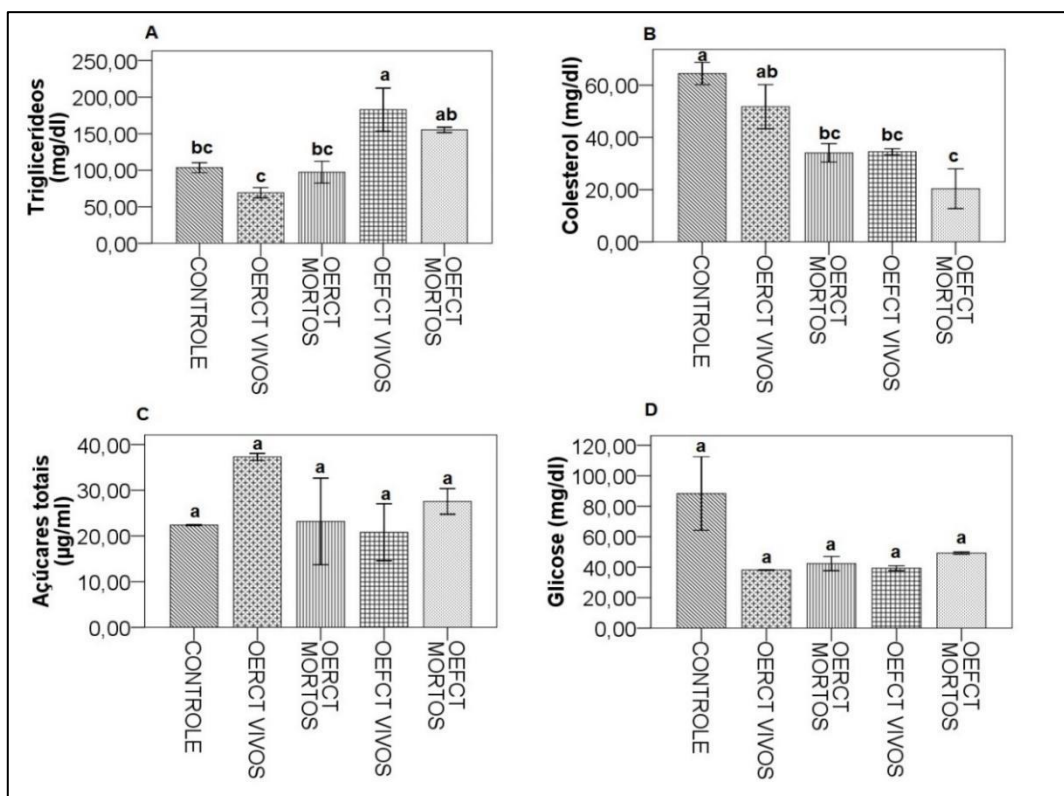
Com a finalidade de elucidar os efeitos bioquímicos da exposição aos óleos essenciais de *C. tricolor* verificou-se os teores de triglicerídeos, colesterol, açúcares totais e glicose para cada 10  $\mu$ g de proteína dos insetos, o que possibilitou identificar que a exposição ao OEFCT resultou num aumento de triglicerídeos nos adultos jovens que sobreviveram após 24 horas de exposição (182,89 mg/dl), havendo diferença significativa ( $p < 0,05$ ) entre este grupo e o controle (103,48 mg/dl) e entre este grupo e os que sobreviveram à exposição ao OERCT (69,11 mg/dl), não havendo diferença significativa deste índice entre os insetos que sobreviveram e os que morreram (155,23 mg/dl) após exposição ao OEFCT.

No que se refere aos índices de colesterol dos adultos, foi possível identificar, quando comparado ao controle (66,48 mg/dl), uma redução estatisticamente significativa nos dois grupos expostos ao OEFCT (vivos: 34,50

mg/dl; mortos: 20,35 mg/dl) e no grupo que morreu em até 24 horas após exposição ao OERCT (34,10 mg/dl), demonstrando uma forte interferência nos índices de colesterol total dos insetos, provocada pela exposição aos óleos essenciais de *C. tricolor*, mais acentuada na exposição ao OEFCT (Figura 3B).

Por sua vez, os índices de açúcares totais e glicose não sofreram alteração significativa ( $p > 0,05$ ) pela exposição aos óleos essenciais de *C. tricolor*, podendo esses índices não estarem relacionados com os efeitos tóxicos dos óleos sobre o *T. castaneum* na fase adulta (Figuras 3C e 3D).

Figura 3 - Perfil bioquímico total de adultos de *T. castaneum* expostos aos óleos essenciais de *C. tricolor*.



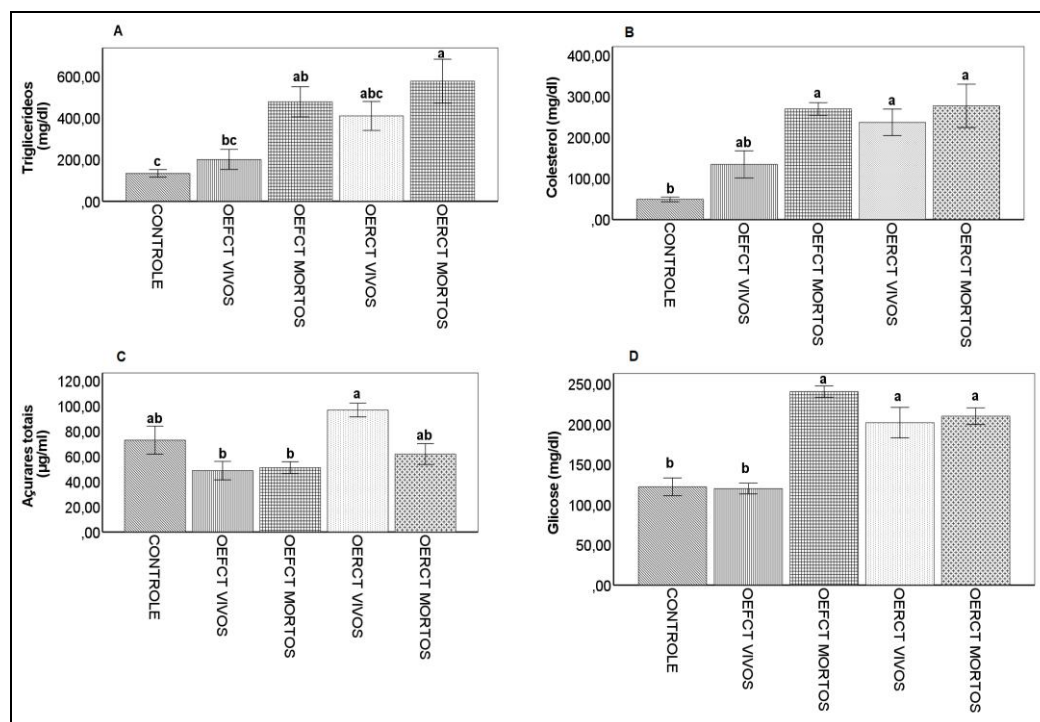
A: triglicérides totais; B: colesterol total; C: açúcares totais; D: glicose total. Cada barra indica a média  $\pm$  diferença estatística de três repetições. Letras diferentes indicam diferenças significativas ( $p < 0,05$ ) entre os grupos utilizando o teste de Tukey.

As larvas mostraram-se mais sensíveis às alterações bioquímicas provocadas pela exposição por contato aos óleos essenciais de *C. tricolor*, uma vez que foram observadas alterações significativas nos índices de triglicérides, colesterol e glicose 24 horas após exposição à  $DL_{50}$ , quando comparados ao grupo controle.

O índice de triglicerídeos (Figura 4A) mostrou-se elevado nas larvas mortas após exposição ao OEFCT e OERCT (478,07 mg/dl e 577,12 mg/dl, respectivamente) quando comparado ao controle (134,36 mg/dl), enquanto o índice de colesterol total (Figura 4B) mostrou-se significativamente elevado tanto nas larvas que morreram após exposição ao OERCT (276,98 mg/dl) e OEFCT (269,35 mg/dl) quanto naquelas que sobreviveram após exposição ao OERCT (236,69 mg/dl), com aumento médio de 431% nesses grupos em relação ao grupo controle (49,15 mg/dl).

Quanto ao índice de glicose, observa-se o mesmo padrão de aumento nos grupos mortos em até 24 horas após a exposição ao OEFCT (240,58 mg/dl) e OERCT (210,06 mg/dl) e no grupo de larvas que sobreviveram após exposição ao OERCT (202,02 mg/dl), tendo o grupo controle apresentado índice de colesterol de 122,23 mg/dl (Figura 4D). Porém, não foi observada alteração estatisticamente significativa ( $p > 0,05$ ) nos índices de açúcares totais dos grupos tratados com óleos essenciais de *C. tricolor* quando comparado ao grupo não tratado (Figura 4C).

Figura 4 - Perfil bioquímico total de larvas de *T. castaneum* expostos aos óleos essenciais de *C. tricolor*.



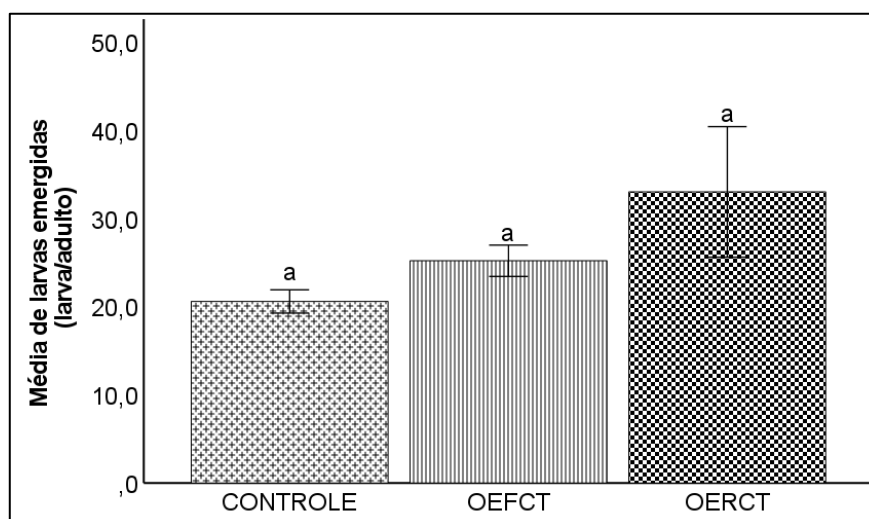
A: triglicerídeos totais; B: colesterol total; C: açúcares totais; D: glicose total. Cada barra indica a média  $\pm$  diferença estatística de três repetições. Letras diferentes indicam diferenças significativas ( $p < 0,05$ ) entre os grupos utilizando o teste de Tukey.

Tais dados, associados aos índices nutricionais das larvas tratadas, reforçam que a exposição aos óleos essenciais de *C. tricolor* provocam diferentes alterações metabólicas no *T. castaneum* a depender do estágio de vida desse inseto e de suas características fisiológicas de absorção e biossíntese de lipídios e carboidratos a partir da dieta.

### 3.3 Efeitos sobre a reprodução de *T. castaneum* após ensaio de toxicidade de contato

Vinte e oito dias após a realização do bioensaio de toxicidade de contato, através da exposição à dose de OEFCT de 0,923 µg/adulto e à dose de OERCT de 2,193 µg/adulto, correspondentes às doses letais de 50% (DL<sub>50</sub>) para exposição em 24 horas, não foi observada diferença estatisticamente significativa entre os grupos tratados e o grupo controle ( $p > 0,05$ ), o que indica ausência de efeitos sobre a reprodução do *T. castaneum* provocados pela exposição aos óleos essenciais de *C. tricolor* (Figura 5).

Figura 5 – Média de larvas de *T. castaneum* emergidas 28 dias após a exposição aos óleos essenciais de *C. tricolor*.



Cada grupo teve 10 indivíduos e cada barra indica a média  $\pm$  diferença estatística de três repetições. Letras diferentes indicam diferenças significativas ( $p < 0,05$ ) entre os grupos utilizando o teste de Tukey.

## 4 DISCUSSÃO

Quanto à avaliação dos índices bioquímicos de *T. castaneum*, esse foi o primeiro estudo a avaliar as alterações metabólicas relacionadas a triglicerídeos, colesterol e açúcares totais após exposição a óleos essenciais de plantas em Coleópteros e os resultados apontaram uma redução significativa nos níveis de colesterol nos insetos adultos tratados com óleos essenciais de *C. tricolor*, quando comparados ao grupo controle, indicando uma forte relação desta alteração metabólica com a toxicidade desses óleos essenciais, uma vez que os grupos que apresentaram maior toxicidade por contato também foram aqueles que apresentaram maior redução dos índices de colesterol.

O colesterol possui um papel essencial no desenvolvimento dos insetos, por estar relacionado com a estabilidade e arquitetura das membranas plasmáticas e por atuar como precursor de outros metabólitos, a exemplo de hormônios esteroides e vitamina D. Porém, os insetos não são capazes de produzir o colesterol de forma endógena, em virtude da ausência de enzimas chaves para a síntese desse, e dependem das fontes dietéticas para obter o colesterol de forma exógena e garantir o crescimento, desenvolvimento e reprodução normais (PERERA; WIJERATHNA, 2019).

Em virtude da necessidade de captar colesterol de suas plantas hospedeiras, essa via única de absorção, transferência e acúmulo de colesterol no corpo é crítica para os insetos e a literatura descreve o envolvimento indispensável da proteína transportadora de esterol 2 (SCP-2) na absorção e transporte de esteroides, uma vez que essas proteínas são responsáveis pelo transporte intracelular do colesterol, do lado luminal para o lado basal do epitélio do intestino médio ou de gotículas de lipídios para a membrana citoplasmática no corpo gorduroso de insetos (JING; BEHMER, 2020; LARSON *et al.*, 2008).

Assim, a inibição da ligação do colesterol à SCP-2 afeta efetivamente a absorção de colesterol e o metabolismo em insetos (MA *et al.*, 2015). De modo que, os inibidores de SCP-2 (ISCPs) possuem atividade larvívica comprovada contra os insetos *Aedes aegypti*, *Aedes albopictus* e *Manduca sexta*, ou ainda podem interferir nos mecanismos de resistência do mosquito *Culex quinquefasciatus* ao inseticida permetrina (KIM; WESSELY; LAN, 2005;



LARSON *et al.*, 2008; LI; LAN; LIU, 2009; KUMAR *et al.*, 2010; FRANÇA *et al.*, 2020).

França e colaboradores (2020), ao analisarem o potencial inseticida dos óleos essenciais de *Piper capitarianum* contra *Aedes aegypti* e *Aedes albopictus*, identificaram que as moléculas de trans-cariofileno e humuleno, presentes nos óleos dessa planta, foram capazes de inibir a AeSCP-2 (*Aedes aegypti sterol carrier protein-2*) por possuir afinidade pelo sítio ativo dessa enzima, indicando que óleos essenciais que contenham altas concentrações de cariofileno e humuleno possuem boa atividade inseticida.

Apesar de não terem sido encontrados estudos acerca da função e especificidade das SCP-2 no crescimento, desenvolvimento e reprodução de *T. castaneum*, os resultados deste estudo apontam para a hipótese de haver relação entre a redução da absorção de colesterol e a toxicidade dos óleos essenciais de *C. tricolor*, a partir da inibição de proteínas transportadoras de esterol.

Em adição, tem-se que os adultos dos grupos tratados alteraram seu padrão de consumo de alimento aumentando a taxa de consumo relativo, quando comparado ao controle, porém sem haver conversão em aumento de biomassa. Tais resultados apontam fortemente para a hipótese de que os óleos essenciais de *C. tricolor* são capazes de interferir na absorção, transferência e acúmulo de colesterol no corpo do inseto, de modo que esses aumentam o consumo do alimento na tentativa de compensar esse efeito deletério dos óleos essenciais.

A literatura aponta metodologias promissoras para esclarecer essa hipótese, como a expressão e purificação de proteínas SCP-x e SCP-2 para posterior análise da intensidade de ligação dessas proteínas por meio de ensaio de deslocamento de fluorescência com sonda 1,8-ANS, através da qual foi possível identificar compostos que inibiram o crescimento de larvas de *Spodoptera litura*, ou ainda para análise de fluorescência com colesterol NBD, que permitiu a identificação de inibidores de AeSCP-2 (KIM; WESSELY; LAN, 2005; ZHANG *et al.*, 2014).

Neste estudo, as larvas de *T. castaneum* apresentam padrão de resposta metabólica diferente dos adultos, quando expostas aos óleos essenciais de *C. tricolor*, uma vez que se identificou elevação dos níveis de colesterol,



triglicerídeos e glicose nos indivíduos que morreram após exposição aos óleos essenciais e aumento de colesterol e glicose naqueles que sobreviveram à exposição ao óleo essencial de ramos, com pouca ou nenhuma alteração dos parâmetros nutricionais.

Em estudo desenvolvido por Jouni, Zamora e Wells (2002), com a finalidade de descrever a absorção e distribuição tecidual de colesterol na espécie *Manduca sexta*, os autores evidenciaram que, mesmo na ausência de consumo de colesterol dietético na fase de pupa, ocorre um aumento de colesterol no organismo desse inseto, o que indica que a fonte desse aumento é o corpo gorduroso, pois estudos anteriores apontaram que no estágio larval dessa mesma espécie o corpo gorduroso é convertido de um armazenamento de lipídios para um órgão mobilizador de lipídio em condições adversas.

O corpo gorduroso dos insetos possui origem embrionária e caracteriza-se por ser um órgão do metabolismo intermediário, sendo reconhecido como o principal local de armazenamento de reservas, como lipídios, carboidratos e proteínas, principalmente no estágio larval, onde o excesso de nutriente ingerido fica armazenado nesse órgão para ser mobilizado em momento de alta demanda energética (FERREIRA; TOMOTAKE; CONTE, 2011).

Além da mobilização de colesterol descrita por Jouni, Zamora e Wells (2002), o corpo gorduroso também fornece glicose, que é armazenada na forma de glicogênio e pode ser prontamente degradada sob demanda para ser utilizada como combustível glicolítico, e triglicerídeos, que são sintetizados a partir de ácidos graxos e em momento de demanda energética são acessados por meio de ação coordenada das lipases (ARRESE; SOULAGES, 2010).

Essas três fontes energéticas, acessadas pelo inseto através do corpo gorduroso em situações de alta demanda, mostraram-se elevadas em larvas de *T. castaneum* expostas aos óleos essenciais de *C. tricolor*, demonstrando que os efeitos deletérios desses óleos provocaram maior demanda metabólica na tentativa de manter as funções vitais desses indivíduos. Porém, essa capacidade de acessar as reservas energéticas do corpo gorduroso não se fez presente na fase adulta. Dado esse que corrobora os achados de Hashem e colaboradores (2020), que apontam uma redução significativa nos índices de glicose dos indivíduos adultos de *T. castaneum* quando expostos à nanoemulsões de óleo essencial de *Pimpinella anisum*.

Porém, mesmo o acesso a essas fontes energéticas não impediu a mortalidade de larvas nos ensaios de toxicidade de contato com óleos essenciais de *C. tricolor*, demonstrando que outros mecanismos podem estar sendo somados a esse para provocar a mortalidade desse inseto. Isso reforça que os diversos compostos presentes nos óleos essenciais atuam de forma sinérgica para promover o potencial inseticida, mostrando a relevância desses produtos para o gerenciamento de resistência dos insetos, pois a resistência a cada inseticida é codificada por um único gene e, embora a resistência poligênica seja comum, as falhas de controle são principalmente devido a genes principais únicos (SOUTH; HASTINGS, 2018).

No que se refere aos efeitos sobre a reprodução, os resultados deste estudo apontaram que os óleos essenciais de *C. tricolor* não exercem influência significativa sobre a reprodução dos insetos que sobreviveram à exposição de contato à DL<sub>50</sub>. Esse fato pode estar associado à ausência de impactos sobre os níveis de triglicerídeos desses insetos em ensaio de toxicidade de contato, uma vez que os triglicerídeos representam mais de 90% dos lipídios armazenados no corpo gorduroso, sendo essenciais para a reprodução dos insetos (ARRESE; SOULAGES, 2010).

## 5 CONCLUSÃO

Os óleos essenciais de ramos e folhas de *C. tricolor* provocaram diferentes alterações nos aspectos nutricionais e metabólicos de *T. castaneum*, a depender do estágio de vida desse inseto, porém sem efeitos sobre a reprodução. Os efeitos tóxicos em adultos parecem estar relacionados com a inibição de captação de colesterol, repercutindo em aumento do consumo de alimento, que não é convertido em aumento de biomassa.

As larvas apresentam aumento significativo nos níveis de colesterol, triglicerídeos e glicose, demonstrando que os efeitos deletérios da exposição aos óleos essenciais resultaram em maior demanda metabólica para manter a homeostase desse inseto, provavelmente provocando o acesso às fontes energéticas armazenadas no corpo gorduroso, mas isso não impediu a mortalidade. Dessa forma, os óleos essenciais de *C. tricolor* mostram-se promissores para o controle de *T. castaneum* em produtos armazenados, uma

vez que mais de um mecanismo de ação pode estar envolvido em seu potencial inseticida.

## REFERÊNCIAS

AL-ROWAILY, S. L. et al. Essential Oil of *Calotropis procera*: Comparative Chemical Profiles, Antimicrobial Activity, and Allelopathic Potential on Weeds. **Molecules**, [s.l.], v. 25, n. 1, p. 1-19, Nov. 2020.

ARRESE, E. L.; SOULAGES, J. L. Insect fat body: energy, metabolism, and regulation. **Annual review of entomology**, Palo Alto, v. 55, p. 1-19, 2010.

BEDINI, S. et al. Essential oils sensory quality and their bioactivity against the mosquito *Aedes albopictus*. **Scientific reports**, [s.l.], v. 8, p. 1-10, Dec. 2018.

BRADFORD, M. M. A rapid and sensitive method for the quantitation of micrograms quantities for proteins utilizing the principle of protein-dye binding. **Analytical biochemistry**, [s.l.], v. 72, p. 248–254, May 1976.

BRÜGGER, B. P. et al. Bioactivity of the *Cymbopogon citratus* (Poaceae) essential oil and its terpenoid constituents on the predatory bug, *Podisus nigrispinus* (Heteroptera: Pentatomidae). **Scientific reports**, [s.l.], v. 9, p. 1-8, June 2019.

DEB, M.; KUMAR, D. Bioactivity and efficacy of essential oils extracted from *Artemisia annua* against *Tribolium castaneum* (Herbst. 1797) (Coleoptera: Tenebrionidae): an eco-friendly approach. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, [s.l.], v. 189, p. 1-7, Feb. 2020.

DUBOIS, M.; GILLES, K. A.; HAMILTON, J. K.; REBERS, P. A.; SMITH, F. Colorimetric method for determination of sugars and related substances. **Analytical chemistry**, [s.l.], v. 28, n. 3, p. 350-356, Mar. 1956.

FERREIRA, R. A. C.; TOMOTAKE, M. E. M.; CONTE, H. Morfo-histologia do corpo gorduroso perivisceral em adultos de *Hedypathes betulinus* (Klug, 1825) (Coleoptera, Cerambycidae). **Ambiência Guarapuava**, [s.l.], v. 7, n. 3, p. 489-499, set./dez. 2011.

FRANÇA, L. P. et al. *Piper capitarianum* essential oil: a promising insecticidal agent for the management of *Aedes aegypti* and *Aedes albopictus*.

**Environmental Science and Pollution Research**, Landsberg, v. 28, n. 8, p. 9760-9776, Nov. 2020.

HASHEM, A. S. et al. Pimpinella anisum Essential Oil Nanoemulsion Toxicity against *Tribolium castaneum*? Shedding Light on Its Interactions with Aspartate Aminotransferase and Alanine Aminotransferase by Molecular Docking. **Molecules**, [s.l.], v. 25, n. 20, p. 1-17, Oct. 2020.

JING, X.; BEHMER, S. T. Insect Sterol Nutrition: Physiological Mechanisms, Ecology, and Applications. **Annual review of entomology**, Palo Alto, v. 65, p. 251-271, Jan. 2020.

JOUNI, Z. E.; ZAMORA, J.; WELLS, M. A. Absorption and tissue distribution of cholesterol in *Manduca sexta*. **Archives of insect biochemistry and physiology**, New York, v. 49, n. 3, p. 167-175, Mar. 2002.

KIM, M.; WESSELY, V.; LAN, Q. Identification of mosquito sterol carrier protein-2 inhibitors. **Journal of Lipid Research**, Memphis, v. 46, n. 4, p. 650-657, May 2005.

KUMAR, R. B. et al. A search for mosquito larvicidal compounds by blocking the sterol carrying protein, AeSCP-2, through computational screening and docking strategies. **Pharmacognosy Research**, Mumbai, v. 2, n. 4, p. 247-254, July 2010.

LARSON, R. T. et al. Larvicidal Activity of Sterol Carrier Protein-2 Inhibitor in Four Species of Mosquitoes. **Journal of medical entomology**, Honolulu, v. 45, n. 3, p. 439-444, May 2008.

LI, T.; LAN, Q.; LIU, N. Larvicidal Activity of Mosquito Sterol Carrier Protein-2 Inhibitors to the Insecticide-Resistant Mosquito *Culex quinquefasciatus* (Diptera: Culicidae). **Journal of Medical Entomology**, Honolulu, v. 46, n. 6, p. 1430-1435. Nov. 2009.

LIMA, J. K. A. et al. Biototoxicity of aqueous extract of *Genipa americana* L. bark on red flour beetle *Tribolium castaneum* (Herbst). **Industrial Crops and Products**, [s.l.], v. 156, p. 1-6, Nov. 2020.

LIU, M. et al. Chemical Composition and Bioactivity of Essential Oil of Ten Labiatae Species. **Molecules**, [s.l.], v. 25, n. 20, p. 1-18, Oct. 2020.

MA, H. et al. NMR structure and function of *Helicoverpa armigera* sterol carrier protein-2, an important insecticidal target from the cotton bollworm. **Scientific reports**, [s.l.], v. 5, p. 1-14, Dec. 2015.

NAPOLEÃO, T. H. et al. Deleterious effects of *Myracrodruon urundeuva* leaf extract and lectin on the maize weevil, *Sitophilus zeamais* (Coleoptera, Curculionidae). **Journal of Stored Products Research**, [s.l.], v. 54, p. 26-33, July 2013.

PERERA, H.; WIJERATHNA, T. Sterol Carrier Protein Inhibition-Based Control of Mosquito Vectors: Current Knowledge and Future Perspectives. **Canadian Journal of Infectious Diseases and Medical Microbiology**, [s.l.], v. 2019, p. 1-6, July 2019.

SOUTH, A.; HASTINGS, I. M. Insecticide resistance evolution with mixtures and sequences: a model-based explanation. **Malaria Journal**, [s.l.], v. 17, n. 80, p. 1-20, Feb. 2018.

ZAO, X. et al. Chemical Composition, Antibacterial, Anti-Inflammatory, and Enzyme Inhibitory Activities of Essential Oil from *Rhynchanthus beesianus* Rhizome. **Molecules**, [s.l.], v. 26, n. 1, p. 1-12, 2021.

ZHANG, L. et al. Structural and functional analyses of a sterol carrier protein in *Spodoptera litura*. **PloS one**, San Francisco, v. 9, n. 1, p. 1-13, Jan. 2014.

## CONCLUSÃO

---

## 4 CONCLUSÃO

A espécie *C. tricolor* produz óleos essenciais de coloração amarelo-límpido, com maior acúmulo em folhas, e ricos em sesquiterpenos, em especial Cariofileno, Epatulenol e  $\gamma$ -Elemeno para folhas e Guaiol,  $\beta$ -Elemeno e Dihidroagarofurano para ramos, quando extraídos por hidrodestilação.

Os óleos essenciais dessa espécie vegetal apresentam elevado percentual de repelência contra *T. castaneum*. O óleo de folhas apresentou o mais alto percentual de repelência, equiparando-se ao repelente comercial DEET.

A sobrevivência de *T. castaneum* nas fases de larva e adulto é reduzida após exposição por contato aos óleos essenciais de *C. tricolor*, demonstrando que eles apresentam potencial inseticida contra esse inseto-praga, sendo os adultos mais suscetíveis aos efeitos tóxicos dos óleos essenciais.

A exposição por contato aos óleos essenciais provoca alterações nutricionais e metabólicas distintas em larvas e adultos de *T. castaneum*. O potencial inseticida em adultos parece estar relacionado com a inibição de captação de colesterol, enquanto nas larvas ocorre um aumento da demanda metabólica provavelmente provocando acesso às reservas energéticas do corpo gorduroso.

Apesar das alterações metabólicas distintas, a exposição por contato aos óleos essenciais de *C. tricolor* provocou a mortalidade de adultos e larvas, permitindo inferir que mais de um mecanismo de ação pode estar relacionado com os efeitos tóxicos dos óleos essenciais.

Dessa forma, os óleos essenciais de *C. tricolor* mostram-se como alternativa promissora para o controle de *T. castaneum* em produtos armazenados e sua biodisponibilidade pode ser favorecida através da técnica de encapsulamento, visando promover uma liberação controlada e aumentar a duração de sua ação.

A tais resultados soma-se o fato de que, na busca por patentes de produtos inseticidas contra *T. castaneum*, identificou-se uma tendência de mercado para a procura de inseticidas de origem natural e com baixo impacto para o meio ambiente e saúde humana, apesar de ser uma área pouco explorada para o controle desse inseto-praga.

## REFERÊNCIAS

---



## REFERÊNCIAS

- AHMAD, F. et al. Comparative insecticidal activity of different plant materials from six common plant species against *Tribolium castaneum* (Herbst). (Coleoptera:Tenebrionidae). **Saudi Journal of Biological Sciences**, [s.l.], v. 26, n. 7, p. 1804-1808. 2018.
- ASBAHANI, A. E. et al. Essential oils: from extraction to encapsulation. **International journal of pharmaceutics**, Amsterdam, v. 483, p. 220-243, Apr. 2015
- BAGAVAN, A.; RAHUMAN. A. A. Evaluation of larvicidal activity of medicinal plant extracts against three mosquito vectors. **Asian Pacific Journal of Tropical Medicine**, [s.l.], v. 4, n. 1, p. 29-34, Jan. 2011.
- BARBOSA, P. B. B. M. et al. Evaluation of seed extracts from plants found in the Caatinga biome for the control of *Aedes aegypti*. **Parasitology research**, Berlin, v. 113, n. 10, p. 3565-3580, Oct. 2014.
- CHANDRASEKARAN, T. et al. Larvicidal activity of essential oil from *Vitex negundo* and *Vitex trifolia* on dengue vector mosquito *Aedes aegypti*. **Journal of the Brazilian Society of Tropical Medicine**, v. 52, p. 1-5, 2019.
- CHERNAKI, A. M.; ALMEIDA, L. M. Morfologia dos estágios imaturos e do adulto de *Alphitobius diaperinus* (Panzer) (Coleoptera, Tenebrionidae). **Revista brasileira de Zoologia**, v. 18, n. 2, p. 351-363, 2001.
- COSTA-LIMA, A. **Insetos do Brasil: coleópteros**. 2ª parte. Rio de Janeiro: Escola Nacional de Agronomia, 1952. 323p.
- CRUZ, R. C. D. et al. Toxicological Evaluation of Essential Oil From the Leaves of *Croton argyrophyllus* (Euphorbiaceae) on *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae) and *Mus musculus* (Rodentia: Muridae). **Journal of medical entomology**, [s.l.], v. 54, n. 4, p. 985-993, July 2017.
- DAWSON, P. S. Life history strategy and evolutionary history of *Tribolium* flour beetles. **Evolution; international journal of organic evolution**, Lancaster, v. 31, n. 1, p. 226-229, Mar. 1977.

DEEPA, J. et al. Larvicidal activity of indian medicinal plants on the dengue fever mosquito, *Aedes aegypti* Linnaeus. **International Journal of Pure and Applied Zoology**, [s.l.], v. 3, n. 2, p. 130-136, 2015.

DEWICK, P. M. **Medicinal natural products: a biosynthetic approach**. 3th ed. New Jersey: John Wiley & sons, 2008. 539p.

DÍAZ, J. G. et al. Antimicrobial activity of leaf extracts and isolated constituents of *Croton linearis*. **Journal of ethnopharmacology**, [s.l.], v. 236, p. 250-257. May 2019.

DOHUTIA, C. et al. Larvicidal activity of few select indigenous plants of North East India against disease vector mosquitoes (Diptera:Culicidae). **Tropical Biomedicine**, Kuala Lumpur, v. 32, n. 1, p. 17-23. Mar. 2015.

DÓRIA, G. A. et al. A study of the larvicidal activity of two *Croton* species from northeastern Brazil against *Aedes aegypti*. **Pharmaceutical Biology**, London, v. 48, n. 6, p. 615-620, June 2010.

DUTTA, S. et al. Amelioration of CCl<sub>4</sub> induced liver injury in swiss albino mice by antioxidant rich leaf extract of *Croton bonplandianus* Baill. **PLoS one**, San Francisco, v. 13, n. 4, p. 1-30, Apr. 2018.

EMBRAPA. **Metabólitos secundários encontrados em plantas e sua importância**. Pelotas: Embrapa Clima Temperado. 2010. 16p.

FERREIRA, S. B. **Investigação dos efeitos antimicrobiano, citotóxico e genotóxico do óleo essencial das folhas de *Croton tricolor* Klotzsch ex Baill (Euphorbiaceae)**. 2014. 80 f. Dissertação (Mestrado em Produtos Naturais e Sintéticos Bioativos) – Centro de Ciências da Saúde, Universidade Federal da Paraíba, João Pessoa, 2014.

FLORA DO BRASIL. **Informações: *Croton tricolor* Klotzsch ex Baill**. 2020.

Disponível em:

[http://floradobrasil.jbrj.gov.br/reflora/listaBrasil/ConsultaPublicaUC/BemVindoConsultaPublicaConsultar.do?invalidatePageControlCounter=1&idsFilhosAlgas=%5B2%5D&idsFilhosFungos=%5B1%2C10%2C11%5D&lingua=&grupo=5&familia=null&genero=croton&especie=tricolor&autor=&nomeVernaculo=&nomeCompleto=&formaVida=null&substrato=null&ocorreBrasil=QUALQUER&ocorrencia=OCORRE&endemismo=TODOS&origem=TODOS&regiao=QUALQUER&estado=QUALQUER&ilhaOceanica=32767&domFitogeograficos=QUALQUER&bacia=QUALQUER&vegetacao=TODOS&mostrarAte=SUBESP\\_VAR&opcoesBusca=](http://floradobrasil.jbrj.gov.br/reflora/listaBrasil/ConsultaPublicaUC/BemVindoConsultaPublicaConsultar.do?invalidatePageControlCounter=1&idsFilhosAlgas=%5B2%5D&idsFilhosFungos=%5B1%2C10%2C11%5D&lingua=&grupo=5&familia=null&genero=croton&especie=tricolor&autor=&nomeVernaculo=&nomeCompleto=&formaVida=null&substrato=null&ocorreBrasil=QUALQUER&ocorrencia=OCORRE&endemismo=TODOS&origem=TODOS&regiao=QUALQUER&estado=QUALQUER&ilhaOceanica=32767&domFitogeograficos=QUALQUER&bacia=QUALQUER&vegetacao=TODOS&mostrarAte=SUBESP_VAR&opcoesBusca=)

TODOS\_OS\_NOMES&loginUsuario=Visitante&senhaUsuario=&contexto=consulta-publica Acesso em: 25 out. 2020.

FONTENELLE, R. O. S. et al. Antifungal activity of essential oils of Croton species from the Brazilian Caatinga biome. **Journal of applied microbiology**, Oxford, v. 104, n. 5, p. 1383-1390. May 2008.

FRANÇA-NETO, A. et al. Essential Oil of *Croton argyrophylloides*: Toxicological Aspects and Vasorelaxant Activity in Rats. **Natural Product Communications**, Westerville, v. 7, n. 10, p. 1397-1400, Oct. 2012.

GAIRE, S. et al. Insecticidal Properties of Essential Oils and Some of Their Constituents on the *Turkestan Cockroach* (Blattodea: Blattidae). **Journal of Economic Entomology**, [s.l.], v. 110, n. 2, p. 584-592, Mar. 2017.

GAIRE, S.; SCHARF, M. E.; GONDHALEKAR, A. D. Toxicity and neurophysiological impacts of plant essential oil components on bed bugs (Cimicidae: Hemiptera). **Scientific Reports**, [s.l.], v. 9, n. 2961, p. 1–12, Mar. 2019.

GASPAR, D. P. **Biodiversidade de Coleópteros em três áreas do município de Chapadinha – MA**. 2018. 31f. (Monografia Ciências Biológicas) – Centro de Ciências Agrárias e Ambientais, Universidade Federal do Maranhão, Chapadinha, 2018.

GOOD, N. E. **The flour beetles of the genus Tribolium**: technical bolletin. n. 498. Woshington: United States Department of Agriculture, 1936. 61p.

GUIMARÃES, L. G. L. Influência da luz e da temperatura sobre a oxidação do óleo essencial de capim-limão (*Cymbopogon citratus* (D.C.) Stapf). **Química Nova**, n. 31, v. 6, p. 1476-148, 2008.

GUO, S. et al. Contact and Repellent Activities of the Essential Oil from *Juniperus formosana* against Two Stored Product Insects. **Molecules**, [s.l.], v. 21, n. 504, p. 1-11, Apr. 2016.

HARO-GONZALÉZ, J. N. et al. Clove Essential Oil (*Syzygium aromaticum* L. Myrtaceae): Extraction, Chemical Composition, Food Applications, and Essential Bioactivity for Human Health. **Molecules**, [s.l.], v. 26, n. 21, p. 1-25, Oct. 2021.

IPNI. International Plant Names Index. **The Royal Botanic Gardens, Kew, Harvard University Herbaria & Libraries and Australian National Botanic Gardens**. 2020. Disponível em: <http://www.ipni.org>. Acesso em: 25 out. 2020.

ISAH, T. Stress and defense responses in plant secondary metabolites production. **Biological research**, [s.l.], v. 52, n. 1, p. 39, July 2019.

JARAMILLO-COLORADO, B.; DUARTE-RESTREPO, E.; JAIMES, L. Bioactividad del aceite esencial de *Croton trinitatis* Millsp Colombiano. **Boletín latinoamericano y del Caribe de plantas medicinales y aromáticas**, [s.l.], v. 15, n. 4, p. 249-257, jul. 2016.

JULIO, A. H. F. et al. Multiple resistance to pirimiphos-methyl and bifenthrin in *Tribolium castaneum* involves the activity of lipases, esterases, and laccase2. **Comparative Biochemistry and Physiology**, [s.l.], v. 195, p. 27-43, May 2017.

KALA, S. et al. Impregnation of pectin-cedarwood essential oil nanocapsules onto mini cotton bag improves larvicidal performances. **Scientific reports**, London, v. 10, n. 1, p. 1-12, Aug. 2020

KAVETSOU, E. et al. Encapsulation of *Mentha pulegium* Essential Oil in Yeast Cell Microcarriers: An Approach to Environmentally Friendly Pesticides. **Journal of agricultural and food chemistry**, [s.l.], v. 67, n. 17, p. 4746-4753, Apr. 2019

KHAREL, K. et al. Efficacy of Hypoxia against *Tribolium castaneum* (Coleoptera: Tenebrionidae) throughout Ontogeny. **Journal of Economic Entomology**, [s.l.], v. 112, n. 3, p. 1463–1468, June 2019.

KNAAK, N.; FIUZA, L. M. Potencial dos óleos essenciais de plantas no controle de insetos e microrganismos. **Neotropical Biology and Conservation**, [s.l.], v. 5, n. 2, p. 120-132, May/Aug. 2010.

KUNDU, A. et al. Protective effects of *Croton hookeri* on streptozotocin-induced diabetic nephropathy. **Food and chemical toxicology**, [s.l.], v. 135, p. 110873, Jan. 2020.

LESLIE, P. H.; PARK, T. The Intrinsic Rate of Natural Increase of *Tribolium Castaneum* Herbst. **Ecological Society of America**, [s.l.], v. 30, n. 4, p. 469-477, Oct. 1949.

- LIANG, J. Y. et al. Bioactivities and chemical constituents of essential oil extracted from *Artemisia anethoides* against two stored product insects. **Journal of Oleo Science**, Tokyo, v. 66, n. 1, p. 71–76, Jan. 2017.
- LIMA, E. J. S. P. et al. Antitumor Effect of the Essential Oil from the Leaves of *Croton matourensis* Aubl. (Euphorbiaceae). **Molecules**, [s.l.], v. 23, n. 11, p. 2974, Nov. 2018.
- LIMA, G. P. G. et al. Further insecticidal activities of essential oils from *Lippia sidoides* and *Croton* species against *Aedes aegypti* L. **Parasitology research**, Berlin, v. 112, n. 5, p. 1953-1958, May 2013a.
- LIMA, J. K. A. et al. Biototoxicity of some plant essential oils against the termite *Nasutitermes corniger* (Isoptera: Termitidae). **Industrial Crops and Products**, [s.l.], v. 47, p. 246-251, May 2013b.
- LÓPEZ, S. et al. *Zuccagnia punctata* Cav. Essential Oil into Poly( $\epsilon$ -caprolactone) Matrices as a Sustainable and Environmentally Friendly Strategy Biorepellent against *Triatoma infestans* (Klug) (Hemiptera, Reduviidae). **Molecules**, [s.l.], v. 26, n. 13, p. 1-11, July 2021.
- LORONI, I. et al. **Manejo integrado de pragas de grãos e sementes armazenados**. Brasília: Embrapa, 2015. 86p.
- LUJÁN, M.; LEÓN, Y.; RIINA, R. Sinopsis de *Croton* (Euphorbiaceae) en los andes de Mérida, Venezuela. **Caldasia**, v. 37, n. 1, p. 73-90, jan./june 2015.
- MAGIEROWICZ, K.; GÓRSKA-DRABIK, E.; SEMPRUCH, C. The insecticidal activity of *Satureja hortensis* essential oil and its active ingredient -carvacrol against *Acrobasis advenella* (Zinck.) (Lepidoptera, Pyralidae). **Pesticide Biochemistry and Physiology**, [s.l.], v. 153, p. 122-128, Jan. 2019.
- MARTINEZ, N. M.; ROCHA-LIMA, A. B. C. A importância dos insetos e as suas principais ordens. **UNISANTA Bioscience**, [s.l.], v. 9, n. 1, p. 1-13, 2020.
- MAVUNDZA, E. J. et al. Screening for adulticidal activity against *Anopheles arabiensis* in ten plants used as mosquito repellent in South Africa. **Malaria Journal**, [s.l.], v. 13, p. 1-5, May 2014.

MAVUNDZA, E. J. et al. Larvicidal activity against *Anopheles arabiensis* of 10 South African plants that are traditionally used as mosquito repellents. **South African Journal of Botany**, [s.l.], v. 88, p. 86-89, Sept. 2013.

MEHMOOD, K. et al. Changes in the nutritional composition of maize flour due to *Tribolium castaneum* infestation and application of carbon dioxide to manage this pest. **Environmental Science and Pollution Research**, Landsberg, v. 25, n. 19, p. 18540–18547, July 2018.

MEIRA, C. H. F. **Análise da composição do óleo essencial de *Croton tricolor* como um modelo na criação de acordes em fragrâncias na indústria da perfumaria**. 2018. 50f. Dissertação (Mestrado em Ciências) – Instituto de Química, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2018.

MELO, B. A. et al. Bioatividade de pós de espécies vegetais sobre a reprodução de *Callosobruchus maculatus* (Fabr. 1775) (Coleoptera: Bruchidae). **Bioscience Journal**, [s.l.], v. 30, n. supp. 1, p. 346-353, jun. 2014.

MERTZ, D. B. Life history phenomena in increasing and decreasing populations. **International Symposium on Statistical Ecology**, [s.l.], v. 2, p. 361-399, 1971.

MIRANDA, F. M. et al. Sanitation Improves Stored Product Insect Pest Management. **Insects**, [s.l.], v. 10, n. 77, p. 1-20, Mar. 2019.

MORAIS, S. M. et al. Larvicidal activity of essential oils from Brazilian *Croton* species against *Aedes aegypti* L. *Journal of the American Mosquito Control Association*, [s.l.], v. 22, n. 1, p. 161-164, Mar. 2006.

MORRISON, W. R. et al. Methyl Benzoate as a Putative Alternative, Environmentally Friendly Fumigant for the Control of Stored Product Insects. **Journal of Economic Entomology**, [s.l.], v. 112, n. 5, p. 2458–2468, Sept. 2019a.

MORRISON, W. R. et al. Sanitation improves stored product insect pest management. **Insects**, Basel, v. 10, n. 3, p. 1–20, Mar. 2019b.

MOURA, E. S. et al. Insecticidal activity of *Vanillosmopsis arborea* essential oil and of its major constituent  $\alpha$ -bisabolol against *Callosobruchus maculatus* (Coleoptera: Chrysomelidae). **Scientific Reports**, [s.l.], v. 9, n. 1, p. 1-8, Mar. 2019.

MOURA, E. S. et al. Toxicological Stability of *Ocimum basilicum* Essential Oil and Its Major Components in the Control of *Sitophilus zeamais*. **Molecules**, [s.l.], v. 26, n. 21, p. 1-11, Oct. 2021.

MUSTAPHA, M. B. et al. Chemical Composition and Insecticidal Activity of *Crithmum Maritimum* L. Essential Oil against Stored-Product Beetle *Tribolium Castaneum*. **Chemistry e biodiversity**, [s.l.], v. 17, n. 3, p. e190052, Mar. 2020.

MUTLU-INGOK, A. et al. Antibacterial, Antifungal, Antimycotoxigenic, and Antioxidant Activities of Essential Oils: An Updated Review. **Molecules**, v. 25, n. 20, p. 1-49, Oct. 2020.

MUTURI, E. et al. Honeysuckle essential oil as a potential source of ecofriendly larvicides for mosquito control. **Pest management science**, v. 75, n. 7, p. 2043-2048, July 2019.

NAJDABBASI, N. et al. Biocidal activity of plant-derived compounds against *Phytophthora infestans*: An alternative approach to late blight management. **Crop Protection**, v. 138, p. 1-10, Dec. 2020.

NJOYA, E.; ELOFF, J. N.; MCGAW, L. J. *Croton gratissimus* leaf extracts inhibit cancer cell growth by inducing caspase 3/7 activation with additional anti-inflammatory and antioxidant activities. **BMC Complementary Medicine and Therapies**, [s.l.], v. 18, n. 1, p. 1-11, Nov. 2018.

ODALO, J. O. et al. Repellency of essential oils of some plants from the Kenyan coast against *Anopheles gambiae*. **Acta Tropica**, [s.l.], v. 95, p. 210-218, Sept. 2005.

OLIVEIRA-JÚNIOR, R. G. et al. Neuropharmacological effects of essential oil from the leaves of *Croton conduplicatus* Kunth and possible mechanisms of action involved. **Journal of ethnopharmacology**, [s.l.], v. 221, p. 65-76, July 2018.

PASCUAL-VILLALOBOS, M. J. et al. Encapsulated Essential Oils as an Alternative to Insecticides in Funnel Traps. **Journal of economic entomology**, [s.l.], v. 108, n. 4, p. 2117-2120, Aug. 2015.

PINTO, C. C. C. et al. Chemical Composition and larvicidal activity against *Aedes aegypti* of essential oils from *Croton jacobinensis* Baill. **Boletín Latinoamericano y del Caribe de Plantas Medicinales y Aromáticas**, [s.l.], v. 15, n. 2, p. 122-127, 2016.

RAJKUMAR, V. et al. Development of encapsulated peppermint essential oil in chitosan nanoparticles: characterization and biological efficacy against stored-grain pest control. **Pesticide Biochemistry and Physiology**, [s.l.], v. 170, p. 1-8, Nov. 2020.

RIBEIRO, L. P. et al. Toxicity of an Annonin-Based Commercial Bioinsecticide Against Three Primary Pest Species of Stored Products. **Neotropical Entomology**, [s.l.], v. 47, n. 1, p. 145–151, Feb. 2018.

RODRIGUES, A. A. F. **Estudo da Fauna Flebotomínica (Diptera: Psychodidae: Phlebotominae) no Parque Estadual da Serra da Tiririca, Rio de Janeiro, Brasil**. 2011. 72 f. Dissertação (Mestrado em Medicina Tropical) - Instituto Oswaldo Cruz, Fundação Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro, 2011.

RODRIGUES, A. M. et al. Different susceptibilities of *Aedes aegypti* and *Aedes albopictus* larvae to plant-derived products. **Journal of the Brazilian Society of Tropical Medicine**, [s.l.], v. 52, n. e20180197, p. 1-4, 2019.

SANTOS, G. K. N. et al. Effects of *Croton rhamnifolioides* Essential Oil on *Aedes aegypti* Oviposition, Larval Toxicity and Trypsin Activity. **Molecules**, [s.l.], v. 19, n. 10, p. 16573-16587, Oct. 2014.

SANTOS, G. S. D. **Espermiogênese e morfologia dos espermatozoides em *Lagria villosa* com inferências taxonômicas (Coleoptera: Tenebrionidae: Lagriinae)**. 2013. 34 f. Dissertação (Mestrado em Biologia Celular e Estrutural) – Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, 2013.

SANTOS, H. S. et al. Chemical Composition and Larvicidal Activity against *Aedes aegypti* of Essential Oils from *Croton zehntneri*. **Natural Product Communications**, [s.l.], v. 2, n. 12, p. 1233-1236, 2007.

SANTOS, P. É. M. DOS et al. Contact toxicity of essential oil of *Croton pulegioides* baill on *Sitophilus zeamais* motschulsky. **Revista Caatinga**, [s.l.], v. 32, n. 2, p. 329–335, abr./jun. 2019.



SARMA, R. et al. Insecticidal activities of *Citrus aurantifolia* essential oil against *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae). **Toxicology reports**, [s.l.], v. 6, p. 1091-1096. Oct. 2019.

SCHRENK, D. et al. Risk assessment of aflatoxins in food. **EFSA Journal**, [s.l.], v. 18, n. 3, p. 1-112, 2020.

SILVA, J. S.; SALES, M. F.; CARNEIRO-TORRES, D. S. O gênero *Croton* (Euphorbiaceae) na microrregião do vale do Ipanema, Pernambuco, Brasil. **Rodriguésia**, [s.l.], v. 60, n. 20, p. 879-901, 2009.

SILVA, K. S. et al. Sinopse das espécies de *Croton* L. (Euphorbiaceae) no estado de Pernambuco, Brasil. **Acta botânica brasílica**, [s.l.], v. 24, n. 2, p. 441-453, jun. 2010.

SILVA, L. B. et al. Effects of *Croton urucurana* Extracts and Crude Resin on *Anagasta kuehniella* (Lepidoptera: Pyralidae). **Brazilian archives of biology and technology**, [s.l.], v. 52, n. 3, p. 653-664, May/June 2009.

SKOURTI, A.; KAVALLIERATOS, N. G.; PAPANIKOLAOU, N. E. Laboratory evaluation of development and survival of *Tribolium castaneum* (Herbst) (Coleoptera: Tenebrionidae) under constant temperatures. **Journal of Stored Products Research**, [s.l.], v. 83, p. 305–310, Sept. 2019.

SOUZA, G. S. **Influência de fatores ambientais no óleo essencial de três espécies de *Croton* L.: rendimento, composição e atividades biológicas**. 2016. 92 f. Dissertação (Mestrado Acadêmico em Recursos Naturais) – Centro de Ciências e Tecnologia, Universidade Estadual do Ceará, Fortaleza, 2016.

SOUZA, V. N. et al. Fumigation toxicity of essential oils against *Rhyzopertha dominica* (F.) in stored maize grain. **Revista caatinga**, Mossoró, v. 29, n. 2, p. 435-440, abr./jun. 2016.

STEJSKAL, V. et al. Synthetic and Natural Insecticides: Gas, Liquid, Gel and Solid Formulations for Stored-Product and Food-Industry Pest Control. **Insects**, [s.l.], v. 12, n. 7, p. 1-68, June 2021.

TIAN, B. L.; LIU, Q. Z.; LIU, Z. L.; LI, P.; WANG, J. W. Insecticidal Potential of Clove Essential Oil and Its Constituents on *Cacopsylla chinensis* (Hemiptera: Psyllidae) in Laboratory and Field. **Journal of economic entomology**, [s.l.], v. 108, n. 3, p. 957-961, June 2015.

TORRES, M. C. M. et al. Larvicidal and nematicidal activities of the leaf essential oil of *Croton regelianus*. **Chemistry & biodiversity**, Zürich, v. 5, n. 12, p. 2724-2728, Dec. 2008.

TRIBOLIUM GENOME SEQUENCING CONSORTIUM. The genome of the model beetle and pest *Tribolium castaneum*. **Nature**, [s.l.], v. 452, n. 24, p. 949-955, Apr. 2008.

TROPICOS. ORG. **Missouri Botanical Garden**. 2020. Disponível em: <http://www.tropicos.org>. Acesso em: 25 out. 2020.

TURCHEN, L. M. et al. Toxicity of *Piper aduncum* (Piperaceae) Essential Oil Against *Euschistus heros* (F.) (Hemiptera: Pentatomidae) and Non-Effect on Egg Parasitoids. **Neotropical entomology**, [s.l.], v. 45, n. 5, p. 604-611, Oct. 2016.

UPADHYAY, N.; SINGH, V. P.; DWIVEDY, A. K.; DAS, S.; CHAUDHARI, A. K.; DUBEY, N. K. Assessment of *Melissa officinalis* L. essential oil as an eco-friendly approach against biodeterioration of wheat flour caused by *Tribolium castaneum* Herbst. **Environmental Science and Pollution Research**, [s.l.], v. 26, n. 14, p. 14036-14049, May 2019.

URRUTIA-HERNÁNDEZ, T. A. et al. Antioxidant and Hepatoprotective Effects of *Croton hypoleucus* Extract in an Induced-Necrosis Model in Rats. **Molecules**, [s.l.], v. 24, n. 14, p. 1-17, July 2019.

VAN, B. W. The contribution of Johann Friedrich Klotzsch to the taxonomy of *Croton* (Euphorbiaceae) and associated genera. **Willdenowia**, [s.l.], v. 41, n. 1, p. 15-33, June 2011.

VASCONCELOS, I. R. A. **Investigação dos efeitos antibacteriano, antioxidante, citotóxico e genotóxico do óleo essencial do caule de *Croton tricolor* Klortzsch ex Baill.** 2015. 92f. Dissertação (Mestrado em Produtos Naturais e Sintéticos Bioativos) – Universidade Federal da Paraíba, 2015.

VIEGAS, C. Terpenos com atividade inseticida: uma alternativa para o controle químico de insetos. **Química Nova**, [s.l.], v. 26, n. 3, p. 390–400, maio 2003.

XU, W. H.; LIU, W. Y.; LIANG, Q. Chemical Constituents from Croton Species and Their Biological Activities. **Molecules**, [s.l.], v. 23, n. 8, p. 1-38, Sept. 2018.

YANG, L. et al. Response of plant secondary metabolites to environmental factors. **Molecules**, [s.l.], v. 23, n. 4, p. 1-26, Mar. 2018.

YUN, T. S. et al. Isolation and identification of fungal species from the insect pest *Tribolium castaneum* in rice processing complexes in Korea. **Plant Pathology Journal**, Suwon, v. 34, n. 5, p. 356–366, Oct. 2018.

ZAYNAB, M. et al. Role of secondary metabolites in plant defense against pathogens. **Microbial Pathogenesis**, [s.l.], v. 124, p. 198–202, Nov. 2018.

ZHU, B. C. R. et al. Toxicity and repellency of patchouli oil and patchouli alcohol against Formosan subterranean termites *Coptotermes formosanus* Shiraki (Isoptera: Rhinotermitidae). **Journal of agricultural and food chemistry**, v. 51, n. 16, p. 4585-4588, July 2003.

## **APÊNDICES**

---

**APÊNDICE 1 – RELATÓRIO DESCRITIVO DA PATENTE DE INVENÇÃO PARA “PROCESSO E USO DOS ÓLEOS ESSENCIAIS DE *CROTON TRICOLOR* KLOTZSCH EX BAILL. (SACATINGA), PERTENCENTE À FAMÍLIA EUPHORBIACEAE, EM FORMULAÇÕES COM FINS INSETICIDA E REPELENTE”.**

**1- TÍTULO DA INVENÇÃO:**

---

**Uso dos óleos essenciais de *Croton tricolor* Klotzsch ex Baill. (Sacatinga), pertencente à família Euphorbiaceae, em formulações com fins inseticida e repelente.**

**2- OBJETO DA INVENÇÃO:** (descrever de forma sucinta do que trata a invenção)

OBS: Colocar as referências bibliográficas completas dentro do próprio texto, ex: “...conforme estudado por fulano de tal (de tal, fulano. título da obra. ano)...”

---

A presente invenção refere-se ao emprego dos óleos essenciais de folhas e ramos de *Croton tricolor* Klotzsch ex Baill. (Sacatinga), pertencente à família Euphorbiaceae, em formulações com fins ovicida, larvicida, pupicida, adulticida, inseticida e repelente contra todos os estágios de *Tribolium castaneum*. As soluções podem ser preparadas na forma de aerossol, soluções líquidas, pastas, géis, cremes, suspensões, impregnados em suportes físicos para liberação eletrônica e através de dispositivos de queima e liberação por calor e podem estar associadas ou não a outros compostos inseticidas naturais e/ou sintéticos e a adjuvantes e veículos.

**3- PROBLEMA QUE A INVENÇÃO SE PROPÕE A RESOLVER** (toda invenção deve resolver um problema técnico existente, procurar explicar esse problema)

---

Dentre as pragas de insetos, o *Tribolium castaneum* (Coleoptera: Tenebrionidae) é uma das principais por causar danos quantitativos e qualitativos aos produtos pós-colheita, gerando prejuízos de centenas de milhões de dólares em diversos setores econômicos em todo o mundo. Além de apresentar alta adaptabilidade, principalmente em ambientes com alta umidade, e expressiva resistência aos inseticidas sintéticos ao longo dos anos (AJAHA, A.; BOUAYAD, N.; AARAB, A.; RHARRABE, K. Effect of 20-Hydroxyecdysone, a Phytoecdysteroid, on Development, Digestive, and Detoxification Enzyme Activities of *Tribolium castaneum* (Coleoptera: Tenebrionidae). Journal of Insect

Scienc. v. 19, n. 5, p. 18-23. 2019.; ALCALA-OROZCO, M. et al. Repellent and Fumigant Actions of the Essential Oils from *Elettaria cardamomum* (L.) Maton, *Salvia officinalis* (L.) Linnaeus, and *Lippia origanoides* (V.) Kunth Against *Tribolium castaneum* and *Ulomoides dermestoides*. *Journal of Essential Oil Bearing Plants*. 2019 DOI: 10.1080/0972060X.2019.1585966; OPIT, G. P. et al. Phosphine Resistance in *Tribolium castaneum* and *Rhyzopertha dominica* From Stored Wheat in Oklahoma. *Journal of economic entomology*, v. 105, n. 4, p. 1107-1114. 2012).

No mais, as infestações de produtos armazenados por *T. castaneum* geralmente estão associadas a fungos de armazenamento, particularmente *Aspergillus flavus*, que liberam toxinas, a exemplo da aflatoxina B1, que induz a geração de radicais livres no corpo, contribuindo para desenvolvimento de doenças cardiovasculares, neurodegenerativas e câncer. De modo que, o consumo de alimentos contaminados representa um risco à saúde do ser humano e de outros animais (UPADHYAY, N. et al. Essential Oils as Eco-friendly Alternatives to Synthetic Pesticides for the Control of *Tribolium castaneum* (Herbst) (Coleoptera: Tenebrionidae). *Journal of Essential Oil Bearing Plants*. 2018. DOI: 10.1080/0972060X.2018.1459875).

Este inseto, também conhecido como besouro de farinha vermelha, é uma praga cosmopolita, difícil de controlar, uma vez que explora fissuras, fendas e refúgios dentro dos equipamentos ou na estrutura dos edifícios, sendo extremamente necessária a identificação de alternativas seguras, ecológicas e eficazes para o seu controle (HASSAM, A. M.; SILEEM, T. M.; HASSAM, R. S. Verificação da irradiação atmosférica no plasma como método alternativo de controle para *Tribolium castaneum* (Herbst). *Revista Brasileira de Biologia*. Ahead of print. 2019).

Neste contexto, a presente invenção refere-se a uma nova estratégia de controle deste inseto praga, a partir da utilização dos óleos essenciais da espécie *Croton tricolor* Klotzsch ex Baill., pertencente à família Euphorbiaceae, em formulações com fins inseticida e repelente.

#### **4- CAMPO DE ATUAÇÃO** (situar a área de atuação da patente)

---

A presente invenção destina-se ao controle seguro, biodegradável, não tóxico e de baixo custo do inseto praga *T. castaneum*, através da utilização dos óleos essenciais de *C. tricolor* em formulações com fins inseticida e repelente, em substituição aos demais inseticidas e repelentes químicos sintéticos.

**5- ESTADO DA TÉCNICA** (descrever, com fundamentação em artigos e principalmente em patentes, qual o estado atual da técnica, mostrando qual problema a patente irá resolver. Enfatizar os pontos fracos da técnica existente)

---

Na última década, observou-se um aumento expressivo no uso de inseticidas químicos sintéticos para o controle de pragas agrícolas e, conseqüentemente, uma preocupação geral sobre os impactos negativos para o ambiente e para a saúde humana decorrentes da utilização desses produtos, a exemplo do efeito adverso nos ecossistemas, seu acúmulo no meio ambiente e a evolução da persistência de pragas (BERINE, F. et al. Microbial and viral chitinases: attractive biopesticides for integrated pest management. *Biotechnology Advance*, v. 36, n. 1, p. 818-838. 2018).

Com relação aos Inseticidas de origem natural, estes têm sido amplamente estudados pois não causam efeito altamente tóxico em aplicadores, não deixam resíduos nocivos nos grãos, e não contribuem para o surgimento de resistência em insetos, como comumente ocorre através do uso de agentes químicos sintéticos (ALTIERI, M; SILVA E. N.; NICHOLLS, C. O. Papel da biodiversidade no manejo de pragas. Ribeirão Preto: HOLOS, p. 226, 2003). Entre estes, a atividade inseticida dos óleos essenciais (OE) tem sido descrita contra algumas ordens de insetos.

As plantas evoluíram em resposta aos herbívoros e parasitas, de modo que formaram compostos químicos, denominados OE, que não desempenham papel essencial na fisiologia ou no metabolismo dessas, mas desempenham papel relevante na interação com seus inimigos. Esses OE são compostos voláteis, complexos e naturais, geralmente odoríficos, extraídos de folhas, raízes, cascas e sementes de plantas aromáticas, que consistem em alcalóides, terpenos, polifenóis, glicosídeos cianogênicos e outros (UPADHYAY, N. et al. Essential Oils as Eco-friendly Alternatives to Synthetic Pesticides for the Control of *Tribolium castaneum* (Herbst) (Coleoptera: Tenebrionidae). *Journal of Essential Oil Bearing Plants*. 2018. DOI: 10.1080/0972060X.2018.1459875).

Algumas plantas biossintetizam OE, que afetam diretamente os processos bioquímicos dos insetos, podendo interromper o processo de morfogênese por sua neurotoxicidade, ou agindo como reguladores de crescimento e interferindo no metabolismo básico e na fisiologia dos insetos, além de poderem repelir os insetos e impedir a ovoposição e a emergência de adultos (PAJARO-CASTRO, N.; CABALERRO-GALLARDO, K.; OLIVERO-VERBEL, J. Neurotoxic Effects of Linalool and  $\beta$ -Pinene on *Tribolium castaneum* Herbst. *Molecules*. v. 22, n. 2052, p. 1-12. 2017).

Dentre essas plantas encontram-se as do gênero *Croton*, sobre as quais existem diversos estudos apontando o potencial inseticida e repelente dos OE contra algumas

espécies de insetos, como *Nasutitermes corniger*, *Sitophilus zeamais*, *Aedes aegypti*, *Anopheles arabiensis* e outros (LIMA, J. K. A. et al. Biototoxicity of some plant essential oils against the termite *Nasutitermes corniger* (Isoptera: Termitidae). *Industrial Crops and Products*, v. 47. 2013; SANTOS, P. E. M. et al. Contact toxicity of essential oil of *Croton pulegioides* Baill on *Sitophilus zeamais* Motschulsky. *Rev.Caatinga*, v. 32, n. 2, p. 329-335. 2019; MAVUNDZA, E. J. et al. Larvicidal activity against *Anopheles arabiensis* of 10 South African plants that are traditionally used as mosquito repellents. *South African Journal of Botany*, v. 88. 2013; LIMA, G. P. G. et al. Further insecticidal activities of essential oils from *Lippia sidoides* and *Croton* species against *Aedes aegypti* L. *Parasitol res.* v. 112. 2013). *Croton tricolor* Klotzsch ex Baill., é uma espécie pertencente à família Euphorbiaceae, que se mostra promissora para o desenvolvimento de biotecnologias com essa finalidade por apresentar um OE reconhecidamente não tóxico para mamíferos (FRANÇA-NETO, A. et al. Essential Oil of *Croton argyrophyloides*: Toxicological Aspects and Vasorelaxant Activity in Rats. *Natural Product Communications*. v. 7, n. 10. 2010).

Sobre as perspectivas biotecnológicas do uso de OE, destaca-se a possibilidade de atuarem como bioinseticidas e repelentes, atuando no controle de insetos. Neste sentido, algumas deposições patentárias demonstraram a eficácia de composições à base de OE de plantas para fins inseticida e repelente para alguns insetos-alvos, a exemplo das deposições patentárias nº BR 102017007359-9, que revelou potencial inseticida e repelente do OE de *Morinda citrifolia* Linn (Noni) contra *Aedes aegypti*, nº BR 102016012050-0, acerca de método para controlar ou eliminar formigas cortadeiras do gênero *Atta* (Hymenoptera: Formicidae) à base de OE de *Lippia sidoides* (Verbenaceae), e nº KR2020064889-A; KR2123580-B1, que se refere à utilização de um blend de OE de plantas para prevenir pulgões de algodão.

Na literatura, alguns trabalhos sugerem a utilização de estratégias biotecnológicas no combate ao inseto praga *T. castaneum*, foco dessa invenção, dos quais se destacam os pedidos de patente: BR 10 2019 0174757, que descreve preparações com atividade inseticida obtida a partir de extratos vegetais das sementes da espécie *Crotalaria stipularia*; e BR 10 2020 006006 6, que retrata a obtenção de inseticida a partir do colmo de *Guadua angustifolia* Kunth.

Porém, ressalta-se que não foram encontrados pedidos de patente nas bases do INPI, Espacenet e Derwent Innovation Index relacionadas ao uso de formulações à base de OE de plantas como inseticidas contra *T. castaneum*.



**6- DESCRIÇÃO DA ABORDAGEM DO PROBLEMA TÉCNICO** (fazer, se possível quadro comparativo dos principais problemas e soluções)

PROBLEMAS IDENTIFICADOS	SOLUÇÕES PROPOSTAS POR ESTA INVENÇÃO
Prejuízos econômicos e em saúde oriundos da infestação de produtos armazenados pelo inseto praga <i>Tribolium castaneum</i> .	Disponibilização de nova estratégia de controle deste inseto praga a partir de formulações contendo óleos essenciais de <i>C. tricolor</i> .
Resistência do <i>T. castaneum</i> a alguns inseticidas químicos sintéticos	Disponibilização de novo bioinseticida e repelente, que não contribui para o surgimento de resistência em insetos, como alternativa aos inseticidas químicos sintéticos
Inseticidas químicos sintéticos promovem contaminação do solo e dos grãos através da deposição de liangs nocivos, além do efeito altamente tóxico em aplicadores.	Disponibilização de bioinseticida e repelente biodegradável e não tóxico.

**7- DESCRIÇÃO DAS FIGURAS** (listar explicando cada desenho, gráfico ou fluxograma)

Figura 1: Atividade repelente do óleo essencial de *Croton tricolor* contra adultos de *T. castaneum* em diferentes tempos de exposição. Apresenta-se o resultado do óleo essencial de folhas de *C. tricolor* (OEFCT) e do óleo essencial de ramos de *C. tricolor* (OERCT), na qual o símbolo \* apresenta diferença significativa entre meio tratado e não tratado ( $p < 0,05$ ) de acordo com teste não paramétrico Wilcoxon.

Figura 2: Mortalidade de *T. castaneum* em ensaio de toxicidade de contato por tempo após exposição. Apresenta-se o resultado do óleo essencial de folhas de *C. tricolor* (OEFCT) e do óleo essencial de ramos de *C. tricolor* (OERCT), na qual C = concentração; M = Mortalidade; DP = desvio padrão;  $\chi^2$  = qui-quadrado; DF = *degrees of freedom*; \* = significância ( $p < 0,05$ ).

Figura 3: Mortalidade de *T. castaneum* em ensaio de toxicidade de contato 72 horas após exposição. A: mortalidade após exposição ao óleo essencial de ramos de *C. tricolor*; B: mortalidade após exposição ao óleo essencial de folhas de *C. tricolor*. As barras correspondem à média  $\pm$  a diferença estatística das três repetições. O símbolo \* indica diferença significativa entre grupo tratado e controle pelo teste qui-quadrado.

Figura 4: Curvas de sobrevivência de Kaplan-Meier demonstrando o efeito dos óleos essenciais de *C. tricolor* sobre adultos de *T. castaneum*. Taxas de sobrevivência de insetos tratados e não tratados com óleo essencial e mantidos por 72 horas em farinha de trigo. A: mortalidade após exposição ao óleo essencial de ramos de *C. tricolor*

(OERCT); B: mortalidade após exposição ao óleo essencial de folhas de *C. tricolor* (OEFCT).

Figura 5: Toxicidade de contato dos óleos essenciais de *C. tricolor* contra *T. castaneum* após 24, 48 e 72 horas de exposição. Apresenta-se o resultado do óleo essencial de folhas de *C. tricolor* (OEFCT) e do óleo essencial de ramos de *C. tricolor* (OERCT), na qual LD50 = dose letal que mata 50% dos organismos de teste; LD90 = dose letal que mata 90% dos organismos de teste;  $\chi^2$  = qui-quadrado; IC = intervalo de confiança.

## **8- DESCRIÇÃO DA TÉCNICA** (descrever DETALHADAMENTE a técnica da proposta apresentada, de forma a permitir a reprodução, com todas as suas variações)

---

A presente invenção refere-se ao emprego dos óleos essenciais das folhas e ramos de *Croton tricolor* Klotzsch ex Baill., conhecida popularmente no sertão brasileiro como Sacatinga, em formulações com fins ovicida, larvicida, pupicida, adulticida, inseticida e repelente contra todos os estágios de *Tribolium castaneum*, apresentando-se como alternativa promissora aos inseticidas químicos sintéticos no manejo de pragas agrícolas.

A composição da invenção pode incluir também a utilização destas formulações na forma de aerossol, soluções líquidas, pastas, géis, cremes, suspensões, impregnados em suportes físicos para liberação eletrônica e através de dispositivos de queima e liberação por calor e podem estar associadas ou não a outros compostos inseticidas naturais e/ou sintéticos e a adjuvantes e veículos ou outra composição industrialmente aceitável. A invenção poderá ser utilizada em ambiente interno e externo, residencial e comercial e/ou instalações rurais.

Os óleos essenciais podem ser conservados sob refrigeração, no intervalo térmico entre -1°C a -4°C e protegido da luz, para aplicação posterior, seja com objetivo repelente ou inseticida.

Assim, os passos seguintes são pertinentes aos experimentos realizados na obtenção dos óleos essenciais e às técnicas analíticas de sua atividade repelente e inseticida.

### **Coleta do material vegetal**

Ramos e folhas da espécie *C. tricolor* foram coletados de diferentes espécimes no Assentamento Gastone Beltrão, localizado no município Olho D'água do Casado no estado de Alagoas, coordenadas geográficas 9°30'59.7"S 37°50'56.4"W.

A amostra vegetal coletada foi armazenada sob refrigeração em saco plástico com Zip Lock e conduzida ao Laboratório de Farmacognosia do Instituto de Ciências Farmacêuticas da Universidade Federal de Alagoas no qual foi feita a separação de ramos e folhas. Posteriormente, a amostra foi triturada separadamente e mantida em refrigeração até extração dos óleos essenciais (OE).

### **Identificação da espécie *Croton tricolor***

Após a coleta de ramos e folhas, necessária para realização das análises iniciais, separou-se uma amostra da espécie vegetal para testes de identificação e disposição de exemplar no repositório do Herbário MAC do Instituto do Meio Ambiente (IMA) do estado de Alagoas. A planta selecionada apresentava todas as estruturas morfológicas (ramos, folhas, flores e frutos) necessárias para o processo de identificação, com registro MAC nº 64999.

### **Extração dos óleos essenciais**

As amostras trituradas da espécie *C. tricolor* foram submetidas à hidrodestilação em equipamento Clevenger para extração dos OE. O início da destilação foi marcado pela ebulição do solvente (água) e teve duração de cinco horas. A fase oleosa foi separada da fase aquosa utilizando um funil de separação e a água residual foi removida adicionando sulfato de sódio anidro. Os óleos essenciais foram armazenados em frascos de vidro âmbar e mantidos em freezer (-1°C a -4°C).

### **Insetos**

Adultos não-sexados de *Tribolium castaneum* (Herbst. 1797) (Coleoptera: Tenebrionidae) foram coletados da cultura mantida pelo Laboratório de Bioquímica Metabólica do Instituto de Ciências Farmacêuticas da Universidade Federal de Alagoas, na qual os mesmos foram criados em meio de cultura de farinha de trigo (umidade: 72% a 76%, temperatura: 23°C a 29°C, ciclo claro-escuro: 12 horas). Os insetos utilizados em todos os experimentos foram adultos jovens (até 07 dias).

### **Teste de repelência**

A avaliação do potencial de repelência dos OE de *C. tricolor* contra *T. castaneum* foi desenvolvida com base no método de preferência de área proposto por BACCARI et al. (BACCARI, Wiem; et al. Composition and insecticide potential against *Tribolium castaneum* of the fractionated essential oil from the flowers of the Tunisian endemic plant *Ferula tunetana* Pomel ex Batt. Industrial crops e products, v. 143. 2020). Para

tanto, os óleos essenciais de ramos e folhas foram colocados em discos circulares de 9 cm de papel filtro, cortados em semicírculos.

Foi preparada uma solução de 4 µL de OE diluídos em 1 ml de acetona e uma medida de 0,5 ml da solução foi distribuída uniformemente no primeiro semicírculo, resultando numa concentração aproximada de 0,12 µL/cm<sup>2</sup>, e a outra metade foi mergulhada em 0,5 ml de acetona, atuando como controle.

Os papéis filtro foram secos por 10 minutos e fixados no fundo de uma placa de Petri com o auxílio de fita dupla face. Então, 20 insetos adultos jovens foram depositados no meio do disco de papel filtro e o número de insetos em cada metade foi registrado após 15, 30, 60 e 120 minutos. O teste foi realizado em cinco réplicas.

O Percentual de Repelência (PR) em cada tempo foi calculado pela seguinte fórmula:

$$PR (\%) = [(Nc - Nt)/(Nc + Nt)] \times 100$$
, onde Nc refere-se ao número de adultos no semicírculo controle e Nt ao número no semicírculo tratado com OE. Os valores obtidos no teste foram analisados com base nas classes de PR propostas por McDonald, Guy e Speirs (MCDONALD, L. L.; GUY, R. H., SPEIRS, R. D. Preliminary evaluation of new candidate materials as toxicants, repellents, and attractants against stored-product insects. USDA Marketing Research Report No. 882. Agricultural Research Service, US Department of Agriculture., Washington, DC, USA, 1970), sendo elas: 0 - > de -0,1% a < 0,1%; I - de 0,1 a 20%; II - de 20,1 a 40%; III - de 40,1 a 60%; IV - de 60,1 a 80% e V - de 80,1 a 100%.

### **Bioensaio de toxicidade de contato**

Para o desenvolvimento do bioensaio de toxicidade de contato contra *T. castaneum*, adultos jovens foram tratados com concentrações de 1, 2,5, 5, 7,5 e 10% de OE de folhas e 1, 5, 10, 15 e 20% do OE de ramos de *C. tricolor*. Dez insetos foram coletados em placas de Petri e mantidos no freezer por 1 minuto, a fim de reduzir a mobilidade dos mesmos e tornar seu manuseio mais fácil (DEB, M.; KUMAR, D. Bioactivity and efficacy of essential oils extracted from *Artemisia annua* against *Tribolium castaneum* (Herbst. 1797) (Coleoptera: Tenebrionidae): An eco-friendly approach, *Ecotoxicology and Environmental Safety*, v. 189. 2020).

Preparou-se a solução de OE diluído em acetona e uma alíquota de 2,0 µL desta solução foi aplicada topicamente à região mesotorácica dos insetos. Após 2 minutos da exposição eles foram transferidos para recipientes plásticos contendo farinha de trigo como meio de cultura e a mortalidade foi registrada em 24, 48 e 72 horas, para identificação de LD50 e LD90. Por sua vez, o controle do ensaio foi realizado com acetona em mesma metodologia e cada teste foi realizado em triplicata.

## **9- RESULTADOS OBTIDOS** (colocar resultados obtidos, com gráficos e figuras, que justifiquem a patente)

---

### **Potencial de repelência dos óleos essenciais**

A partir da metodologia de preferência de área foi possível identificar que os OE de *C. tricolor*, numa concentração aproximada de 0,12  $\mu\text{L}/\text{cm}^2$ , apresentaram potencial de repelência contra *T. castaneum* em todos os tempos de exposição com classe de PR variando de IV a V, sendo o óleo essencial de folhas da *C. tricolor* (OEFCT) responsável por maior PR, obtendo classe V em 30 e 60 minutos após exposição (figura 1).

### **Toxicidade de contato dos óleos essenciais**

O ensaio de toxicidade de contato com óleo essencial de folhas e ramos de *C. tricolor* em concentração de 1, 2,5, 5, 7,5 e 10% e 1, 5, 10, 15 e 20%, respectivamente, permitiu identificar potencial inseticida contra adultos de *T. castaneum* em 24, 48 e 72 horas após exposição. De modo que, o óleo essencial dos ramos de *C. tricolor* (OERCT) atingiu 100% de mortalidade após 72 horas na concentração de 20% (figura 2) e OEFCT apresentou 96,7% de mortalidade após o mesmo período na concentração de 10% (figuras 3), demonstrando significativa redução na sobrevivência dos insetos nos grupos tratados com OE de *C. tricolor* quando comparada com a sobrevivência do grupo não tratado (figura 4).

A comparação do percentual de mortalidade de *T. castaneum* 72 horas após exposição aos dois óleos essenciais de *Croton tricolor* mostrou que o OEFCT provoca maior mortalidade com uma concentração final menor que a do OERCT. Tal dado é ratificado pelos valores de LD50/LD90, os quais mostram que o *T. castaneum* é mais sensível ao OEFCT em ensaio de toxicidade de contato (figura 5).

## **10- VANTAGENS DA PATENTE** (descrever o que a patente apresenta de vantagem sobre a técnica existente)

Em virtude do crescente aumento populacional, surge a necessidade de maximizar a produtividade agrícola, visando atender à demanda por alimentos, incluindo os grãos. Porém, a estratégia de controle de pragas mais comumente utilizada, os inseticidas químicos sintéticos, apresentam riscos ao ambiente e à saúde humana. Do mesmo modo, crescem as exigências sociais para o desenvolvimento de biotecnologias que combatam as pragas desses produtos de forma segura para o ambiente e para a saúde humana e eficaz no seu objetivo de controle de insetos pragas.

Sendo assim, utilizando OE de *C. tricolor*, produto reconhecidamente não tóxico para mamíferos, a solicitada invenção apresenta vantagens em relação às metodologias já existentes:

- O processo de extração do OE de *C. tricolor* mostra-se compatível para produção dessa biotecnologia, uma vez que a utilização de formulações à base desse produto mostra-se eficaz para o controle de *T. castaneum*;
- O OE de *C. tricolor* mostrou-se altamente tóxico e repelente para *T. castaneum* em baixas concentrações;
- Esta invenção não gera impactos negativos para o meio ambiente e saúde humana, como vistos nos inseticidas químicos sintéticos, mostrando-se biodegradável, não tóxico e de baixo custo;
- A realização deste invento possibilita uma maior diferenciação e fortalecimento da biotecnologia brasileira, uma vez que utiliza um recurso natural da flora local e aumenta o valor de maneira sustentável à matéria prima estudada.

**11- DESENHOS** (colocar desenhos, gráficos, fluxograma para melhor entendimento do relatório descritivo)

**Figura 1**

<b>Amostra testada</b>	<b>Tempo (min.)</b>	<b>Atividade repelente (%)</b>	<b>Classe</b>
<b>OEFCT</b>	15	80 ± 0,0*	IV
	30	84 ± 11,0*	V
	60	96 ± 5,5*	V
	120	80 ± 12,2*	IV
<b>OERCT</b>	15	68 ± 8,3*	IV
	30	66 ± 18,1*	IV
	60	66 ± 18,1*	IV
	120	72 ± 13,0*	IV

Figura 2

Tempo	OERCT			OEFCT		
	C (%)	M (%) ± DP	$\chi^2$ (DF)	C (%)	M (%) ± DP	$\chi^2$ (DF)
24h	1	0 ± 0	0 (1)	1	6,67 ± 5,8	0 (1)
	5	16,67 ± 20,8	1,456 (1)	2,5	40 ± 17,3	9,317 (1)*
	10	50 ± 20	13,871 (1)*	5	56,67 ± 15,3	17,330 (1)*
	15	56,67 ± 11,5	17,330 (1)*	7,5	50 ± 17,3	13,871 (1)*
	20	100 ± 0	52,500 (1)*	10	93,3 ± 11,5	45,067 (1)*
48h	1	6,67 ± 5,8	0 (1)	1	13,33 ± 5,8	0,741 (1)
	5	33,33 ± 5,8	6,667 (1)*	2,5	53,33 ± 20,8	15,556 (1)*
	10	63,33 ± 25,1	21,172 (1)*	5	73,33 ± 15,3	27,778 (1)*
	15	76,67 ± 11,5	30,240 (1)*	7,5	73,3 ± 11,5	27,778 (1)*
	20	100 ± 0	52,500 (1)*	10	96,7 ± 5,8	48,654 (1)*
72h	1	16,67 ± 20,8	1,456 (1)	1	16,67 ± 11,5	1,456 (1)
	5	40 ± 10	9,317 (1)*	2,5	53,33 ± 20,8	15,556 (1)*
	10	66,67 ± 30,5	23,254 (1)*	5	73,33 ± 15,3	27,778 (1)*
	15	76,67 ± 11,5	30,240 (1)*	7,5	80 ± 10	32,851 (1)*
	20	100 ± 0	52,500 (1)*	10	96,7 ± 5,8	48,654 (1)*

Figura 3

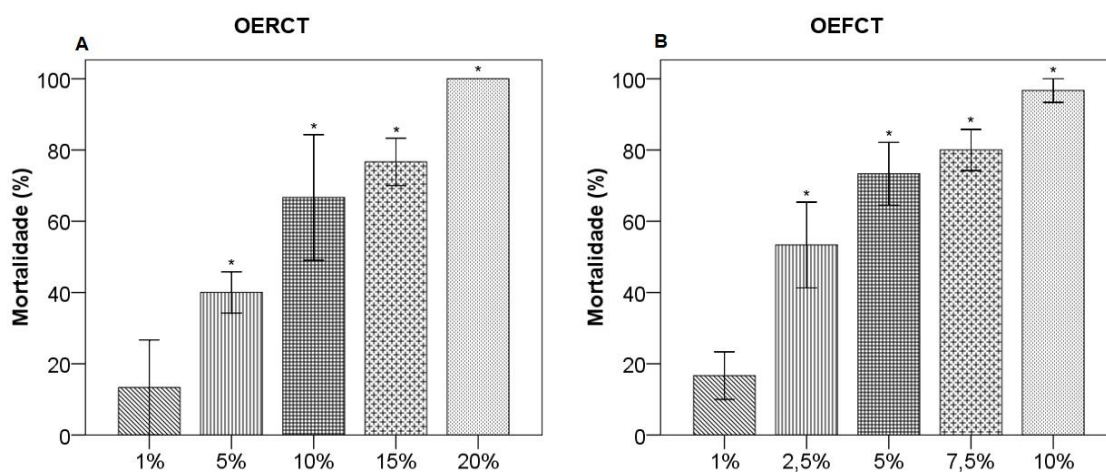


Figura 4

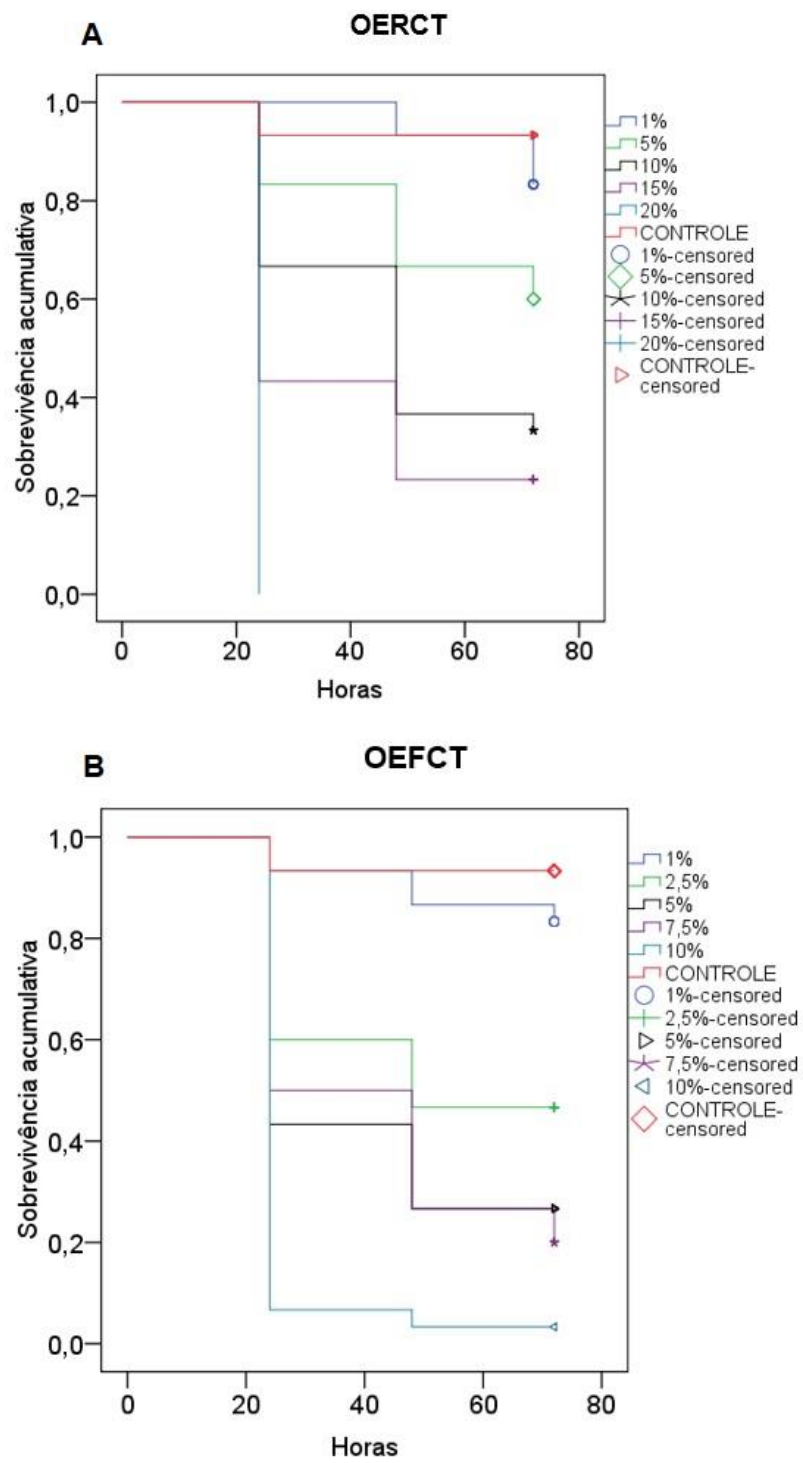




Figura 5

Óleo essencial	Tempo (h)	LD <sub>50</sub> (µg/adulto) (IC <sub>95</sub> )	LD <sub>90</sub> (µg/adulto) (IC <sub>95</sub> )	$\chi^2$	Valor p
OERCT	24	2,193 (0,032 – 5,752)	4,832 (2,930 – 2,545E11)	9,898	0,019
	48	1,369 (1,030 – 1,731)	4,750 (3,499 – 7,682)	6,989	0,072
	72	1,054 (0,124 – 2,522)	5,356 (2,309 – 1032,080)	7,972	0,047
OEFCT	24	0,923 (-)	3,601 (-)	11,085	0,011
	48	0,601 (0,449 – 0,758)	2,164 (1,593 – 3,571)	4,876	0,181
	72	0,558 (0,414 – 0,705)	1,990 (1,475 – 3,221)	2,239	0,504

## 12- RESUMO (resumo deve ter entre 50 e 200 palavras)

*Tribolium castaneum* (Coleoptera: Tenebrionidae) é uma das principais pragas agrícolas por causar danos quantitativos e qualitativos aos produtos pós-colheita, gerando prejuízos em diversos setores econômicos em todo o mundo. Porém, a estratégia de controle de pragas mais comumente utilizada, os inseticidas químicos sintéticos, apresentam riscos ao ambiente e à saúde humana, surgindo a necessidade de desenvolvimento de biotecnologias que combatam as pragas desses produtos de forma segura e eficaz. Assim, esta invenção trata-se de uma formulação à base dos óleos essenciais (OE) de *C. tricolor*, com atividade ovicida, larvicida, pupicida, adulticida, inseticida e repelente contra *T. castaneum*. A metodologia seguiu estratégias de extração, aplicação tópica e repelente, mostrando-se percentual de repelência variando entre as classes IV e V e LD50, 72 horas após exposição, de 1,054 µg/adulto para OE de ramos e 0,558 µg/adulto para OE das folhas. A composição da invenção pode incluir a utilização destas formulações na forma de aerossol, soluções líquidas, pastas, géis, cremes, suspensões, impregnados em suportes físicos para liberação eletrônica e através de dispositivos de queima e liberação por calor e podem estar associadas ou não a outros compostos inseticidas naturais e/ou sintéticos e a adjuvantes e veículos ou outra composição industrialmente aceitável.

## 13- REIVINDICAÇÕES (escrever reivindicações de forma objetiva detalhando o que quer proteger, incluindo o termo “caracterizado por” sempre antes da novidade da invenção)

Os inventores reivindicam proteção sobre as preparações com óleos essenciais de *Croton tricolor* Klotzsch ex Baill. (Sacatinga), em formulações com finalidade inseticida e repelente, caracterizado por:

1. Extração dos óleos essenciais de ramos e folhas de *C. tricolor in natura* ou secos ou mantidos sob refrigeração e aplicados puros ou misturados, ou ainda misturados a outros compostos no controle de praga de grãos armazenados nas formas de ovo, larva, pulpa ou adultos;
2. Comprovação de seus efeitos inseticida e repelente contra *Tribolium castaneum* em soluções que variam de 0,1 a 100% dos óleos essenciais, conforme reivindicação 1;
3. Aplicação em qualquer ambiente, seja ele interno ou externo, residencial e comercial e/ou instalações rurais, de acordo com as reivindicações 1 e 2;
4. Estar associado a todo e qualquer tipo de diluente eficaz para preparação de soluções líquidas, pastas, géis, cremes, aerossol, suspensões, impregnados em suportes físicos para liberação eletrônica e através de dispositivos de queima e liberação por calor, conforme reivindicações 1, 2 e 3.

**14- PALAVRAS CHAVE:** (escrever palavras chave que facilitem a busca de anterioridade, em PORTUGUÊS E INGLÊS)

---

Palavras-chave: Óleo essencial; *Croton tricolor*; *Croton argyrophyloides*; inseticida; repelente; *Tribolium castaneum*; praga de grão armazenado.

Key words: essential oil; *Croton tricolor*; *Croton argyrophyloides*; insecticide; repelente; *Tribolium castaneum*; stored grain pests.

**15- DIVULGAÇÃO ANTERIOR** (escrever se houve divulgação, mesmo parcial)

---

Não houve divulgação anterior.

**16-FONTES DE FINANCIAMENTO** (escrever caso o tenha havido fonte de financiamento da pesquisa)

---

Não consta.

**17- ESSA PATENTE É FRUTO DE PESQUISA PIBIC, PIBITI, TCC, DISSERTAÇÃO OU TESE? SE SIM CITAR E ESCREVER O TÍTULO** (escrever caso esse texto de patente seja de pesquisa PIBIC, PIBITI, TCC, dissertação ou tese)

---

Esta patente é fruto da tese intitulada “Caracterização química e bioatividade dos óleos essenciais de *Croton tricolor* Klotzsch ex Baill. (Euphorbiaceae)”, apresentada por Lays Nogueira Miranda ao Programa de Pós-graduação em Biotecnologia da Rede Nordeste de Biotecnologia (RENORBIO), ponto focal Alagoas, sob orientação do professor Dr. Luciano Aparecido Meireles Grillo.

#### **18-INVENTORES**

Lays Nogueira Miranda, Luciano Aparecido Meireles Grillo, Sâmia Andréia Souza da Silva, Camila Braga Dornelas, Josiel Santos do Nascimento, Meirielly Kellya Holanda da Silva, Johnnatan Duarte de Freitas e Orlando Francisco da Silva Moura.

## **ANEXOS**

---

# ANEXO 1 – COMPROVANTE DE REGISTRO PARA COLETA DE MATERIAL BOTÂNICO, FÚNGICO E MICROBIOLÓGICO



Ministério do Meio Ambiente - MMA  
Instituto Chico Mendes de Conservação da Biodiversidade - ICMBio  
Sistema de Autorização e Informação em Biodiversidade - SISBIO

Gerado em 11/11/2021 10:41:31

## Extrato da solicitação

### Dados básicos da Solicitação

Número	Tipo de solicitação	Situação atual	Data da situação atual	Renovação da autorização
81042	Comprovante de registro para coleta de material botânico, fúngico e microbiológico	Documento concedido	11/11/2021 10:40:48	

### Dados do Pesquisador

Nome	Nacionalidade	CPF	E-mail	Telefone
LAYS NOGUEIRA MIRANDA	Brasileira	075.654.004-67	laysnm@hotmail.com	

Endereço	CEP	Município	UF
Senador Rui Palmeira	57035250	Maceió	AL

### Atividades da solicitação

Descrição das atividades/Substrato	Tipo de atividade	Situação atual
Coleta/transporte de material botânico, fúngico ou microbiológico	Fora de UC Federal	Autorizado

### Táxon(s)

Táxon	Nível taxonômico	Hierarquia	Espécie ameaçada?	Situação atual
Croton tricolor	Espécie	Plantae > Magnoliophyta > Magnoliopsida > Malpighiales > Euphorbiaceae > Croton > Tricolor	Não	Autorizado

Página 1/2

### Histórico da solicitação

Data/Hora	Nome da pessoa	Descrição da situação	Observação
11/11/2021 10:40:48	LAYS NOGUEIRA MIRANDA	Documento concedido automaticamente	Documento concedido automaticamente
11/11/2021 10:38:26	LAYS NOGUEIRA MIRANDA	Em elaboração	

### Termo de Compromisso

Cláusula
O documento não eximirá o pesquisador da necessidade de obter outras anuências, como: I) do proprietário, arrendatário, posseiro ou morador quando as atividades forem realizadas em área de domínio privado ou dentro dos limites de unidade de conservação federal; II) da comunidade indígena envolvida, ouvido o órgão indigenista oficial, quando as atividades de pesquisa forem executadas em terra indígena; III) do Conselho de Defesa Nacional, quando as atividades de pesquisa forem executadas em área indispensável à segurança nacional; IV) da autoridade marítima, quando as atividades de pesquisa forem executadas em águas jurisdicionais brasileiras; V) do Departamento Nacional da Produção Mineral, quando a pesquisa visar a exploração de depósitos fossilíferos ou a extração de espécimes fósseis; VI) do órgão gestor da unidade de conservação estadual, distrital ou municipal, dentre outras.
Comprometo-me a não utilizar material biológico para fins de bioprospeção, desenvolvimento tecnológico ou solicitação de patente sem a prévia autorização do Conselho de Gestão do Patrimônio Genético (CGEN);
Comprometo-me a não enviar o material biológico para o exterior, sem a devida autorização;
Comprometo-me a não coletar vegetais hidróbios, sem a obtenção prévia de autorização prevista no Decreto-Lei nº 221/1967 e no Art. 36 da Lei nº 9.805/1998.
Comprometo-me a não coletar espécies que constem nas listas oficiais de espécies ameaçadas de extinção, sem autorização específica;
O material biológico coletado deverá ser utilizado para atividades científicas ou didáticas no âmbito do ensino superior.

Página 2/2

## ANEXO 2 – DECLARAÇÃO DE IDENTIFICAÇÃO DE MATERIAL VEGETAL



### DECLARAÇÃO

Declaro, para os devidos fins, que a amostra da planta utilizada na pesquisa de Lays Nogueira Miranda foi depositada no Herbário MAC do Instituto do Meio Ambiente do Estado de Alagoas, e trata-se de:

Reg. MAC	Nº Col.	Família	Espécie	Det.
64999	s/n	Euphorbiaceae	<i>Croton tricolor</i> Klotzsch ex Baill.	R.P.Lyra-Lemos

OBS: Recomenda-se a citação, no corpo do trabalho, que a identificação do material estudado foi efetuada pelos pesquisadores do Herbário MAC do Instituto do Meio Ambiente.

Maceió, 20 de maio de 2019.

*Rosângela Pereira de Lyra Lemos*  
 Rosângela Pereira de Lyra Lemos  
 Curadora do Herbário MAC



[www.ima.al.gov.br](http://www.ima.al.gov.br)  
 82 3315-1737 / 1738 - FAX 82 3315-1734  
 Av. Major Cicero de Góes Monteiro, 2197 - Mutange

f IMA.ALAGOAS    i IMA.ALAGOAS    t IMA.ALAGOAS

**IMA**  
 INSTITUTO DO MEIO AMBIENTE  
 ESTADO DE ALAGOAS

## ANEXO 3 – DECLARAÇÃO DE CADASTRO DE ACESSO AO PATRIMÔNIO GENÉTICO OU CONHECIMENTO TRADICIONAL ASSOCIADO



Ministério do Meio Ambiente  
**CONSELHO DE GESTÃO DO PATRIMÔNIO GENÉTICO**  
 SISTEMA NACIONAL DE GESTÃO DO PATRIMÔNIO GENÉTICO E DO CONHECIMENTO TRADICIONAL ASSOCIADO

**Certidão**  
**Cadastro nº AE02540**

Declaramos, nos termos do art. 41 do Decreto nº 8.772/2016, que o cadastro de acesso ao patrimônio genético ou conhecimento tradicional associado, abaixo identificado e resumido, no Sistema Nacional de Gestão do Patrimônio Genético e do Conhecimento Tradicional Associado foi submetido ao procedimento administrativo de verificação e não foi objeto de requerimentos admitidos de verificação de indícios de irregularidades ou, caso tenha sido, o requerimento de verificação não foi acatado pelo CGen.

Número do cadastro: **AE02540**  
 Usuário: **UNIVERSIDADE FEDERAL DE ALAGOAS**  
 CPF/CNPJ: **24.464.109/0001-48**  
 Objeto do Acesso: **Patrimônio Genético/CTA**  
 Finalidade do Acesso: **Pesquisa e Desenvolvimento Tecnológico**

#### Espécie

Croton tricolor

Croton tricolor

#### Fonte do CTA

CTA de origem não identificável

Título da Atividade: **CARACTERIZAÇÃO QUÍMICA E BIOATIVIDADE DOS ÓLEOS ESSENCIAIS DE CROTON TRICOLOR KLOTZSCH EX BAILL. (EUPHORBIACEAE)**

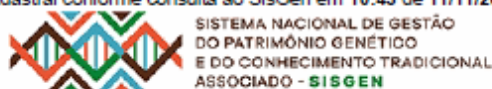
#### Equipe

Luciano Aparecido Meireles Grillo	UNIVERSIDADE FEDERAL DE ALAGOAS
Lays Nogueira Miranda	Universidade Federal de Alagoas
Sâmia Andrícia Souza da Silva	Universidade Federal de Alagoas

Data do Cadastro: **28/12/2020 18:41:15**

Situação do Cadastro: **Concluído**

Conselho de Gestão do Patrimônio Genético  
 Situação cadastral conforme consulta ao SisGen em 10:43 de 11/11/2021.



**ANEXO 4 - COMPROVANTE DE PEDIDO DE DEPÓSITO DE PATENTE  
JUNTO AO NIT/UFAL.**



**Pedido nacional de Invenção, Modelo de Utilidade, Certificado de  
Adição de Invenção e entrada na fase nacional do PCT**

**Número do Processo: BR 10 2021 003816 0**

**Dados do Depositante (71)**

---

Depositante 1 de 1

**Nome ou Razão Social:** UNIVERSIDADE FEDERAL DE ALAGOAS

**Tipo de Pessoa:** Pessoa Jurídica

**CPF/CNPJ:** 24464109000148

**Nacionalidade:** Brasileira

**Qualificação Jurídica:** Instituição de Ensino e Pesquisa

**Endereço:** Av. Lourival Melo Mota, s/n, Tabuleiro do Martins

**Cidade:** Maceió

**Estado:** AL

**CEP:** 57072-970

**País:** Brasil

**Telefone:** 82-3214-1064

**Fax:** 82-3214-1035

**Email:** nit@propep.ufal.br



## ANEXO 5 – COMPROVANTE DE PUBLICAÇÃO DO ARTIGO DE PROSPECÇÃO TECNOLÓGICA

DOI: <http://dx.doi.org/10.9771/cp.v14i4.43967>

### Prospecção Tecnológica de Inseticidas para Controle de *Tribolium Castaneum* em Produtos Armazenados

*Technological Prospection of Insecticides for the Control of Tribolium Castaneum in Stored Products*

Lays Nogueira Miranda<sup>1</sup>

Luciano Aparecido Meireles Grillo<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Universidade Federal de Alagoas, Maceió, AL, Brasil

#### Resumo

*Tribolium castaneum* (Coleoptera: Tenebrionidae) é uma das principais pragas por causar danos quantitativos e qualitativos aos produtos pós-colheita, gerando prejuízos de centenas de milhões de dólares em diversos setores econômicos. Sendo assim, este estudo tem como objetivo identificar invenções inseticidas para controle do *T. castaneum* em produtos armazenados. Trata-se de um estudo de prospecção tecnológica realizado por meio da ferramenta de pesquisa de patente Derwent Innovations Index e das bases Espacenet e Instituto Nacional de Propriedade Industrial (INPI). Foram identificadas 86 patentes relacionadas a produtos com potencial inseticida contra *T. castaneum*, sem duplicata. Destas, a maioria trata de inseticidas químicos sintéticos (66,3%), seguidos de bioinseticidas (23,2%) e produtos transgênicos (10,5%). As patentes relacionadas a bioinseticidas são de origem botânica (70%), de bactéria (25%) e de fungo (5%). Os resultados deste estudo apontam para a importância de serem desenvolvidas tecnologias utilizando-se novas fontes de produtos naturais com potencial inseticida para controle dessa praga que sejam seguros para o meio ambiente e para a saúde humana.

Palavras-chave: Controle de Pragas. Biotecnologia. Prospecção.

#### Abstract

*Tribolium castaneum* (Coleoptera: Tenebrionidae) is one of the main pests for causing quantitative and qualitative damage to post-harvest products, generating losses of hundreds of millions of dollars in various economic sectors. Thus, this study aimed to identify insecticide inventions to control *T. castaneum* in stored products. This is a study of technological prospecting carried out through the patent research tool Derwent Innovations Index and the Espacenet and INPI bases. 86 patents related to products with potential insecticide against *T. castaneum*, without duplicate, were identified. Among these, most are synthetic chemical insecticides (66,3%), followed by bioinsecticides (23,2%) and transgenic products (10,5%). Patents related to bioinsecticides are of botanical origin (70%), bacteria (25%) and fungus (5%). The results of this study point to the importance of developing technologies using new sources of natural products with insecticide potential to control this pest, safe for the environment and human health.

Keywords: Pest Control. Biotechnology. Prospecting.

Área Tecnológica: Biotecnologia, Biodiversidade e Recursos Naturais. Meio Ambiente e Sustentabilidade.



Direito autor e licença de uso: Este artigo está licenciado sob uma Licença Creative Commons. Com esta licença você pode compartilhar, adaptar, para qualquer fim, desde que atribua a autoria da obra, forneça um link para a licença, e indicar se foram feitas alterações.

Artigo recebido em: 23/03/2021  
Revisado em: 30/05/2021  
Aprovado em: 16/07/2021