

**UNIVERSIDADE TECNOLÓGICA FEDERAL DO PARANÁ
COORDENAÇÃO DO CURSO DE LICENCIATURA EM CIÊNCIAS BIOLÓGICAS
CURSO SUPERIOR DE LICENCIATURA EM CIÊNCIAS BIOLÓGICAS**

KATIANE POMPERMAYER

TOXICIDADE DE ÓLEOS ESSENCIAIS DE ANONÁCEAS PARA *Alphitobius diaperinus* (PANZER) (COLEOPTERA: TENEBRIONIDAE) E COMPATIBILIDADE PARA O FUNGO ENTOMOPATOGÊNICO *Beauveria bassiana* (BALS.) VUILL. (ASCOMYCOTA: CORDYCIPITACEAE)

TRABALHO DE CONCLUSÃO DE CURSO

**SANTA HELENA
2020**

KATIANE POMPERMAYER

TOXICIDADE DE ÓLEOS ESSENCIAIS DE ANONÁCEAS PARA *Alphitobius diaperinus* (PANZER) (COLEOPTERA: TENEBRIONIDAE) E COMPATIBILIDADE PARA O FUNGO ENTOMOPATOGÊNICO *Beauveria bassiana* (BALS.) VUILL. (ASCOMYCOTA: CORDYCIPITACEAE)

Trabalho de Conclusão de Curso de Graduação, apresentado ao Curso Superior de Licenciatura em Ciências Biológicas, da Universidade Tecnológica Federal do Paraná – UTFPR, como requisito parcial para obtenção do título de Licenciada em Biologia.

Orientador(a): Prof. Dra. Dejana Santos Alves

**SANTA HELENA
2020**

TERMO DE APROVAÇÃO

KATIANE POMEPRMAYER

TOXICIDADE DE ÓLEOS ESSENCIAIS DE ANONÁCEAS PARA *Alphitobius diaperinus* (PANZER) (COLEOPTERA: TENEBRIONIDAE) E COMPATIBILIDADE PARA O FUNGO ENTOMOPATOGÊNICO *Beauveria bassiana* (BALS.) VUILL. (ASCOMYCOTA: CORDYCIPTACEAE)

Este trabalho de conclusão de curso foi apresentado no dia 16 de outubro de 2020, como requisito parcial para obtenção do título de Licenciado(a) em Ciências Biológicas, outorgado pela Universidade Tecnológica Federal do Paraná. A aluna foi arguida pela Banca Examinadora composta pelos professores abaixo assinados. Após deliberação, a Banca Examinadora considerou o trabalho aprovado.

BANCA EXAMINADORA:

Prof. Dr. Geraldo Andrade Carvalho

UFLA

Prof. Dr. Daian Guilherme Pinto de
Oliveira
UTFPR

Prof. Dra Dejane Santos Alves
Orientadora – UTFPR

A Folha de Aprovação assinada encontra-se na Coordenação do Curso.

À minha família, especialmente minha mãe e meus filhos
que estiveram ao meu lado durante toda essa trajetória.

AGRADECIMENTOS

A Deus, pela presença constante na minha vida.

À minha família, pela paciência, incentivo e conforto prestado durante toda essa caminhada acadêmica.

Aos meus amigos, que me motivaram a permanecer firme na minha escolha.

À Universidade Tecnológica Federal do Paraná, UTFPR, pela oportunidade de inserção na pesquisa.

À professora Dra. DeJane Santos Alves, pela orientação, direcionamento, amizade e incentivo durante todo esse processo.

Ao Grupo de Pesquisa em Entomologia Aplicada (GPEA), pelo apoio imensurável nos trabalhos desenvolvidos.

As agências de fomento: CNPq, Capes e Fundação Araucária.

À UTFPR pelo apoio financeiro recebido no Edital 1/2019 - PROREC/PROGRAD - Apoio à Execução de Trabalhos de Conclusão de Cursos – TCC.

À UTFPR pela bolsa concedida por meio do Edital Nº 05/2020 PROREC - Apoio a Projetos Destaque da UTFPR.

À UNIOESTE pelo apoio na execução dos ensaios com *Beauveria bassiana*.

Ao Laboratório de Microscopia e Análise Ultraestrutural da Universidade Federal de Lavras, UFLA, Minas Gerais.

À profa. Dra. Jociani Ascari, prof. Dr. Denilson Ferreira de Oliveira, Murilo Silva de Oliveira e Gabriela Trindade pelo apoio nas análises de Cromatografia Gasosa acoplada a Espectrometria de Massas.

RESUMO

A avicultura de corte tem se destacado economicamente no Brasil. Esse aumento no setor, elevou o Brasil no *ranking* de produção e exportação de frango. Entretanto, essa alta demanda intensificou a produção e favoreceu a proliferação de pragas na avicultura. Nesse contexto, o cascudinho-dos-aviários *Alphitobius diaperinus* (Panzer) (Coleoptera: Tenebrionidae) é considerado a principal praga da avicultura de corte, e os métodos utilizados no manejo desse inseto apresentam-se ineficientes. Desse modo, esse trabalho objetivou avaliar a bioatividade dos óleos essenciais provenientes das cascas do caule de *Duguetia lanceolata* A.St.-Hil. e *Xylopia brasiliensis* Spreng. e das folhas de *Annona sylvatica* A. St.-Hil. e *Xylopia sericea* A.St.-Hil. para *A. diaperinus*; e a compatibilidade do óleo essencial mais tóxico para *A. diaperinus* ao organismo não alvo, o fungo entomopatogênico *Beauveria bassiana* (bals.) Vuill. Todos os óleos testados foram tóxicos para o *A. diaperinus* tanto em bioensaio de aplicação tópica quanto e em bioensaio de ingestão. Contudo, o resultado de maior relevância foi encontrado para o óleo essencial de *D. lanceolata* (cascas do caule) em bioensaio de ingestão, que teve sua concentração letal mediana (CL₅₀), ou seja, a concentração necessária para causar mortalidade em 50% da população estimada em 38,36 µg/mg de dieta, ao passo que a (CL₉₀), ou seja, a concentração necessária para causar a mortalidade de 90% dos indivíduos foi estimada em 98,63 µg/mg de dieta. Mesmo após 30 dias da aplicação do óleo essencial de *D. lanceolata* (cascas do caule) na dieta, foi constatada toxicidade para *A. diaperinus*, comprovando a ação residual do óleo essencial. As larvas alimentadas com a dieta contendo o óleo essencial de *D. lanceolata* (cascas do caule) foram submetidas à análise ultraestrutural em microscópio eletrônico de varredura. Nessa análise foi possível observar alterações morfológicas que impediram os insetos de realizarem o processo de ecdise, sendo constatada a presença da exúvia aderida ao corpo do inseto. Quando avaliada a compatibilidade com o fungo entomopatogênico *B. bassiana*, constatou-se que o óleo essencial de *D. lanceolata* (cascas do caule) apresentou índice biológico de toxicidade moderada (TM) para esse organismo não alvo. As análises de Cromatografia Gasosa acoplada à Espectrometria de Massas (CG/MS) foram conduzidas com os óleos essenciais de *A. sylvatica* (folhas), *D. lanceolata* (cascas do caule) e *X. sericea* (folhas) permitindo a identificação de alguns compostos presentes nesses óleos essenciais. Contudo, os resultados descritos no presente trabalho descrevem a toxicidade do óleo essencial de *D. lanceolata* (cascas do caule) para *A. diaperinus*, e a toxicidade moderada para o fungo entomopatogênico *B. bassiana*.

Palavras chave: Inseticidas botânicos. Metabólitos secundários. Manejo de pragas.

ABSTRACT

Poultry house has been standing out economically in Brazil. This increase in the sector raised Brazil in the *ranking* of chicken production and exports. However, this high demand intensified production and favored the proliferation of pests in poultry. In this context, the lesser mealworm *Alphitobius diaperinus* (Panzer) (Coleoptera: Tenebrionidae) is considered the main pest of poultry, and the methods used in the management of this insect are inefficient. Thus, this work aimed to evaluate the bioactivity of essential oils from the stem bark of *Duguetia lanceolata* A.St.-Hil. and *Xylopia brasiliensis* Spreng. and from the leaves of *Annona sylvatica* A. St.-Hil. and *Xylopia sericea* A.St.-Hil. *A. diaperinus*; and the compatibility of the most toxic essential oil for *A. diaperinus* to the non-target organism, the entomopathogenic fungus *Beauveria bassiana* (bals.) Vuill. All oils tested were toxic to *A. diaperinus* in both topical application and ingestion bioassays. However, the most relevant result was found for the essential oil of *D. lanceolata* (stem barks) in a bioassay of ingestion, which had its median lethal concentration (LC₅₀), that is, the concentration necessary to cause mortality in 50% of the population estimated at 38.36 µg/mg of diet, whereas (CL₉₀), that is, the concentration necessary to cause the mortality of 90% of individuals was estimated at 98.63 µg/mg of diet. Even after 30 days of the application of the essential oil of *D. lanceolata* (stem barks) in the diet, the toxicity to *A. diaperinus* was verified, proving the residual action of the essential oil. The larvae fed with the diet containing the essential oil of *D. lanceolata* (stem barks) were subjected to ultrastructural analysis in a scanning electron microscope. In this analysis, it was possible to observe morphological changes that prevented the insects from carrying out the process of ecdysis, being verified the presence of the exuvia adhered to the insect's body. When the compatibility with the entomopathogenic fungus *B. bassiana* was evaluated, it was found that the essential oil of *D. lanceolata* (stem bark) showed a moderate toxicity index (TM) for this non-target organism. The Gas Chromatography analyzes coupled with Mass Spectrometry (CG / MS) were conducted with the essential oils of *A. sylvatica* (leaves), *D. lanceolata* (stem bark) and *Xylopia sericea* (leaves) allowing the identification of some compounds present in these essential oils. However, the results described in the present work describe the toxicity of essential oil from *D. lanceolata* (stem bark) to *A. diaperinus*, and the moderate toxicity to the entomopathogenic fungus *B. bassiana*.

Keywords: Botanical insecticides. Secondary metabolites. Pest management.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1 - Mapa detalhado dos estados responsáveis pela produção do frango no Brasil.....	17
Figura 2 - Mapa detalhando os principais estados responsáveis pela exportação do frango no Brasil.....	18
Figura 3 - Relação dos países importadores do frango brasileiro.....	19
Figura 4 - Aparelho do tipo Clevenger utilizado na extração dos óleos essenciais....	29
Figura 5 -Protocolo utilizado para montagem do bioensaio de ingestão empregando dieta tratada com óleos essenciais de plantas da Família Annonaceae, com larvas de <i>Alphitobius diaperinus</i> . (a) dieta tratada com óleo essencial e (b) larva sendo individualizada em tubo eppendorf.....	30
Figura 6 -. Figura 6 – Protocolo utilizado para realização do ensaio de aplicação tópica, empregando óleos essenciais de plantas da Família Annonaceae, com larvas de <i>Alphitobius diaperinus</i> . (a) larvas selecionadas aleatoriamente e dispostas em placas de Petri para receber os tratamentos. (b) aplicação tópica realizada com microseringa de Hamilton®.....	31
Figura 7 -. Protocolo utilizado para a análise estrutural em microscópio eletrônico de varredura de larvas de <i>Alphitobius diaperinus</i> . (a) amostras dispostas em containers, (b) containers contendo as amostras submetidas a ponto crítico, (c) amostras dispostas em stambys revestidos com papel alumínio e (d) amostras submetidas a banho de ouro em aparelho Spuntter Coater BAL-TEC (SCD 050).....	34
Figura 8 - Aplicação do óleo essencial para análise de compatibilidade em fungo <i>Beauveria bassiana</i> (a) pulverização do óleo essencial de <i>Duguetia lanceolata</i> em placa com fungo inoculado e (b) pulverizador aerógrafo utilizado.....	35
Figura 9 - Análise de sobrevivência de larvas de <i>Alphitobius diaperinus</i> após ingestão de dieta contendo óleos essenciais de anonáceas. Sendo $S(t) = \exp(-(\text{tempo}/\delta)\alpha)$, onde: δ = parâmetro de forma; α = parâmetro de escala. Grupo 1: <i>Duguetia lanceolata</i> (cascas do caule); Grupo 2: <i>Annona sylvatica</i> (folhas), <i>Xylopiã brasiliensis</i> (cascas do caule) e <i>Xylopiã sericea</i> (folhas); Grupo 3: acetona.....	39
Figura 10 - Análise de sobrevivência de larvas de <i>Alphitobius diaperinus</i> após ingestão de dieta contendo óleos essenciais de anonáceas Sendo $S(t) = \exp(-(\text{tempo}/\delta)\alpha)$, onde: δ = parâmetro de forma; α = parâmetro de escala. Grupo 1: óleos essenciais provenientes de <i>Xylopiã sericea</i> (folhas) e <i>Duguetia lanceolata</i> (cascas do caule). Grupo 2: <i>Annona sylvatica</i> (folhas). Grupo 3: <i>Xylopiã brasiliensis</i> (cascas do caule). Grupo 4: acetona.....	41
Figura 11 - Análise de sobrevivência de larvas de <i>Alphitobius diaperinus</i> após ingestão de dieta contendo diferentes concentrações do óleo essencial das cascas do caule de <i>Duguetia lanceolata</i> . Sendo $S(t) = \exp(-(\text{tempo}/\delta)\alpha)$, onde: δ = parâmetro de forma; α = parâmetro de escala. Grupo 1: 100 $\mu\text{g}/\text{mg}$ de dieta. Grupo 2: 70 $\mu\text{g}/\text{mg}$ de dieta. Grupo 3: 50 $\mu\text{g}/\text{mg}$ de dieta. Grupo 4: 35 $\mu\text{g}/\text{mg}$ de dieta. Grupo 5: 25 $\mu\text{g}/\text{mg}$ de dieta. Grupo 6: acetona.....	45
Figura 12 - Larvas que apresentaram deformações morfológicas após a ingestão de dieta contendo óleo essencial de <i>Duguetia lanceolata</i>	46
Figura 13 - Análise de sobrevivência de larvas de <i>Alphitobius diaperinus</i> após ingestão de dieta contendo diferentes concentrações do ingrediente ativo cipermetrina Sendo $S(t)$	

= $\exp(-(\text{tempo}/\delta)\alpha)$, onde: δ = parâmetro de forma; α = parâmetro de escala. Grupo 1: 10 $\mu\text{g}/\text{mg}$ de dieta. Grupo 2: 2,23 $\mu\text{g}/\text{mg}$ de dieta. Grupo 3: 0,112 e 0,500 $\mu\text{g}/\text{mg}$ de dieta. Grupo 4: 0,025 $\mu\text{g}/\text{mg}$ de dieta. Grupo 5: acetona.....48

Figura 14 - Análise de sobrevivência de larvas de *Alphitobius diaperinus* após aplicação tópica de diferentes doses do óleo essencial das folhas de *Annona sylvatica* Sendo $S(t) = \exp(-(\text{tempo}/\delta)\alpha)$, onde: δ = parâmetro de forma; α = parâmetro de escala. Grupo 1: 10 $\mu\text{g}/\mu\text{L}$. Grupo 2: 1,778 $\mu\text{g}/\mu\text{L}$. Grupo 3: 0,01;0,056 e 0,316 $\mu\text{g}/\mu\text{L}$. Grupo acetona.....52

Figura 15 - Análise de sobrevivência de larvas de *Alphitobius diaperinus* após aplicação tópica de diferentes doses do óleo essencial das cascas de *Duguetia lanceolata*. Sendo $S(t) = \exp(-(\text{tempo}/\delta)\alpha)$, onde: δ = parâmetro de forma; α = parâmetro de escala. Grupo 1: 10 $\mu\text{g}/\mu\text{L}$. Grupo 2: 1,778 $\mu\text{g}/\mu\text{L}$. Grupo 3: 0,316 $\mu\text{g}/\mu\text{L}$. Grupo 4: 0; 0,01;0,056.....54

Figura 16 - Análise de sobrevivência de larvas de *Alphitobius diaperinus* após aplicação tópica de diferentes doses do óleo essencial das cascas do caule de *Xylopia brasiliensis*. Sendo $S(t) = \exp(-(\text{tempo}/\delta)\alpha)$, onde: δ = parâmetro de forma; α = parâmetro de escala. Grupo 1: 10 $\mu\text{g}/\mu\text{L}$. Grupo 2: 1,778 $\mu\text{g}/\mu\text{L}$. Grupo 3: 0,316 $\mu\text{g}/\mu\text{L}$. Grupo 4: 0; 0,01;0,056.....56

Figura 17 - Análise de sobrevivência de larvas de *Alphitobius diaperinus* após aplicação tópica de diferentes doses do óleo essencial das cascas do caule de *Xylopia brasiliensis*. Sendo $S(t) = \exp(-(\text{tempo}/\delta)\alpha)$, onde: δ = parâmetro de forma; α = parâmetro de escala. Grupo 1: 10 $\mu\text{g}/\mu\text{L}$. Grupo 2: 1,778 $\mu\text{g}/\mu\text{L}$. Grupo 3: 0,316 e 0,056 $\mu\text{g}/\mu\text{L}$. Grupo 4: 0 e 0,01.....58

Figura 18 - Análise de sobrevivência de larvas de *Alphitobius diaperinus* após aplicação tópica de diferentes doses do ingrediente ativo cipermetrina. ... Sendo $S(t) = \exp(-(\text{tempo}/\delta)\alpha)$, onde: δ = parâmetro de forma; α = parâmetro de escala. Grupo 1: 10 $\mu\text{g}/\mu\text{L}$. Grupo 2: 1,58 $\mu\text{g}/\mu\text{L}$. Grupo 3: 0,111 $\mu\text{g}/\mu\text{L}$. Grupo 4: 0,025 e 0,05 $\mu\text{g}/\mu\text{L}$. Grupo 5: acetona.....60

Figura 19 - Análise de sobrevivência de larvas de *Alphitobius diaperinus* após ingestão de dieta tratada com o óleo essencial de *Duguetia lanceolata*, passada 1 semana da aplicação dos tratamentos Sendo $S(t) = \exp(-(\text{tempo}/\delta)\alpha)$, onde: δ = parâmetro de forma; α = parâmetro de escala. Grupo 1: 100 $\mu\text{g}/\text{mg}$ de dieta. Grupo 2: 70 $\mu\text{g}/\text{mg}$ de dieta. Grupo 3: 50 $\mu\text{g}/\text{mg}$ de dieta. Grupo 4: 25 e 35 $\mu\text{g}/\text{mg}$ de dieta. Grupo 5: acetona.....64

Figura 20 - Análise de sobrevivência de larvas de *Alphitobius diaperinus* após ingestão de dieta tratada com o óleo essencial de *Duguetia lanceolata*, após 2 semanas da aplicação dos tratamentos. Sendo $S(t) = \exp(-(\text{tempo}/\delta)\alpha)$, onde: δ = parâmetro de forma; α = parâmetro de escala. Grupo 1: 100 e 70 $\mu\text{g}/\text{mg}$ de dieta. Grupo 2: 50, 35 e 25 $\mu\text{g}/\text{mg}$ de dieta. Grupo 3: acetona.....66

Figura 21 - Análise de sobrevivência de larvas de *Alphitobius diaperinus* após ingestão de dieta tratada com o óleo essencial de *Duguetia lanceolata*, após 3 semanas da aplicação dos tratamentos... Sendo $S(t) = \exp(-(\text{tempo}/\delta)\alpha)$, onde: δ = parâmetro de forma; α = parâmetro de escala. Grupo 1: 100 $\mu\text{g}/\text{mg}$ de dieta. Grupo 2: 70 e 50 $\mu\text{g}/\text{mg}$ de dieta. Grupo 3: 35 $\mu\text{g}/\text{mg}$. Grupo 4: 25 $\mu\text{g}/\text{mg}$ e acetona.....68

Figura 22 - Análise de sobrevivência de larvas de *Alphitobius diaperinus* após ingestão de dieta tratada com o óleo essencial de *Duguetia lanceolata*, após 4 semanas da aplicação dos tratamentos. Sendo $S(t) = \exp(-(\text{tempo}/\delta)\alpha)$, onde: δ = parâmetro de forma; α = parâmetro de escala. Grupo 1: 100 $\mu\text{g}/\text{mg}$ de dieta. Grupo 2: 70 $\mu\text{g}/\text{mg}$ de

dieta. Grupo 3: 50 e 35 µg/mg. Grupo 4: 25 µg/mg e acetona.....	70
Figura 23 - Larvas de <i>Alphitobius diaperinus</i> submetidas à análise em microscópio eletrônico de varredura. (a) larvas alimentadas com dieta contendo o controle acetona. (b) e (c) larvas alimentadas com a dieta contendo o óleo essencial de <i>Duguetia lanceolata</i>	71

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Material vegetal selecionado para extração dos óleos essenciais.....	28
Tabela 2 - Resposta concentração-mortalidade de larvas de <i>Alphitobius diaperinus</i> tratadas com óleo essencial das cascas do caule de <i>Duguetia lanceolata</i> e o ingrediente ativo cipermetrina.....	43
Tabela 3. Frequência de deformação nas larvas de <i>Alphitobius diaperinus</i> alimentadas com diferentes concentrações do óleo essencial das cascas do caule de <i>Duguetia lanceolata</i>	46
Tabela 4 - Resposta dose-mortalidade de larvas de <i>Alphitobius diaperinus</i> tratadas com óleos essenciais de plantas da família Annonaceae e o ingrediente ativo cipermetrina.....	50
Tabela 5 - Resposta concentração-mortalidade, ao longo do tempo, de larvas de <i>Alphitobius diaperinus</i> alimentadas com dieta contendo diferentes concentrações do óleo essencial das cascas do caule de <i>Duguetia lanceolata</i>	62
Tabela 6 - Parâmetros biológicos e Índice Biológico de Toxicidade do organismo não-alvo, <i>Beauveria bassiana</i> , em interação com o óleo essencial de <i>Duguetia lanceolata</i> (cascas do caule).....	72
Tabela 7 - Análises químicas por CG/MS dos óleos essenciais de <i>Xylopiya sericea</i> (folhas), <i>Annona sylvatica</i> (folhas) e <i>Duguetia lanceolata</i> (cascas do caule)	72

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	14
2	OBJETIVOS	16
2.1	Objetivo geral	16
2.2	Objetivos específicos.....	16
3	REFERENCIAL TEÓRICO	17
3.1	Avicultura no Brasil	17
3.2	O cascudinho-dos-aviários <i>A. diaperinus</i>	19
3.3	Metabólitos secundários	20
3.4	Família Annonaceae.....	22
3.5	Plantas a serem empregas nesse estudo.....	22
3.5.1	<i>Duguetia lanceolata</i> A. St.-Hil.....	23
3.5.2	<i>Annona sylvatica</i> A. St.-Hil.....	24
3.5.3	<i>Xylopia brasiliensis</i> Spreng.....	24
3.5.4	<i>Xylopia sericea</i> A. St. Hil.....	25
3.6	<i>Beauveria bassiana</i> (Bals.) Vuill.....	26
4	MATERIAIS E MÉTODOS	27
4.1	Criação dos insetos.....	27
4.2	Obtenção dos óleos essenciais.....	28
4.3	Ensaio biológicos.....	29
4.3.1	Screening da bioatividade de óleos essenciais em bioensaio de ingestão.....	29
4.3.2	Screening da bioatividade de óleos essenciais em bioensaio de aplicação tópica.....	30
4.3.3	Resposta concentração-tempo-mortalidade do óleo de <i>D. lanceolata</i> para <i>A. diaperinus</i> em bioensaio de ingestão.....	31
4.3.4	Resposta dose-tempo-mortalidade dos óleos essenciais de anonáceas em aplicação tópica.....	32
4.3.5	Efeito residual do óleo essencial de <i>D. lanceolata</i> em bioensaio de ingestão....	32
4.3.6	Análise estrutural de larvas de <i>A. diaperinus</i> em Microscópio Eletrônico de Varredura.....	33

4.3.7	Análise do efeito do óleo essencial de <i>D. lanceolata</i> para organismo não-alvo fungo <i>B. bassiana</i>	34
4.3.8	Caracterização química dos óleos essenciais por CG/MS.....	36
4.3.9	Análise estatística.....	37
5	RESULTADOS	38
5.1	Screening da bioatividade de óleos essenciais em bioensaio de ingestão.....	38
5.2	Screening da bioatividade de óleos essenciais em bioensaio de aplicação tópica.....	40
5.3	Resposta concentração-tempo-mortalidade do óleo de <i>D. lanceolata</i> para <i>A. diaperinus</i> em bioensaio de ingestão.....	42
5.4	Resposta dose-tempo-mortalidade dos óleos essenciais de anonáceas em aplicação tópica	49
5.5	Efeito residual do óleo essencial de <i>D. lanceolata</i> em bioensaio de ingestão.....	61
5.6	Análise estrutural de larvas de <i>A. diaperinus</i> em Microscópio Eletrônico de Varredura.....	71
5.7	Análise do efeito do óleo essencial de <i>D. lanceolata</i> para organismo não-alvo fungo <i>B. bassiana</i>	71
5.8	Caracterização química dos óleos essenciais por CG/MS.....	72
6	DISCUSSÃO	73
7	CONCLUSÕES	76
8	CONSIDERAÇÕES FINAIS	76
	REFERÊNCIAS	77

1 INTRODUÇÃO

A avicultura brasileira tem assumido importante papel na economia do Brasil. O aumento na criação e abate do frango de corte é reflexo dos avanços tecnológicos (VOGADO et al., 2016). A elevada demanda pelo produto levou o Brasil a assumir a segunda posição no *ranking* mundial de maior produtor de frango, e o primeiro lugar como exportador do produto no mundo, de acordo com o United States Department of Agriculture (2018).

Dados da Associação Brasileira de Proteína Animal (ABPA) mostraram que, mesmo em meio a uma pandemia, o Brasil teve um crescimento de 5,1% na exportação de frango de corte no primeiro quadrimestre de 2020 quando relacionado ao ano anterior. As exportações atingiram 1,365 milhões de toneladas de carne frango, totalizando um montante de US\$ 2,151 bilhões. Ainda de acordo com a ABPA além do aumento nas vendas para China, países da África, Ásia e Oriente Médio também contribuíram para o aumento da venda do produto (ABPA, 2020). Contudo, o aumento da demanda por frango de corte associado às dificuldades no manejo se tornou um cenário propício para a proliferação de pragas nos galpões.

Entre as pragas de maior importância econômica e sanitária para a avicultura de corte destaca-se *Alphitobius diaperinus* Panzer, 1797 (Coleoptera: Tenebrionidae), conhecido popularmente como cascudinho dos aviários. O cascudinho é um inseto cosmopolita, holometábolo que se adaptou muito bem à cama dos aviários de corte, onde encontrou as condições que permitiram sua alta densidade populacional (UEMURA et al., 2008).

É possível mencionar que *A. diaperinus* danifica a estrutura dos galpões, bem como seu isolamento térmico (HICKMANN et al., 2018). Além disso, essa praga se tornou reservatório e vetor de diversas bactérias enteropatogênicas, tais como, *Proteus vulgaris*, *Proteus mirabilis*, *Escherichia coli*, *Enterobacter agglomerans* e *Salmonella* (CHERNAKI-LEFFER et al., 2002; LEFFER et al., 2010). Entretanto, seu maior prejuízo está relacionado a conversão alimentar dos frangos, pois esses, tendem a ingerir o besouro, ao invés da ração balanceada, interferindo diretamente no seu ganho de peso (DESPINS; AXTELL, 1995). A ingestão do inseto também promove lesões no trato digestório das aves, causando doenças gastrointestinais e em casos mais graves podem levar a morte (JAPP, 2008).

O controle de *A. diaperinus* é comumente realizado com a aplicação de inseticidas químicos sintéticos. Porém, o uso indiscriminado dessas substâncias vêm acarretando a seleção de populações resistentes aos pesticidas (SINGH; JOHNSON, 2015; HICKMANN et al., 2018) e prejudica a exportação do produto, uma vez que países europeus proíbem a entrada de carne com resíduos pesticidas (JAPP et al., 2010). Diante do exposto, justifica-se a necessidade da busca por novas moléculas que possam vir a ser empregadas para o controle desse inseto.

Assim, os metabólitos secundários de plantas mostram-se bastante promissores, sendo inúmeros os relatos da atividade tóxica de metabólitos secundários para *A. diaperinus* (SZCZEPANIK et al., 2012; MARQUES et al., 2013; JACOMINI et al., 2016; ARENA et al., 2020). Os produtos do metabolismo de plantas podem ser usados na forma de óleos essenciais ou extratos vegetais. Ainda existe a possibilidade de isolar e identificar esses compostos orgânicos em laboratório, visando a diminuição do custo para aquisição dos mesmos. Esses produtos também podem servir como moléculas-molde para síntese de outras substâncias. Alguns grupos de pesticidas amplamente empregados para o controle de pragas, tais como os piretroides, tiveram como origem as piretrinas isoladas das flores de crisântemum (CARVALHO; ALVES; OLIVEIRA, 2017).

Entre as famílias botânicas conhecidas por produzirem substâncias com atividade inseticida destaca-se a Família Annonaceae, que compreende aproximadamente 2.500 espécies distribuídas pelo mundo (JUNIKKA; KOEK-NOORMAN, 2007). As anonáceas são conhecidas pela produção de metabólitos secundários tóxicos para artrópodes e possuem reconhecida importância na farmacologia e medicina natural (SOUSA; et al., 2008; COLMAN-SAZARBITORIA et al., 2009; COSTA ET AL., 2013; GONZÁLEZ-ESQUINCA et al., 2014; KRINSKI et al., 2014; ALVES et al., 2020). Fazem parte dessa família plantas lenhosas, arbustos ou arbustivas, que são caracterizadas pela floração solitária ou inflorescência, e pelos frutos de aparência carnosos ou secos (PONTES et al., 2004).

No contexto do manejo integrado de pragas é desejável que as substâncias empregadas para o controle de artrópodes sejam compatíveis com outros métodos de controle. Nesse sentido, inúmeros estudos vêm sendo realizados na tentativa de controlar as infestações de *A. diaperinus*, e o fungo entomopatogênico *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuill. tem ganhado destaque no controle biológico desse inseto. Sua eficácia contra o cascudinho foi comprovada tanto em ensaios *in vitro* quanto em

situação de campo (CRAWFORD et al., 1998; GEDEN et al., 1998; ROHDE et al., 2006; SILVA et al., 2006; SANTORO et al., 2008; ALVES, et al., 2015; DANIEL et al., 2019; RICE et al., 2019).

Deste modo, esse trabalho objetivou avaliar a bioatividade dos óleos essenciais de plantas provenientes da Família Annonaceae para *A. diaperinus* e a compatibilidade do óleo essencial mais promissor para o fungo entomopatogênico *B. bassiana*.

2 OBJETIVOS

2.1 Objetivo geral

Avaliar a toxicidade dos óleos essenciais de plantas da família anonácea: *Duguetia lanceolata* A.St.-Hil. (cascas do caule), *Xylopiá brasilienses* Spreng. (cascas do caule), *Xylopiá sericea* A.St.-Hil. (folhas) e *Annona sylvática* A. St.-Hil. (folhas) para *A. diaperinus* e a compatibilidade do óleo essencial mais tóxico contra *A. diaperinus* para o fungo entomopatogênico *B. bassiana*.

2.2 Objetivos específicos

- Avaliar a toxicidade dos óleos essenciais de *D. lanceolata* (cascas do caule), *X. brasilienses* (cascas do caule), *X. sericea* (folhas) e *A. sylvática* (folhas) para *A. diaperinus*, em ensaios de aplicação tópica e ingestão;
- Determinar a resposta tempo-concentração-mortalidade e tempo-dose-mortalidade dos óleos essenciais que apresentaram maior bioatividade contra *A. diaperinus*;
- Avaliar o período residual do óleo essencial de *D. lanceolata* (cascas do caule) para *A. diaperinus*;
- Realizar análise ultraestrutural das larvas de *A. diaperinus* alimentadas com o óleo essencial que apresentou maior toxicidade;
- Realizar a caracterização química por Cromatografia Gasosa acoplada a Espectrometria de Massas (CG-EM) dos óleos essenciais que apresentaram maior bioatividade contra *A. diaperinus*.

- Avaliar a compatibilidade do óleo essencial mais tóxico para *A. diaperinus* para o organismo não alvo *B. bassiana*;

3 REFERENCIAL TEÓRICO

3.1 A avicultura no Brasil

A avicultura de corte foi inserida recentemente na economia brasileira, contudo o aumento significativo no número de abates está diretamente ligado aos avanços tecnológicos (VOGADO et al., 2016). Relatórios disponibilizados pela Associação Brasileira de Proteína Animal (ABPA) retratam o aumento progressivo da produção brasileira de carne frango na última década. Essa produção saltou de 12,230 milhões de toneladas em 2010 para 13,245 milhões de toneladas no ano de 2019 (ABPA, 2019).

Ainda de acordo com ABPA (2019), 68% da produção de frango atende o mercado interno, enquanto que 32% do produto é destinado à exportação. Entre os estados brasileiros responsáveis pela produção do frango de corte, é na região Sul que a atividade recebe destaque. O Paraná lidera o abate com 34,69%, seguido de Santa Catarina com 15,40% e Rio Grande do Sul com 14,32%, os três estados que compõe a região Sul produzem juntos 64,41% de toda carne de frango brasileira. O restante da produção fica dividida entre São Paulo, Goiás, Minas Gerais, Mato Grosso, Mato Grosso do Sul que juntos somam 30,45%, e os demais estados produtores com 5,14% (Figura 1).

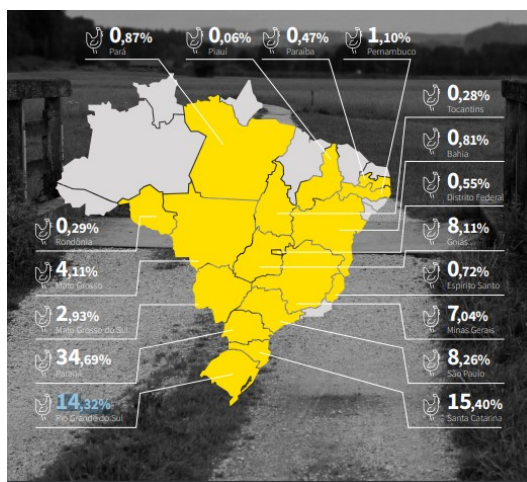


Figura 1- Mapa detalhado dos estados responsáveis pela produção do frango no Brasil.

FONTE: Relatório ABPA, 2019

Esse expressivo aumento no setor elevou o patamar do Brasil no *ranking* de produção e exportação de frango. De acordo com United States Department of Agriculture (USDA), em 2018, o Brasil assumiu o primeiro lugar como maior exportador de frango, e segundo maior produtor do produto no mundo (USDA, 2018). A região Sul do Brasil é a grande mantenedora desses números. O Paraná foi responsável por 39,13% das exportações, seguido novamente de Santa Catarina com 30,53% e Rio Grande do Sul com 14,07% do total do produto exportado. O restante das exportações está dividido entre os demais estados (ABPA, 2020) (Figura 2).

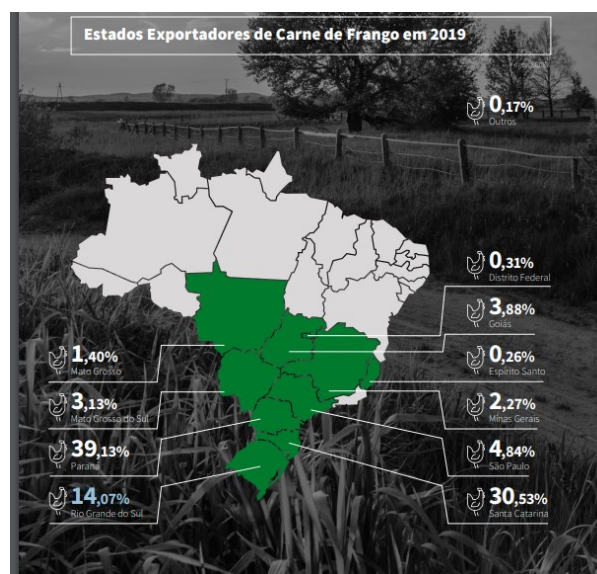


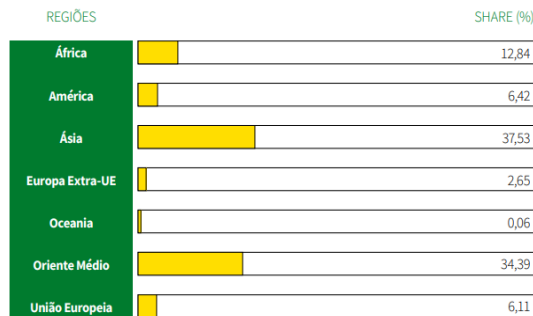
Figura 2 - Mapa detalhando os principais estados responsáveis pela exportação do frango no Brasil.

FONTE: Relatório ABPA, 2020.

Dados da Associação Brasileira de Proteína Animal (ABPA) demonstram que, mesmo em meio a uma pandemia, o Brasil teve um crescimento de 5,1% na exportação do produto no primeiro quadrimestre de 2020 quando relacionado ao ano anterior. A exportação chegou a 1,365 milhões de toneladas de carne frango totalizando um valor de US\$ 2,151 bilhões. As exportações atenderam países da Ásia, Oriente médio e África em maior proporção, mais também ajudaram a suprir a demanda do produto na América, União Europeia, Europeia Extra-EU e Oceania (ABPA, 2020) (Figura 3).

Share das Exportações Brasileiras por Região em 2019

Fonte: SECEX



A

Figura 3 - Relação dos países importadores do frango brasileiro.

FONTE: Relatório ABPA, 2020.

Entretanto, entre os fatores que oneram a avicultura de corte destaca-se o inseto praga *A. diaperinus*, foco do presente trabalho.

3.2 O cascudinho dos aviários *A. diaperinus*

O cascudinho dos aviários *A. diaperinus* apresenta distribuição cosmopolita e vem causando consideráveis prejuízos para avicultura brasileira; esse inseto é relatado também como praga secundária de grãos armazenados (PACHECO, 1995; MCALLISTER et al., 1995). *A. diaperinus* adaptou-se muito bem à cama dos aviários de corte, onde encontrou temperatura e alimento, que permitem que esse inseto alcance altas densidades populacionais (OLIVEIRA et al., 2017a).

Entre os prejuízos ocasionados por *A. diaperinus* pode-se mencionar que ele atua como vetor e reservatório de bactérias enteropatogênicas, tais como a *Salmonella*, a qual constituiu umas das principais causas de intoxicação alimentar em humanos (AGABOU; ALLOUI, 2010; LEFFER et al., 2010; CRIPPEN et al., 2018b). O cascudinho também pode causar importantes danos à estrutura dos aviários, especialmente em regiões de clima temperado, pois tendem a fazer galerias na madeira e perfurações nos isolamentos térmicos (HICKMANN et al., 2018). Entretanto, o maior prejuízo é notado no desenvolvimento inicial das aves, onde elas ingerem grande quantidade do inseto no lugar da ração balanceada, reduzindo a

eficiência da conversão alimentar (DESPINS; AXTELL, 1995). Além de interferir no peso das aves, a ingestão de larvas ainda provoca lesões no trato digestório e promove a disseminação de patógenos (CRIPPEN et al., 2009, 2018a; JAPP et al., 2010).

Algumas táticas para o controle de *A. diaperinus* vêm sendo usadas em aviários de corte, porém possuem eficiência limitada. Dentre as alternativas está a retirada da cama do aviário durante a ausência do lote de aves, em seguida, a cama do aviário é coberta com lona para promover a fermentação. O processo de fermentação eleva a temperatura acima dos níveis suportáveis para esse coleóptero. Contudo, essa prática não atinge todos os indivíduos, uma vez que muitos indivíduos estão alojados no interior das galerias formadas na estrutura na construção, favorecendo novas infestações (CORDOVES; DEPOINT, 1997; CHERNAKI; DE ALMEIDA, 2001).

Apesar da supracitada estratégia de manejo para reduzir a população de insetos, o uso de inseticidas químicos sintéticos continua sendo o principal método utilizado para o controle. No entanto, o uso indiscriminado dessas substâncias acarreta em seleção de populações resistentes aos pesticidas (SINGH; JOHNSON, 2015; HICKMANN et al., 2018). Ademais, o uso de inseticidas químicos sintéticos é uma barreira comercial para exportação de carne, pois países da União Europeia não permitem o uso de determinados produtos químicos para o controle de insetos, uma vez que eles podem deixar resíduos pesticidas na carne (JAPP et al., 2010).

Entre os pesticidas utilizados nos aviários de corte no Brasil estão os piretroides e organofosforados que contêm os ingredientes ativos cipermetrina e clorpirifos (JAPP et al., 2010).

Desse modo, justifica-se a necessidade de novas alternativas para o controle desse inseto. E devido ao grande potencial dos metabólitos secundários de plantas, nas últimas décadas têm se intensificado os trabalhos com produtos naturais, tais como os óleos essenciais para o controle de *A. diaperinus* (SZCZEPANIK et al., 2012; MARQUES et al., 2013; SZOŁYGA et al., 2014; JACOMINI et al., 2016; ARENA et al., 2020).

3.3 Metabólitos secundários

Ao longo do processo de evolução, as plantas desenvolveram uma série de mecanismos de defesa contra os insetos. Entre os mecanismos de defesa destacam-

se as defesas químicas, as quais podem ser constitutivas ou induzidas. Os aleloquímicos envolvidos nessas interações são objeto de estudo da ecologia química e são denominados metabólitos secundários. Os produtos oriundos do metabolismo secundário das plantas não estão envolvidos diretamente no processo de crescimento, desenvolvimento e reprodução das plantas, mas podem atuar na defesa de plantas contra a herbivoria (TAIZ, 2013).

Os metabólitos secundários de origem vegetal podem ser classificados em três grandes grupos: terpenos, compostos fenólicos e alcaloides (TAIZ, 2013). Na extração de metabólitos secundários de plantas, diferentes métodos podem ser empregados para a obtenção de óleos essenciais ou extratos vegetais (SIMÕES et al., 2017).

Os óleos essenciais podem ser definidos como misturas complexas de substâncias voláteis e hidrofóbicas com até 20 átomos de carbono (C). De modo geral são compostos na sua maioria formados por mono (10C) e sesquiterpenos (15C). Podem ser obtidos por diversas técnicas, entre elas: enfloração, hidrodestilação, destilação por arraste a vapor d'água, prensagem a frio e extração por fluido supercrítico (SIMÕES et al., 2017). Mas o método mais utilizado é a destilação por arraste a vapor empregando destilador do tipo Clevenger, devido ao baixo custo e alta eficiência do processo.

Algumas das vezes na matriz de metabólitos secundários, obtidas após a extração de óleos essenciais e extratos vegetais, existe apenas um composto bioativo. Todavia, em outros casos, a mistura de metabólitos secundários apresenta maior eficiência e durabilidade prolongada do que um único composto (RATTAN, 2010).

No que diz respeito ao modo de ação de metabólitos secundários com atividade inseticida, essa área de pesquisa têm sido estudada por vários autores (ZAFRA-POLO et al., 1996; GAZONI et al., 2012; ALVES, 2014; KRINSKI et al., 2014; ANSANTE et al., 2015; BERTOL et al., 2015). Os inseticidas botânicos exercem uma ampla gama de ação sobre insetos e outros artrópodes. A neuroexcitação resulta em hiperatividades, tremores e paralisia, devido à perda de energia e fadiga neuromuscular, enquanto que a neuroinibição resulta em imobilidade e paralisia devido a possível privação de oxigênio, essa diminuição da capacidade respiratória pode levar a morte (SCHARF et al., 2003).

Existem inúmeros relatos na literatura do efeito tóxico de produtos do metabolismo secundário de plantas, tais como óleos essenciais e extratos vegetais para *A. diaperinus* (SZCZEPANIK et al., 2012, 2018; SZOŁYGA et al., 2014; WANG

et al., 2014; BERTOL et al., 2015; ARENA et al., 2020). Entretanto, embora esse inseto venha causando enormes prejuízos na avicultura brasileira (JAPP et al., 2010; OLIVEIRA et al., 2017b) são escassos os trabalhos, desenvolvidos no Brasil.

3.4 Família Annonaceae

As plantas da família Annonaceae compreendem aproximadamente 2.500 espécies espalhadas pelo mundo, dentre as quais aproximadamente 900 espécies estão presentes nas Américas (JUNIKKA; KOEK-NOORMAN, 2007). As anonáceas são conhecidas por produzirem metabólitos secundários tóxicos para artrópodes, além de reconhecida importância farmacológica e na medicina natural (KRINSKI et al., 2014; GONTIJO; BRANDÃO et al., 2019; NOVAES et al., 2019; PINEDA-RAMÍREZ et al., 2020). Fazem parte dessa família plantas lenhosas, arbustos e arbustivas, que são caracterizadas pela floração solitária ou inflorescência, e pelos frutos de aparência carnosos ou secos (PONTES et al., 2004).

Entre as anonáceas de maior interesse comercial destacam-se as espécies do gênero *Annona* (Annonaceae), que são popularmente conhecidas como pinha, graviola, fruta-do-conde, ata, marolo, pinha-azedada e condessa (DE MESQUITA et al., 2005; CORIA-TÉLLEZ et al., 2018). Sua atividade antimicrobiana e inseticida se deve principalmente a presença de acetogeninas, substâncias que utilizadas contra insetos, atuam nas mitocôndrias inibindo a NADH, e causando a morte dos indivíduos (YAJID et al., 2018). Além de acetogeninas, estão presentes no metabolismo secundário das anonáceas os alcaloides, flavonoides e terpenoides (LÜMMEN, 1998; FOURNIER et al., 1999; PONTES et al., 2004; JAYASURIYA et al., 2005; GONZÁLEZ-ESQUINCA et al., 2014; ANSANTE et al., 2015; YAJID et al., 2018) .

Já existem relatos da atividade inseticida de substâncias provenientes de metabólitos secundários de plantas da família anonácea para outros insetos (ZAFRA-POLO et al., 1996; LÜMMEN, 1998; GUARIDO, 2009; ;COSTA, 2013; KRINSKI et al., 2014; ANSANTE et al., 2015; TRINDADE et al., 2018; ALVES et al., 2016a, 2020), porém ainda não existem estudos de sua eficácia para *A. diaperinus*, fazendo-se necessário o desenvolvimento de novas pesquisas.

3.5 Plantas a serem empregadas nesse estudo

3.5.1 *Duguetia lanceolata* A. St.- Hil

Membro da família anonácea, *D. lanceolata*, é popularmente conhecida como pindaíva, pindaíba, pindaúva, piribá e perovana, e é reconhecida pela sua importância na medicina popular sendo utilizada no tratamento de contusões (RODRIGUES et al., 2008).

Existem relatos do efeito antinoceptivo, anti-inflamatório, antitripanosoma do extrato etanólico das folhas de *D. lanceolata* (SOUSA et al., 2004, 2008; TEMPONE et al., 2005), bem como da atividade antimicrobiana e citotóxica do óleos essenciais das cascas dos galhos dessa planta (SOUSA et al., 2012). Em análise cromatográfica do óleo essencial das cascas dos galhos de *D. lanceolata* foi constatada a presença do óxido de cariofileno e selinemo (SOUSA et al., 2012). Já no que se refere a fração solúvel em diclorometano, proveniente do extrato metanólico das cascas do caule de *D. lanceolata*, os compostos majoritários foram a trans-asarona e o 2,4,5 trimetoxiestireno (ALVES et al., 2015).

Também se pode mencionar que foi constatada a toxicidade da fração solúvel em diclorometano do extrato metanólico das cascas do caule de *D. lanceolata* para as lagartas *Spodoptera frugiperda* (J. E. Smith) (Lepidoptera: Noctuidae), destacando-se que o tempo letal mediano, ou seja, tempo necessário para causar a mortalidade de 50% dos indivíduos foi de apenas 61,4 h. Através das análises de perfil metabólico dessa planta, foi sugerido que a substância responsável pela atividade inseticida seria o 2,4,5 trimetoxiestireno (ALVES et al., 2016a, 2020). Em trabalho posterior foram isolados dessa planta as substâncias trans-asarona e o 2,4,5 trimetoxiestireno, as quais foram tóxicas para lagartas de *S. frugiperda*.

O efeito subletal do extrato etanólico das folhas contra *S. frugiperda* foi relatado por Ansante et al. (2015) e o efeito letal contra *Sitophilus zeamais* Mots (Coleoptera: Curculionidae) e *Zabrotes subfasciatus* (Boheman) (Coleoptera: Chrysomelidae: Bruchinae) constatados por Ribeiro et al. (2016) e Padoan Gonçalves et al. (2017). Também foi observada a atividade inseticida da fração hexânica do óleo essencial das folhas contra *S. zeamais* (DOMINGUES et al., 2020; RIBEIRO et al., 2020). Contudo, ainda não existem relatos da atividade inseticida de *D. lanceolata* para *A. diaperinus*.

3.5.2 *Annona sylvatica* A. St.-Hil.

Estudos com essa planta ainda são escassos, porém, a atividade anti-inflamatória e inibidora de crescimento de células cancerígenas foi relatada quando testados os óleos essenciais das folhas de *A. sylvatica*. Na análise cromatográfica foi identificada a presença de sesquiterpenos, tais como, hinesol, z-cariofileno, β -maalieno, γ -gurjuneno, silphiperfol-5-en-3-ol, ledol, cubecol-1-epi e muurola-3,5 -dieno (FORMAGIO et al., 2013). A atividade antitumoral também foi constatada em ensaios com os extratos das folhas e sementes de *A. sylvatica* (TUNDIS et al., 2017). No que se refere a caracterização química do extrato metanólico das folhas, foi possível identificar por LC-MS a presença de flavonoides e acetogeninas e o estudo fitoquímico resultou no isolamento de quercetina, luteolina e almunequin. Essas substâncias apresentaram-se promissoras para o controle de tuberculose (ARAUJO et al., 2014).

O extrato etanólico das folhas e galhos apresentaram atividade tóxica para *S. zeamais* e *Z. subfasciatus* (RIBEIRO et al., 2016; GONÇALVES et al., 2015), ao passo que as sementes demonstraram efeitos letais e/ou subletais para *Myzus persicae* (Sulzer) (Hemiptera: Aphididae) (RIBEIRO et al., 2014), *Z. subfasciatus* (GONÇALVES et al., 2015), *S. frugiperda* (ANSANTE et al., 2015), *Drosophila suzukii* Matsumura, 1931 (Diptera: Drosophilidae) (BERNARDI et al., 2017), *Zaprionus indianus* (Gupta, 1970) (Diptera: Drosophilidae) (Geisler et al., 2019) e *Anastrepha fraterculus* (Wiedemann) (Diptera: Tephritidae) (STUPP et al., 2020).

3.5.3 *Xylopia brasiliensis* Spreng.

Entre as 160 espécies pertencentes ao gênero *Xylopia* (Annonaceae) identificadas na América do Sul, África e Ásia, cerca de 25 delas são encontradas na flora brasileira (HOCQÜEMILLER et al., 1981; TAKHTAJAN ARMEN; 1986). Conhecida popularmente como pindaíba, *X. brasiliensis* teve sua atividade antifúngica relatada contra *Cladosporium cladosporioides* (Fresen) de Vries (Capnodialise). A análise dos constituintes dos extratos das folhas e galhos foi realizada por meio de NMR, e a presença de sesquiterpenos, diterpenos, esteroides e alcaloides foi detectada (MOREIRA et al., 2003, 2005).

No que se refere ao óleo essencial das folhas, 55% dos constituintes foram identificados como monoterpenos e 45% sesquiterpenos. Entre os principais componentes encontrados estão: espatulenol (40,8%), verbenona (11,1%) e 1,8-cineol (11,1%) (Lago et al., 2003). Em ensaios conduzidos por Alves et al. (2015, 2016) não foi constatada atividade tóxica contra artrópodes dessa planta.

3.5.4 *Xylopiia sericea* A. St. Hil.

Nos estudos fitoquímicos dos óleos essenciais de *X. sericea* constatou-se a presença majoritária de monoterpenos e sesquiterpenos. O óleo essencial das folhas apresentou maior bioatividade do que o dos frutos para *Tetranychus urticae* Koch. (Acari: Tetranychidae) (PONTES et al., 2007). Nas sementes de *X. sericea* foram isolados mono e diterpenos (TAKAHASHI et al., 2001). Já no que se refere às raízes, os compostos majoritários são monoterpenos, sesquiterpenos e diterpenos. Ao passo que no tronco, folhas e frutos, monoterpenos e sesquiterpenos se apresentam como constituintes majoritários, caracterizando uma variada composição química nas diferentes partes da planta (DA CÂMARA et al., 1996).

Em estudo com o óleo das cascas das raízes de *X. sericea* foi possível observar moderada atividade bacteriostática e fungistática. As análises cromatográficas apresentaram como constituintes majoritários monoterpenos e sesquiterpenos (FOURNIER et al., 1994). Também foi relatada a utilização de infusão e compressas das cascas do caule da planta para o tratamento de sarna (HAJDU; HOHMANN, 2012). Ainda é possível mencionar a atividade antioxidante e efeito bacteriostático dos óleos essenciais dos frutos dessa planta contra *Staphylococcus aureus*, *Enterobacter cloacae*, *Bacillus cereus* e *Klebsiella pneumoniae*. Análises por CG/MS identificaram em maior abundância os sesquiterpenos espatulenol (16,42%), guaiol (13,93%) e germacreno D (8,11%) (MENDES et al., 2017).

Nos extratos solúveis em etanol e diclorometano, bem como nos óleos essenciais das folhas de *X. sericea* foram identificados acetogeninas, alcaloides e flavonoides, compostos responsáveis pela sua atividade antiplasmodial (GONTIJO et al., 2019; GONTIJO; BRANDÃO et al., 2019; GONTIJO; NASCIMENTO et al., 2019). As frações solúveis em diclorometano provenientes dos extratos metanólicos das cascas do caule e frutos de *X. sericea* causaram redução do peso de lagartas de *S.*

frugiperda (ALVES et al., 2016b), e ainda acarretaram na redução da população de *T. tumidus* (ALVES et al., 2015a).

3.6 *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuill

O fungo *B. bassiana* é um entomopatógeno que ocorre naturalmente no solo dos aviários. Esse organismo contribui positivamente para o controle de insetos pragas, tais como o cascudinho-dos-aviários (ALVES et al., 2005; ROHDE et al., 2006; SANTORO et al., 2008; DANIEL et al., 2019; RICE et al., 2019, 2020; HASSEMER et al., 2020).

Relatos da utilização de fungos entomopatogênicos para o controle biológico de pragas vem ocorrendo há mais de duas décadas. A suscetibilidade de *A. diaperinus* à *B. bassiana* foi verificada por bioensaios de contato com fungos isolados naturalmente do inseto. Nesse ensaio, a concentração letal mediana (CL₅₀) para larvas com 5 dias de idade foi estimado em $1,73 \times 10^2$ conídios/mL e a concentração letal a 90% da população (CL₉₀) foi de $9,86 \times 10^3$. Enquanto que, para as larvas de 10 dias de idade, a CL₅₀ foi de $2,49 \times 10^2$, e a CL₉₀ foi estimada em $4,74 \times 10^4$ conídios/mL (GEDEN et al., 1998).

Pesquisadores de várias partes do mundo investiram seus estudos identificando isolados *B. bassiana* associados ao cascudinho, bem como suas taxas de virulência, e relataram uma elevada variação genética da espécie em diferentes regiões (CASTRILLO; BROOKS, 1998; CRAWFORD et al., 1998; CASTRILLO et al., 1999).

Geden e Steinkraus (2003) realizaram uma triagem de 12 cepas de *B. bassiana*, e foram selecionados dois isolados (GHA e 707) para testes adicionais em campo. As formulações granulares de ambas as cepas e a formulação residual da cepa GHA proporcionaram o maior grau de supressão de larvas de *A. diaperinus*, com uma variação de 60% a 90%. Alves et al. (2005), também observou a presença do fungo *B. bassiana* em aviário comercial na região oeste do Paraná. O fungo foi isolado de larvas, pupas e adultos e, submetidos à testes que comprovaram sua patogenicidade, além disso sua eficácia também foi constatada em ensaios em situação de campo (ALVES et al., 2015). Entre as amostras mais promissoras, selecionadas pelos pesquisadores dessa região, se destacam os isolados UNIOESTE 04 e UNIOESTE 02. Nota-se que o UNIOESTE 04 apresentou elevada produção de conídios em

diferentes meios-de-cultura, evidenciando alto potencial para controle de cascudinho (ROHDE et al., 2006).

Outro trabalho verificou a eficácia do fungo *B. bassiana* em diferentes fases do ciclo de vida de *A. diaperinus* e se obteve que em concentração $3,4 \times 10^6$ conídio/mL⁻¹, 54% dos ovos tratados eram inviáveis; com morte de larvas de 54% nas fases I, II e III, 22,5% nas fases IV, V e IV e 9,5% nas fases VII e VIII. No estágio de pupa, 24,5% de mortalidade foi detectado (SILVA et al., 2006).

Sendo assim, é possível mencionar a importância da busca pela utilização de diferentes métodos para o controle dessa praga, e nessa perspectiva, ensaios conduzidos com extratos alcoólicos e aquosos de folhas de *Myrciaria cauliflora* (Mart.), *Psidium guajava* (L.), *Syzygium cumini* (L.), na concentração de 10% e também o desinfetante comercial Peroxitane® 1512 AL na concentração recomendada – 1:200 (CR), 0,5 CR e 2CR evidenciaram compatibilidade com o fungo *B. bassiana*, com destaque para os extratos, que potencializaram a taxa de mortalidade de *A. diaperinus* (MARTINS et al., 2016). Não foram encontrados relatos do manejo integrado de pragas (MIP) contra *A. diaperinus* associados à óleos essenciais de plantas.

4 MATERIAL E MÉTODOS

4.1 Criação dos insetos

Para o início dos estudos foi necessária a obtenção de uma criação de insetos em condições de laboratório. Para tanto, foram coletados insetos adultos de *A. diaperinus* em aviários de corte na cidade de Santa Helena, Paraná – Brasil. Foram selecionados aviários sem relatos prévios da aplicação de inseticidas. A criação foi mantida em condições de laboratório de acordo com protocolo já descrito em literatura (RICE; LAMBKIN, 2009). Para alimentação dos insetos foi empregada dieta constituída por: farelo de trigo (76%), ração para frango de corte (17%) e lêvedo de cerveja (7%), e como fonte de água a dieta foi suplementada com seções de maçã, *in natura*. Os insetos foram mantidos em câmara tipo BOD a 32° C e fotofase de 14 h.

Para os bioensaios foram utilizadas larvas com 10 a 13 dias de idade. Assim, cerca de 200 insetos adultos, não sexados, foram alojados em recipientes plásticos

de 1.000 mL contendo a dieta e armazenados em BOD por 72 h. Após esse período os indivíduos adultos foram removidos desse recipiente, e a dieta contendo os ovos resultante da oviposição de *A. diaperinus* foram mantidas. Desse modo foi possível obter larvas com uma variação de apenas 72 h de idade, para a montagem dos experimentos.

4.2 Obtenção dos óleos essenciais

O material vegetal foi coletado na região de Alto Rio Grande, Lavras, Minas Gérias. Parte desse material foi utilizado para confecção de exsicatas, posteriormente depositadas no Herbário da Escola Superior de Agricultura de Lavras. O restante do material foi submetido à secagem em estufa de ventilação forçada a 40°C, originando o material vegetal seco (Tabela 1).

Tabela 1- Material vegetal selecionado para extração dos óleos essenciais.

Nome científico	Parte coletada	Estágio fenólico	Coordenadas Geográficas	Número de exsicata
<i>Anonna sylvatica</i>	Folhas	Vegetativo	S23°00.00.000' W 049°23.080'	27647
<i>Duguetia lanceolata</i>	Cascas do caule	Reprodutivo	S 21°13.567'; W044°57.575'	27629
<i>Xylopia brasiliensis</i>	Cascas do caule	Reprodutivo	S 21°13.732'; W 044°58.064'	27636
<i>Xylopia sericea</i>	Folhas	Reprodutivo	S 23°000.000 W 049°22.910'	27643

O material vegetal seco foi submetido a extração por hidrodestilação em aparelho do tipo Clevenger no Laboratório de Química da Universidade Federal do Paraná (UTFPR), Câmpus de Santa Helena, dando origem aos óleos essenciais. O óleo foi separado da água por decantação e os traços de água removidos empregando sulfato de sódio anidro (Figura 4).



Figura 4 - Aparelho do tipo Clevenger utilizado na extração dos óleos essenciais.

FONTE: A autoria própria.

4.3 Ensaio biológicos

4.3.1 *Screening* da bioatividade de óleos essenciais em bioensaio de ingestão

Os óleos essenciais (100 mg), provenientes das cascas do caule de *D. lanceolata* e *X. brasiliensis* e das folhas de *A. sylvatica* e *X. sericea*, foram solubilizados em acetona (1.000 μL) e incorporados à dieta artificial (1 g). Após a evaporação do solvente, em capela por 1 h e 30 min, alíquotas da dieta (20 mg), contendo os tratamentos, foram transferidas para tubos do tipo eppendorf, onde foi inoculada uma larva de *A. diaperinus* selecionada aleatoriamente. A testemunha negativa constituiu de dieta acrescida de acetona. O delineamento experimental foi aleatorizado com 50 repetições por tratamento. A sobrevivência dos insetos foi avaliada após 24, 48, 72, 96 e 120 h da montagem do bioensaio pela contagem dos insetos vivos e mortos. O ensaio foi repetido duas vezes em dias diferentes (Figura 5).

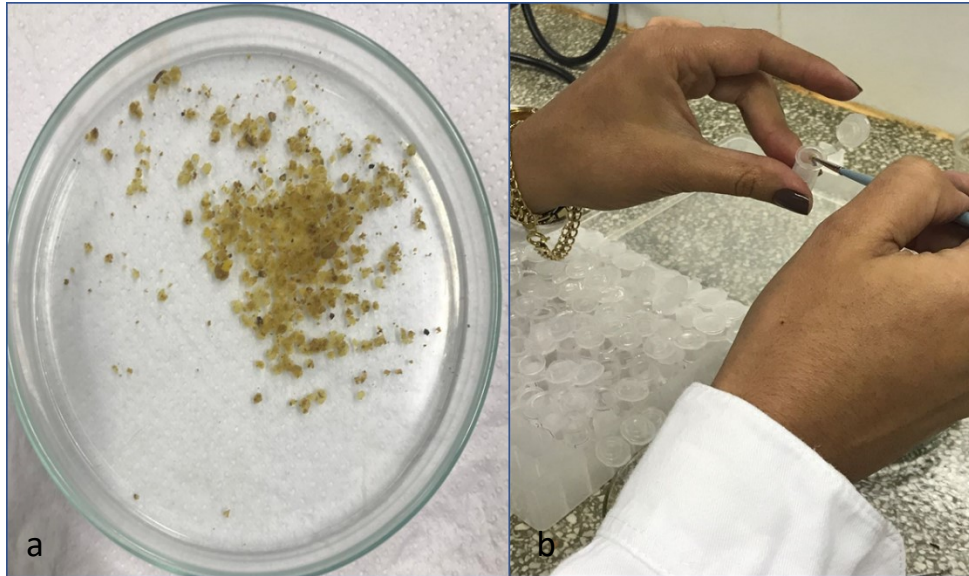


Figura 5 - Experimento de ingestão, empregando óleos essenciais de plantas da família Annonaceae, com larvas de *Alphitobius diaperinus*. (a) dieta tratada com óleo essencial e (b) larva sendo individualizada em tubo eppendorf.

FONTE: A autoria própria.

4.3.2 *Screening* da bioatividade de óleos essenciais em bioensaio de aplicação tópica

Para avaliar a toxicidade dos óleos essenciais no bioensaio de aplicação tópica, os óleos essenciais (10 mg) provenientes das cascas do caule de *D. lanceolata* e *X. brasiliensis* e das folhas de *A. sylvatica* e *X. sericea* foram solubilizados em acetona (100 μ L). Alíquotas de (1 μ L) foram aplicados no dorso de cada larva com a utilização de microsseringa de Hamilton®. Após o tratamento, as larvas foram transferidas individualmente para tubos de eppendorf contendo a dieta (20 mg). A testemunha negativa consistiu de acetona. O ensaio foi aleatorizado com 50 repetições para cada tratamento, sendo cada parcela constituída de uma larva. As análises de sobrevivência foram realizadas após 2, 24, 48, 72, 96 e 120 h da aplicação dos tratamentos (Figura 6). O ensaio foi repetido duas vezes em dias diferentes.

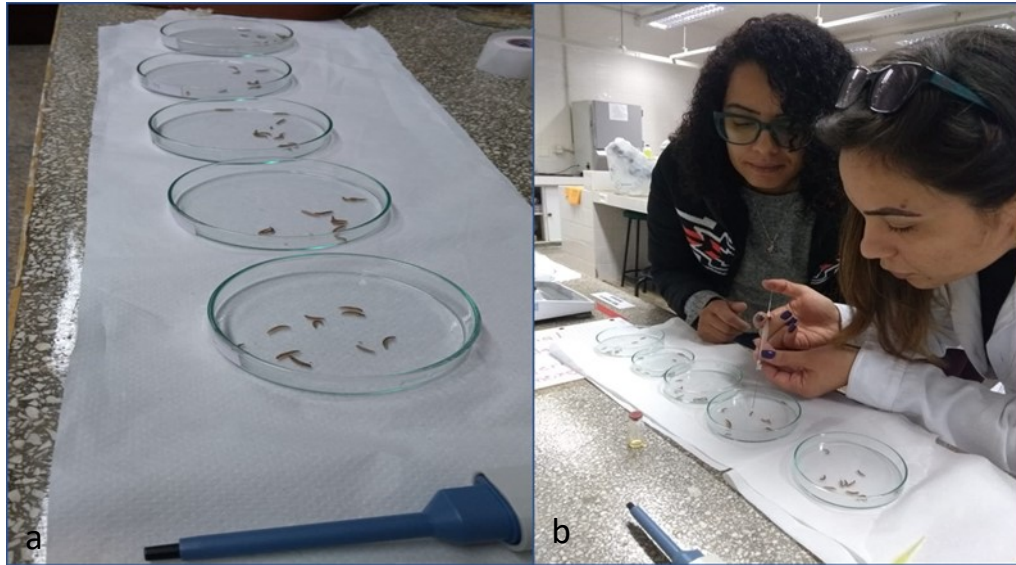


Figura 6 – Protocolo utilizado em ensaio de aplicação tópica, empregando óleos essenciais de plantas da família Annonaceae, com larvas de *Alphitobius diaperinus*. (a) larvas selecionadas aleatoriamente e dispostas em placas de Petri para receber os tratamentos. (b) aplicação tópica realizada com microsseringa de Hamilton®.

FONTE: Autoria própria.

4.3.3 Resposta concentração-tempo-mortalidade do óleo de *D. lanceolata* para *A. diaperinus* em bioensaio de ingestão

A resposta concentração-tempo-mortalidade foi realizada com o óleo essencial das cascas do caule de *D. lanceolata*, que apresentou maior toxicidade contra *A. diaperinus* em ensaio de ingestão. O óleo essencial foi solubilizado em acetona e incorporado a dieta (1 g) nas concentrações 0; 25; 35; 50; 70 e 100 $\mu\text{g}/\text{mg}$, determinadas por meio de progressão aritmética. Após a evaporação do solvente, foram transferidas alíquotas da dieta (20 mg) para tubos do tipo eppendorf, onde foi inoculada uma larva selecionada aleatoriamente e mantida individualizada. O controle negativo constituiu de dieta acrescida de acetona. Adicionalmente foi determinada a resposta concentração-tempo-mortalidade do ingrediente ativo cipermetrina (Sigma-Aldrich®). O ingrediente ativo foi adicionado a dieta nas concentrações de 0; 0,025; 0,112; 0,500; 2,23 e 10 $\mu\text{g}/\text{mg}$ de dieta.

O óleo essencial das cascas do caule de *D. lanceolata* causou deformações nas larvas de *A. diaperinus*. Assim a porcentagem de deformação também foi avaliada.

Os ensaios foram aleatorizados com 50 repetições para cada tratamento. Os dados referentes a sobrevivência dos insetos foram avaliados após 72 h, do oferecimento da dieta contendo os tratamentos aos insetos, foi empregado para a determinação da resposta concentração-mortalidade. Os dados referentes a sobrevivência dos insetos ao longo do tempo (24, 48, 72, 96 e 120 h após a montagem do bioensaio) foram empregados para determinar a resposta concentração-tempo-mortalidade.

4.3.4 Resposta dose-tempo-mortalidade dos óleos essenciais em aplicação tópica

A resposta dose-tempo-mortalidade foi realizada com os óleos essenciais provenientes de *D. lanceolata*, *X. brasiliensis*, *A. sylvatica* e *X. sericea*, visto que todos apresentaram mortalidade superior a 50% no bioensaio descrito no item 4.3.2.

As doses foram determinadas por meio de progressão aritmética e testes prévios, e o experimento conduzido de acordo com a metodologia descrita no item 4.3.2. As doses empregadas dos óleos essenciais foram de 0; 0,01; 0,056; 0,316; 1,778 e 10 $\mu\text{g}/\mu\text{L}$. Adicionalmente, foi determinada a resposta dose-tempo-mortalidade para o ingrediente ativo cipermetrina (Sigma®). As doses avaliadas foram de 0; 0,025; 0,05; 0,111; 1,58 e 10 $\mu\text{g}/\mu\text{L}$.

A sobrevivência dos insetos foi avaliada após 2, 24, 48, 72, 96 e 120 h da aplicação dos tratamentos. Os dados de sobrevivência dos insetos ao longo do tempo foram usados para determinar a resposta dose-tempo. Para a determinação da resposta concentração-mortalidade foi usado os dados de sobrevivência após 24 h da aplicação dos tratamentos. Os ensaios foram repetidos duas vezes em dias diferentes.

4.3.5 Efeito residual do óleo essencial de *D. lanceolata* em bioensaio de ingestão

O efeito residual do óleo essencial de *D. lanceolata* foi determinado. Para isso, os tratamentos foram incorporados a dieta artificial, em diferentes concentrações, conforme previamente descrito no item 4.3.3 e armazenado por 30 dias. Em intervalos de aproximadamente 7 dias, alíquotas da dieta (20 mg), contendo os tratamentos

foram oferecidas a larvas de 10 a 13 dias de idade de *A. diaperinus*. Os ensaios foram conduzidos conforme descrito em 4.3.1.

4.3.6 Análise ultraestrutural de larvas de *A. diaperinus* em Microscópio Eletrônico de Varredura

Para verificar alterações morfológicas nas larvas de *A. diaperinus* alimentadas com o óleo essencial das cascas do caule de *D. lanceolata*, os indivíduos alimentados com este tratamento foram submetidos à análise ultraestrutural em microscópio eletrônico de varredura. Para tanto, o preparo das amostras biológicas foi realizado seguindo o protocolo proposto por MIO et al. (2006). As larvas foram alimentadas com a dieta contendo os tratamentos seguindo o mesmo protocolo descrito no item 4.3.3., por um período de 72 h. Inicialmente o material foi fixado em fixador Karnosvisk, após a retirada dessa solução, foi adicionado cacodilato de sódio 0,05M pH 7,2 e deixado por um período de 10 min, posteriormente o cacodilato foi retirado do tubo e descartado. Esse procedimento foi repetido duas vezes. Após esse processo as amostras foram desidratadas em séries crescentes de acetona (25%, 50%, 75%, 90% e 100%). As amostras foram deixadas por 10 minutos em cada concentração sendo que em 100% foi repetido 2 vezes. Após a desidratação, o material foi disposto em containers, imersos em acetona 100% e submetido ao ponto crítico em aparelho Critical Point Dryer BAL-TEC/CPD030, por cerca de 40 min até alcançar 40° C. Após a secagem das amostras, o material foi disposto em *stamby* revestido com papel alumínio e levado para o banho de ouro em aparelho Spuntter Coater BAL-TEC (SCD 050). Para a leitura de imagens, as amostras preparadas foram submetidas a microscópio eletrônico de varredura EVO (Figura 7).



Figura 7 - Protocolo utilizado para a análise estrutural em microscópio eletrônico de varredura de larvas de *Alphitobius diaperinus*. (a) amostras dispostas em containers, (b) containers contendo as amostras submetidas a ponto crítico, (c) amostras dispostas em *stambys* revestidos com papel alumínio e (d) amostras submetidas a banho de ouro em aparelho Spuntter Coater BAL-TEC (SCD 050).

FONTE: Autoria própria.

4.3.7 Análise do efeito do óleo essencial de *D. lanceolata* para organismo não-alvo fungo *B. bassiana*

Foi empregado o isolado *B. bassiana* UNIOESTE 04, proveniente da Coleção de Fungos Entomopatogênicos do Laboratório de Biotecnologia da Unioeste, câmpus Cascavel, escolhido por ser um isolado previamente estudado e conhecido pelo seu potencial entomopatogênico e sua virulência sobre *A. diaperinus*.

O óleo essencial de *D. lanceolata* foi empregado em concentração equivalente a CL₉₀ (8.31 mg/μL), determinada no item 4.3.3. Para o ensaio, o óleo foi solubilizado em solução aquosa de água destilada esterilizada e Tween 80 (0,01%). A solução resultante foi filtrada em filtro de seringa 0,22 μm. Todo o processo foi realizado dentro da cabine de fluxo laminar horizontal.

A aplicação foi realizada com micropulverizador aerógrafo com bico 0,3 mm acoplado a um compressor de ar (pressão constante de 0,6 Kgf/cm²) (Figura 8). Os parâmetros biológicos foram avaliados conforme descritos na literatura, sendo:

germinação dos conídios (GER), crescimento vegetativo (CV) e produção de conídios (ESP) (ALVES 1998; SILVA; NEVES; SANTORO, 2005; OLIVEIRA, 2009).

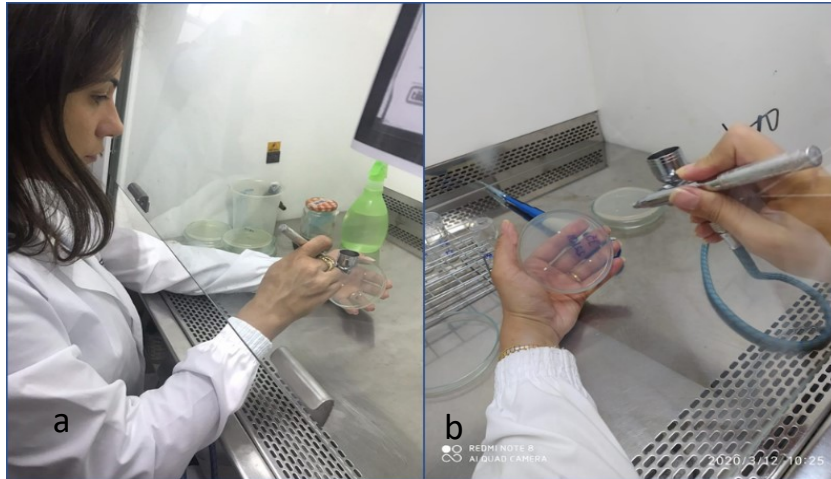


Figura 8 - Aplicação do óleo essencial para análise de compatibilidade em fungo *Beauveria bassiana*. (a) pulverização do óleo essencial de *Duguetia lanceolata* em placa com fungo inoculado e (b) pulverizador aerógrafo utilizado.

FONTE: A autoria própria.

Para a determinação da germinação de conídios, o meio BDA KASVI® (Agar-Batata-Dextrose), foi preparado conforme instruções do fabricante e vertido em placas do tipo Rodac®. Após a solidificação do meio BDA, (300 μ L) da suspensão fúngica previamente preparada (1×10^7 conídios/mL) foi depositada com auxílio de pipeta (1.000 μ L) no centro de cada placa, posteriormente essa solução foi espalhada manualmente com movimentos circulares e após a secagem (+/- 30 min). Foi aplicado (300 μ L) da solução do óleo essencial de *D. lanceolata* na concentração descrita. A testemunha negativa recebeu a pulverização de (300 μ L) de água destilada esterilizada + Tween 80® (0,01%). Para cada tratamento foram preparadas cinco placas, sendo cada placa considerada uma repetição. Após aplicação, as placas foram acondicionadas em BOD por 18 h a 26 +/- 1°C e fotofase de 12 h. Foram contabilizados 400 conídios, entre germinados e não germinados em microscópio óptico (400x de aumento). O percentual de germinação foi calculado considerando os conídios germinados em relação ao total contabilizado.

Na determinação do crescimento vegetativo, foram inoculados três pontos da solução fúngica com auxílio de alça de platina em placas de Petri estéreis contendo meio de cultura BDA. As placas foram incubadas a 26 +/- 1°C e 12 h de fotofase por

48 h. Após esse período, foi aplicado a solução contendo o óleo essencial (300 µL) em cada placa utilizando o protocolo descrito. A testemunha negativa constituiu de água destilada esterilizada + Tween 80[®] (0,01%). Depois das aplicações, as placas foram incubadas, seguindo protocolo de incubação descrito por cinco dias. O crescimento vegetativo foi determinado com base em duas medições perpendiculares das colônias, obtendo assim o diâmetro médio de cada colônia. O experimento foi constituído de cinco placas para cada tratamento, cada placa contendo três pontos, dois quais foram considerados para análise duas colônias, totalizando dez colônias por tratamento.

Após a medição do crescimento vegetativo as colônias foram recortadas e transferidas individualmente para tubos de vidro estéreis, com vistas a determinar a produção de conídios. Para cada colônia foi adicionado 10 mL de água destilada esterilizada + Tween 80[®] (0,01%) com vistas à remoção dos conídios da colônia. Posteriormente, com utilização de aparelho agitador vórtex (3.800 rpm), os tubos foram agitados por aproximadamente 2 min. Foram feitas diluições seriadas do tubo original contendo as colônias e fez-se a quantificação dos conídios em câmara de Neubauer e microscópio óptico (400x). Para cada tratamento foram avaliadas dez colônias, sendo duas de cada repetição.

A compatibilidade entre o óleo essencial e o fungo foi baseada no cálculo de toxicidade proposta por Rossi-Zalaf et al. (2008):

$$IT = \frac{47[CV] + 43 [ESP] + 10[GER]}{100}$$

Onde IT= Índice de toxicidade; CV (Crescimento vegetativo) = Porcentagem do crescimento vegetativo em relação à testemunha após sete dias; ESP (esporulação) = porcentagem de esporulação das colônias em relação à testemunha após sete dias; GER (Germinação de conídios) = porcentagem de germinação de conídios após 18 horas, ressaltando que os valores de CV, ESP e GER foram previamente corrigidos em relação às respectivas testemunhas. Os valores de IT (p=0,05) para classificação dos produtos foram de 0 a 41 = tóxico (T); 42 a 66 = moderadamente tóxico (MT); acima de 66 = compatível (C).

4.3.8 Caracterização química dos óleos essenciais por CG/MS

Para análise qualitativa foi utilizado o cromatógrafo a gás Shimadzu GCMS-QP2010 Plus com coluna não-polar Rtx-5MS (30 m x 0,25 mm x 0,25 µm). As condições utilizadas foram a razão de divisão de 1/20, 250 °C para o injetor, 250 °C para a fonte de íons e 280 °C para a interface. A temperatura inicial foi de 60° C durante os cinco primeiros min e ajustada para aumentar 3 °C por minuto até atingir a temperatura de 240 °C, completando com um isoterma de 5 min.

Utilizou-se para a análise quantitativa o cromatógrafo a gás Shimadzu 2010 acoplado ao DIC com coluna OV-5 (30 m x 0,25 mm x 0,25 µm). Hélio foi utilizado como gás de transporte a uma taxa de fluxo contínuo de 1 mL/min, a taxa de divisão de 1/20, e o volume de injeção foi de 1µl de amostra diluída em éter etílico, com o detector a 280 °C, e injetor à 250 °C, utilizou-se a mesma temperatura da análise de qualitativa.

4.3.9 Análise estatística

Os dados referentes aos experimentos repetidos no tempo foram submetidos ao teste de Bartlett ($p \geq 0,05$), com vistas a análise conjunta dos dados.

Os dados de sobrevivência dos insetos ao longo do tempo (itens 4.3.1, 4.3.2, 4.3.3, 4.3.4 e 4.3.5) foram submetidos à análise de sobrevivência empregando a distribuição de Weibull, usando o pacote survival do software R® (THERNEAU, 2013). Também foram realizadas análises de contraste visando a formação de grupos de feito semelhante, e estimado o tempo letal mediano (TL_{50}) para cada grupo formado. O TL_{50} foi estimado empregando a equação: $S(LT_{50}) = \exp(-(LT_{50}/\delta)\alpha)$. Onde: S = sobrevivência; δ = parâmetro de forma; α = parâmetro de escala.

Para determinação da resposta-concentração mortalidade (itens 4.3.3, 4.3.4 e 4.3.5), os dados foram submetidos a análise de Logit utilizando o pacote DRC (RITZ et al., 2015). Para o cálculo da concentração e dose letal mediana (CL_{50} ; DL_{50}) e concentração e dose letal a 90% da população (CL_{90} ; DL_{90}) foi empregada a fórmula: $f(x) = 1 / (1 + \exp(b(\log(x) - \log(e))))$. Onde “b” e “e” = coeficientes da equação.

Os dados referentes a porcentagem de deformação nas larvas de *A. diaperinus* alimentadas com o óleo essencial de *D. lanceolata* (4.3.3) foram submetidos a análise de variância e as médias comparadas pelo teste de Tukey.

Todas as análises foram conduzidas empregando o software R® (R CORE TEAM, 2019).

5 RESULTADOS

5.1 *Screening* da bioatividade de óleos essenciais em bioensaio de ingestão

Na análise de sobrevivência das larvas de *A. diaperinus* alimentadas com a dieta contendo os óleos essenciais de plantas da família Annonaceae houve diferença significativa entre os tratamentos ($\chi^2 = 140,64$; $df = 4$; $p < 0,01$). Foi possível a formação de três grupos congêneres. O grupo 1 com tempo letal mediano (TL₅₀), ou seja tempo necessário para causar mortalidade em 50% da população, de apenas 45 h foi formado pelo óleo essencial das cascas do caule de *D. lanceolata*; a probabilidade de sobrevivência ao término do período de avaliação do bioensaio foi de 0,02, ou seja, foi constatada mortalidade em 98% dos indivíduos da população avaliada. O segundo grupo foi formado pelos óleos essenciais provenientes de *A. sylvatica* (folhas), *X. brasiliensis* (cascas do caule) e *X. sericea* (folhas) com TL₅₀ de 80 h e probabilidade de sobrevivência de 0,42. Ao passo que o terceiro grupo, formado pela testemunha acetona, apresentou TL₅₀ maior que 120 h e probabilidade de sobrevivência de 0,97 (Figura 9).

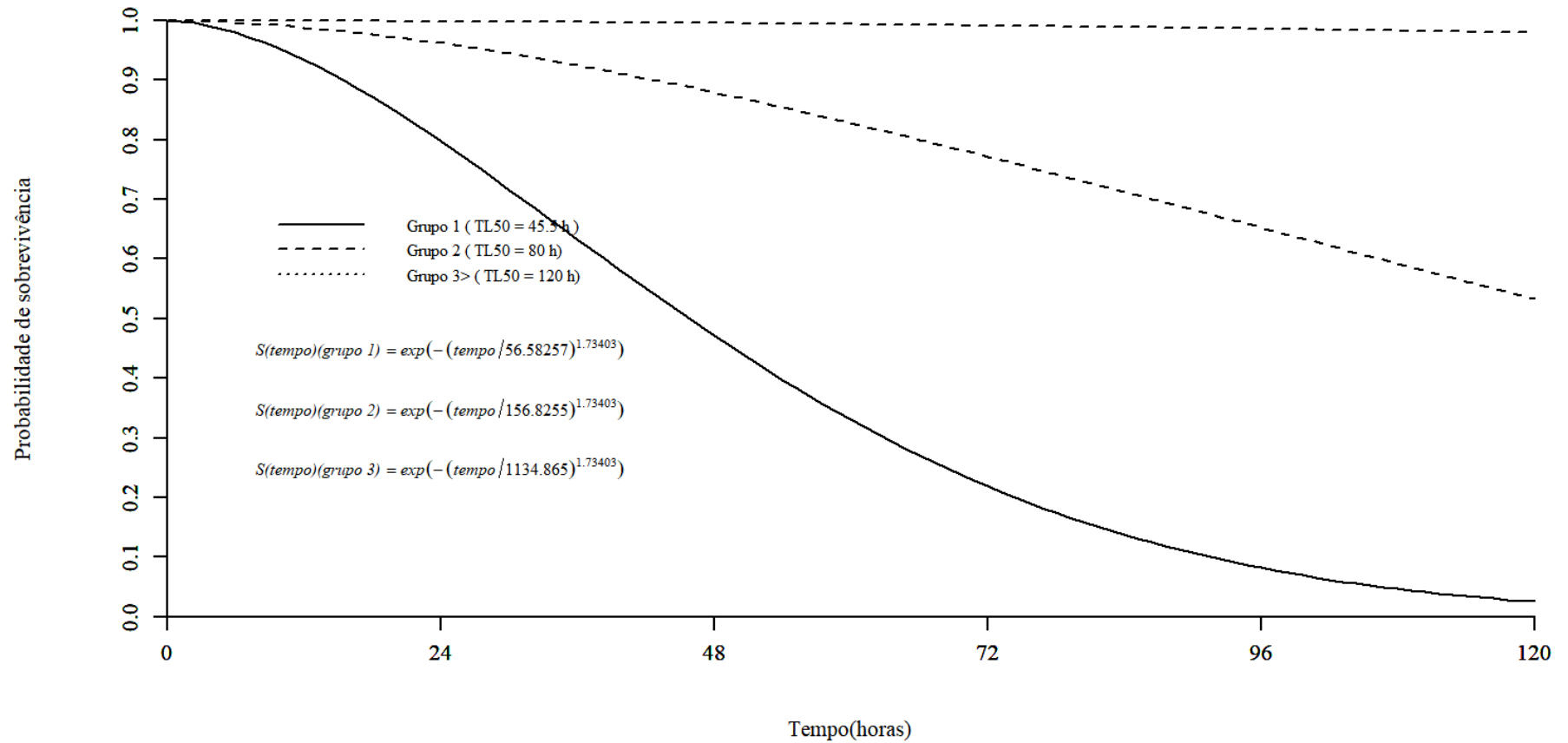


Figura 9 - Análise de sobrevivência de larvas de *Alphitobius diaperinus* após ingestão de dieta contendo óleos essenciais de anonáceas. Sendo $S(t) = \exp(-(\text{tempo}/\delta)\alpha)$, onde: δ = parâmetro de forma; α = parâmetro de escala. Grupo 1: *Duguetia lanceolata* (cascas do caule); Grupo 2: *Annona sylvatica* (folhas), *Xylopia brasiliensis* (cascas do caule) e *Xylopia sericea* (folhas); Grupo 3: acetona.

5.2 *Screening* da bioatividade de óleos essenciais em bioensaio de aplicação tópica

No bioensaio de aplicação tópica foi constatada diferença significativa entre os tratamentos ($\chi^2 = 302,49$; $df = 4$; $p < 0,01$), sendo possível a formação de 4 grupos de efeito semelhante. O primeiro grupo com TL_{50} de apenas 1,7 h foi formado pelos óleos essenciais de *X. sericea* (folhas) e *D. lanceolata* (cascas do caule), após 30 h da aplicação dos tratamentos 100% dos insetos estavam mortos. O grupo 2, formado pelo óleo essencial de *A. sylvatica* (folhas) apresentou TL_{50} de 3,6 h e após 72 h da aplicação 100% dos insetos estavam mortos. O terceiro grupo, formado pelo óleo essencial de *X. brasiliensis* (cascas do caule), causou TL_{50} de 10,5 h com probabilidade de sobrevivência de 0,02. Ao passo que o quarto grupo foi formado pela testemunha negativa, acetona, com TL_{50} maior que 120 h e probabilidade de sobrevivência de 0,88 (Figura 10).

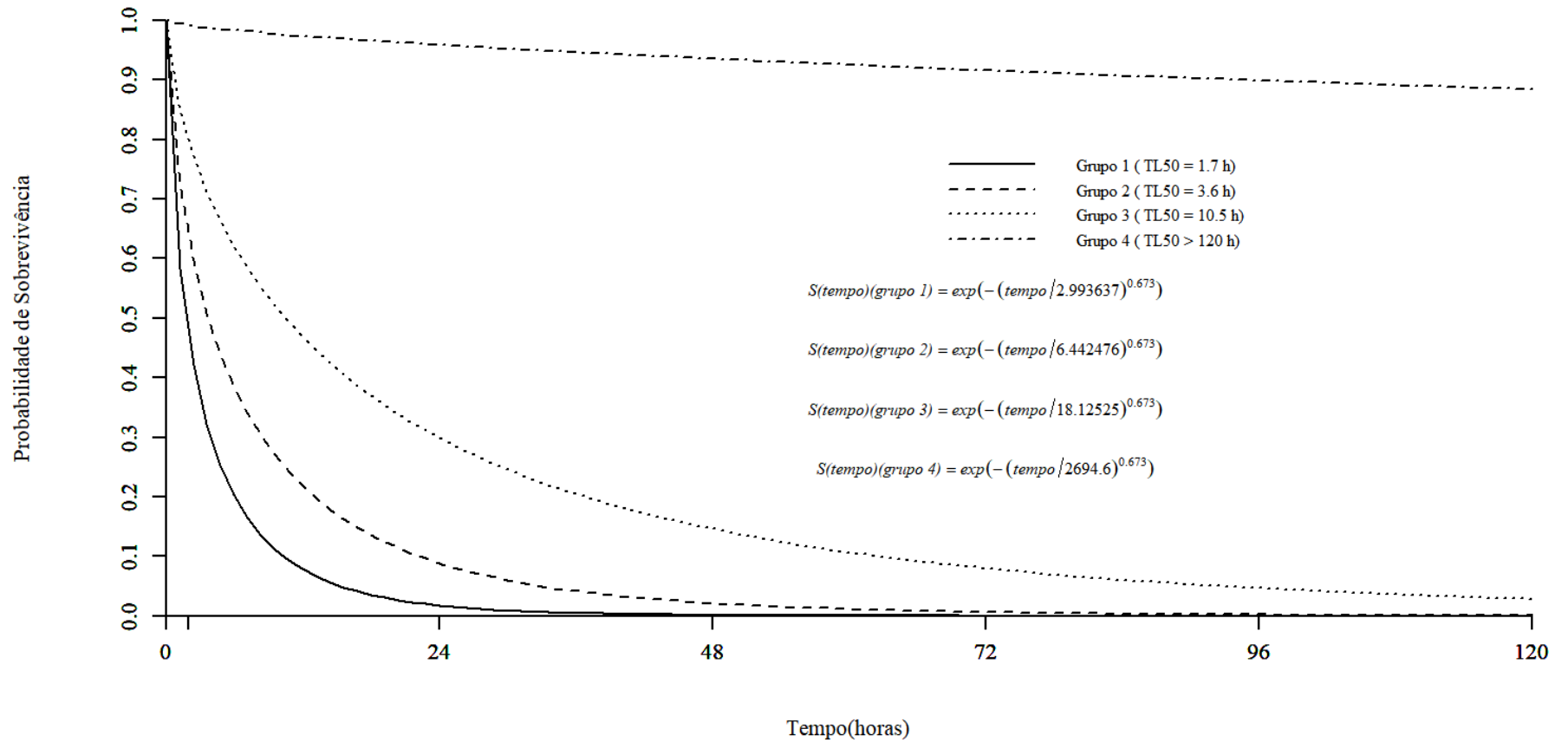


Figura 10 - Análise de sobrevivência de larvas de *Alphitobius diaperinus* após ingestão de dieta contendo óleos essenciais de anonáceas. Sendo $S(t) = \exp(-(\text{tempo}/\delta)\alpha)$, onde: δ = parâmetro de forma; α = parâmetro de escala. Grupo 1: óleos essenciais provenientes de *Xylopia sericea* (folhas) e *Duguetia lanceolata* (cascas do caule). Grupo 2: *Annona sylvatica* (folhas). Grupo 3: *Xylopia brasiliensis* (cascas do caule). Grupo 4: acetona.

5.3 Resposta concentração-tempo-mortalidade do óleo de *D. lanceolata* para *A. diaperinus* em bioensaio de ingestão

Após 72 h da alimentação das larvas de *A. diaperinus* com dieta contendo os tratamentos, a CL_{50} foi de $38,36 \pm 1,8135$ e $2,40 \pm 0,1753$ $\mu\text{g}/\text{mg}$ de dieta, para o óleo essencial das cascas do caule de *D. lanceolata* e o ingrediente ativo cipermetrina, respectivamente. Ao passo que a CL_{90} foi estimada em $98,63 \pm 9,2555$ e $10,61 \pm 1,5570$ $\mu\text{g}/\text{mg}$ de dieta, para o óleo essencial de *D. lanceolata* (cascas do caule) e cipermetrina (Tabela 2).

Tabela 2 - Resposta concentração-mortalidade de larvas de *Alphitobius diaperinus* tratadas com óleo essencial das cascas do caule de *Duguetia lanceolata* e o ingrediente ativo cipermetrina.

Tratamentos	df	χ^2	b*	e*	DL ₅₀ (µg/mg)	DL ₉₀ (µg/mg)
<i>Duguetia lanceolata</i> (cascas do caule)	499	493,47	-2,32	38,36	38,36 ± 1,8135	98,63 ± 9,2555
Cipermetrina	496	476,82	-1,47	2,40	2,40 ± 0.1753	10,61 ± 1,5570

*"b" e "e" = coeficientes da equação $f(x)=1/1+\exp(b(\log(x)-\log(e)))$.

Na análise de sobrevivência das larvas de *A. diaperinus* alimentadas com diferentes concentrações do óleo essencial de *D. lanceolata* (cascas do caule) foi observada diferença significativa entre os tratamentos ($\chi^2 = 419,29$; $df = 5$; $p < 0,01$), sendo possível a formação de 6 grupos de efeito semelhante. As maiores concentrações do óleo essencial formaram os grupos 1 (100 $\mu\text{g}/\text{mg}$ de dieta), 2 (70 $\mu\text{g}/\text{mg}$ de dieta) e 3 (50 $\mu\text{g}/\text{mg}$ de dieta), com TL_{50} de 34,5; 49 e 59 h, respectivamente; as probabilidades de sobrevivência foram de 0; 0,04 e 0,10. As duas menores concentrações formaram os grupos 4 (35 $\mu\text{g}/\text{mg}$ de dieta) e 5 (25 $\mu\text{g}/\text{mg}$ de dieta), com TL_{50} de 85 e 115 h, as probabilidades de sobrevivência foram de 0,29 e 0,48. A testemunha negativa, acetona, apresentou probabilidade de sobrevivência de 0,94 (Figura 11).

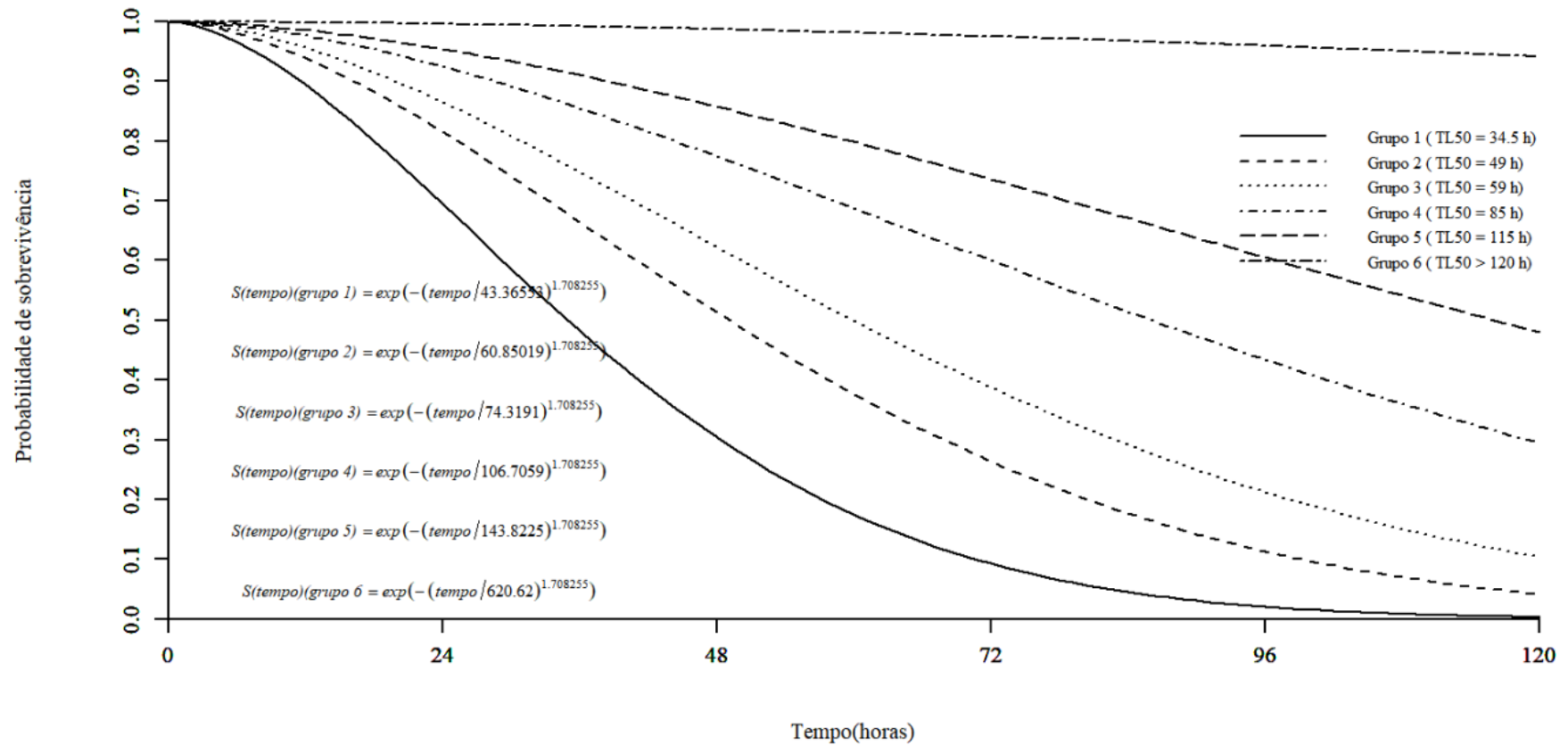


Figura 11 - Análise de sobrevivência de larvas de *Alphitobius diaperinus* após ingestão de dieta contendo diferentes concentrações do óleo essencial das cascas do caule de *Duguetia lanceolata*. Sendo $S(t) = \exp(-(\text{tempo}/\delta)\alpha)$, onde: δ = parâmetro de forma; α = parâmetro de escala.

Grupo 1: 100 µg/mg de dieta. Grupo 2: 70 µg/mg de dieta. Grupo 3: 50 µg/mg de dieta. Grupo 4: 35 µg/mg de dieta. Grupo 5: 25 µg/mg de dieta. Grupo 6: acetona.

Ao de analisar a frequência de adultos que sofreram alterações morfológicas durante o processo de ecdise a maior concentração do óleo essencial (100 µg/mg de dieta) causou frequência de deformação de 0,44, ou seja 44% das larvas tinham a exúvia aderida ao corpo do inseto.

Tabela 3. Frequência de deformação nas larvas de *Alphitobius diaperinus* alimentadas com diferentes concentrações do óleo essencial das cascas do caule de *Duguetia lanceolata*.

Tratamentos	Frequência de deformação*
0 µg/mg de dieta	0 b
25 µg/mg de dieta	0,02 b
35 µg/mg de dieta	0,10 b
50 µg/mg de dieta	0,26 a
70 µg/mg de dieta	0,34 a
100 µg/mg de dieta	0,44 a

* As medias seguidas de mesma letra não diferem entre si pelo teste de Tukey.



Figura 12 – Larvas que apresentaram deformações morfológicas após a ingestão de dieta contendo o óleo essencial de *Duguetia lanceolata*.

No que diz respeito à análise de sobrevivência com as larvas de *A. diaperinus*, as quais foi ofertada dieta contendo o ingrediente ativo cipermetrina, houve verificada diferença significativa entre os tratamentos ($\chi^2 = 484.37$; $df = 5$; $p < 0,01$), havendo a formação de 5 grupos congêneres. As maiores concentrações 10 (grupo 1) e 2,23 (grupo 2) µg/mg de dieta apresentaram TL_{50} de 61 e 42,5 h; com probabilidade de

sobrevivência de 0 e 0,02, respectivamente. As concentrações intermediárias, 0,112 e 0,500 µg/mg de dieta formaram o grupo 3, com TL₅₀ de 86 h e probabilidade de sobrevivência de 0,20. A menor concentração, 0,025 µg/mg de dieta, apresentou probabilidade de sobrevivência de 0,66. A testemunha acetona apresentou probabilidade de sobrevivência de 0,93 (Figura 13).

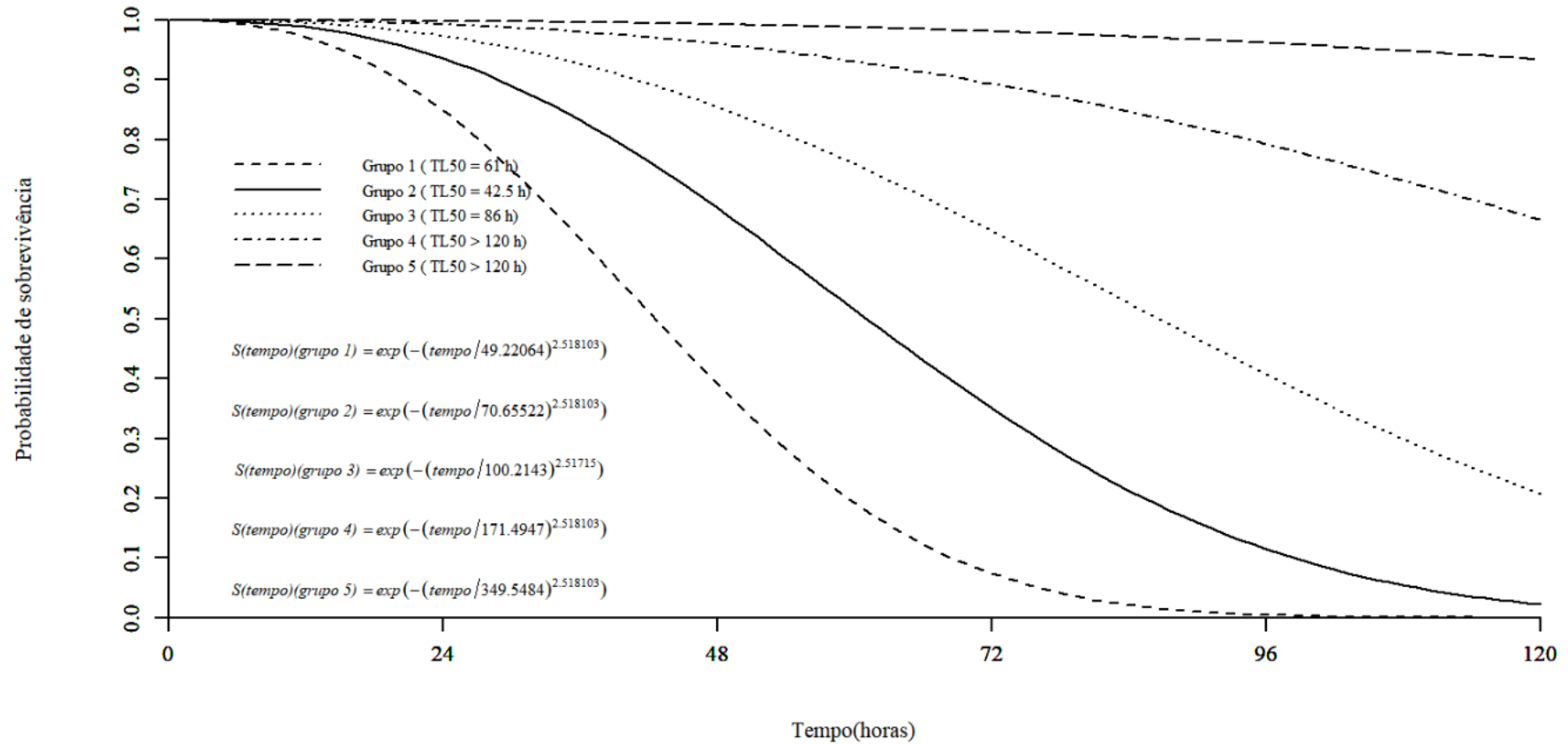


Figura 13 - Análise de sobrevivência de larvas de *Alphitobius diaperinus* após ingestão dieta contendo diferentes concentrações do ingrediente ativo cipermetrina. Sendo $S(t) = \exp(-(\text{tempo}/\delta)\alpha)$, onde: δ = parâmetro de forma; α = parâmetro de escala. Grupo 1: 10 µg/mg de dieta. Grupo 2: 2,23 µg/mg de dieta. Grupo 3: 0,112 e 0,500 µg/mg de dieta. Grupo 4: 0,025 µg/mg de dieta. Grupo 5: acetona.

5.4 Resposta dose-tempo-mortalidade dos óleos essenciais de anonáceas em aplicação tópica

Os resultados mais promissores foram constatados para o óleo essencial de *D. lanceolata* (cascas do caule), o qual causou dose letal mediana (DL₅₀) de apenas $1,41 \pm 0,1708 \mu\text{g}/\mu\text{L}$. A dose letal para 90% da população, DL₉₀, foi de $8,31 \pm 1,7985 \mu\text{g}/\mu\text{L}$. Em seguida, o óleo mais tóxico foi o oriundo das folhas de *X. sericea*, com DL₅₀ de $1,94 \pm 0,2511$ e DL₉₀ de $14,05 \pm 3,3464 \mu\text{g}/\mu\text{L}$. O óleo essencial das folhas de *A. sylvatica* foi o que apresentou os terceiros menores valores de DL₅₀ e DL₉₀, os quais foram de $2,46 \pm 0,3858$ e $31,73 \pm 10,105 \mu\text{g}/\mu\text{L}$. O óleo que apresentou os maiores valores de DL₅₀ e DL₉₀ foi o proveniente das cascas do caule de *X. brasiliensis*, com os valores de $3,62 \pm 0,6155$ e $50,93 \pm 18,365 \mu\text{g}/\mu\text{L}$. O controle positivo, cipermetrina, apresentou DL₅₀ e DL₉₀ de $0,22 \pm 0,0520$ e $5,88 \pm 2,9420$, respectivamente (Tabela 4).

Tabela 4 - Resposta dose-mortalidade de larvas de *Alphitobius diaperinus* tratadas com óleos essenciais de plantas da família Annonaceae e o ingrediente ativo cipermetrina.

Tratamentos	df	χ^2	b*	e*	DL ₅₀ (µg/µL)	DL ₉₀ (µg/µL)
<i>Annona sylvatica</i> (folhas)	499	938,23	-0,8594	2.4611	2,46 ± 0,3858	31,73 ± 10.105
<i>Duguetia lanceolata</i> (cascas do caule)	498	1304,8	-1,2408	1.41587	1,41 ± 0,1708	8.31 ± 1.79
<i>Xylopia brasiliensis</i> (cascas do caule)	498	762,96	-0,8311	3.6203	3,62 ± 0,6155	50,93 ± 18,365
<i>Xylopia sericea</i> (folhas)	492	1472,2	-1,1105	1.94400	1,94 ± 0.2511	14,05 ± 3.3464
Cipermetrina	310	239,64	-0,6697	0.221380	0,22 ± 0,0520	5,88 ± 2,9420

*"b" e "e" = coeficientes da equação $f(x)=1/1+\exp(b(\log(x)-\log(e)))$.

Na análise sobrevivência com o óleo essencial das folhas de *A. sylvatica* houve diferença significativa entre os tratamentos ($\chi^2 = 371,01$; $df = 5$; $p < 0,01$). Houve a formação de 4 grupos de efeito semelhantes. O grupo 1, formado pela maior dose do óleo essencial ($10 \mu\text{g}/\mu\text{L}$) causou TL_{50} de apenas 5 h e probabilidade de sobrevivência de 0,01. O segundo grupo, englobou a dose de $1,778 \mu\text{g}/\mu\text{L}$, com TL_{50} de 105 h e probabilidade de sobrevivência de 0,48. Os grupos 3 e 4 apresentaram TL_{50} maior que 120 h. O grupo 3 foi formado pelas concentrações de 0,01; 0,056 e $0,316 \mu\text{g}/\mu\text{L}$ e probabilidade de sobrevivência de 0,87. Enquanto o grupo 4, constituído pela testemunha acetona, apresentou probabilidade de sobrevivência de 0,96 (Figura 14).

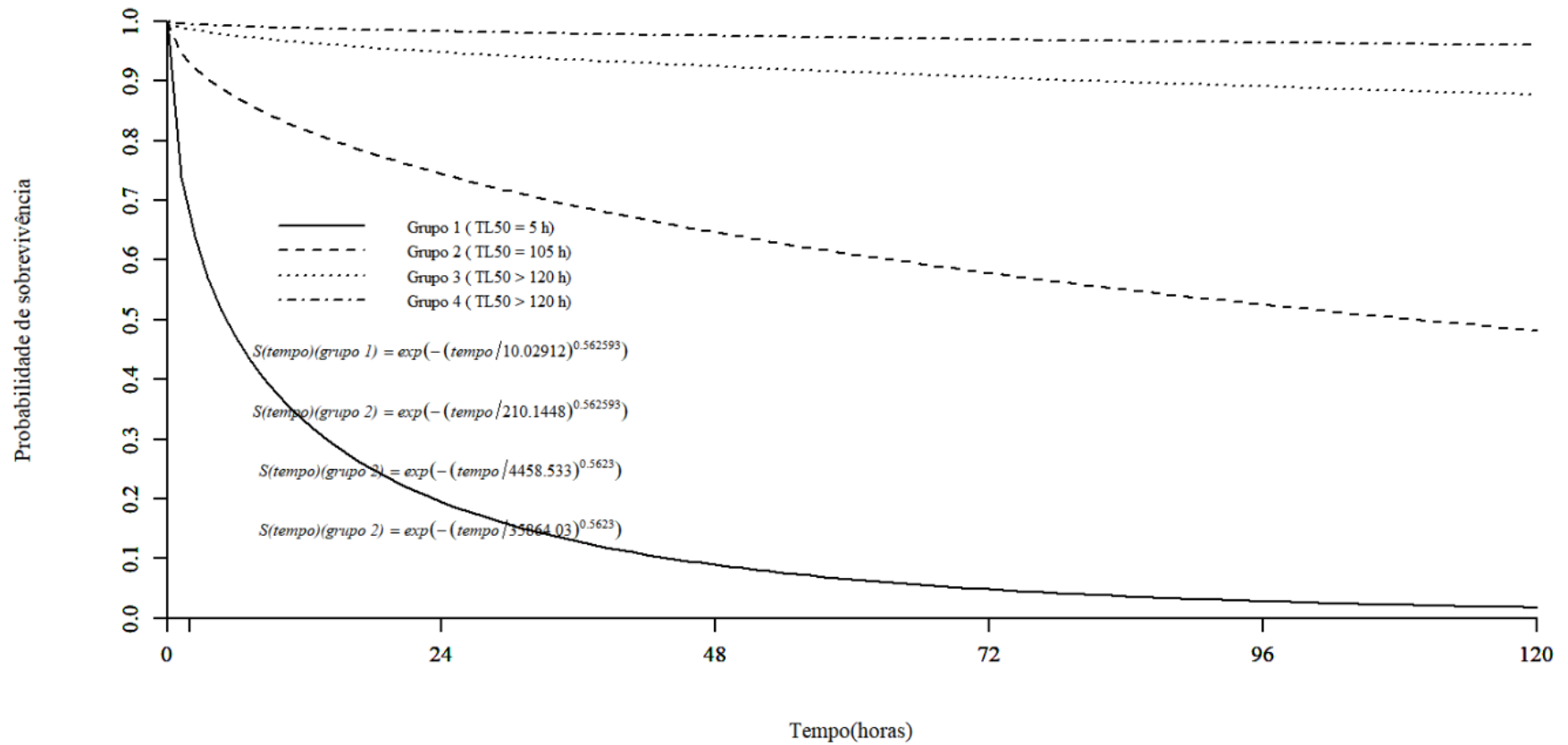


Figura 14 - Análise de sobrevivência de larvas de *Alphitobius diaperinus* após aplicação tópica de diferentes doses do óleo essencial das folhas de *Annona sylvatica*. Sendo $S(t) = \exp(-(\text{tempo}/\delta)\alpha)$, onde: δ = parâmetro de forma; α = parâmetro de escala. Grupo 1: 10 $\mu\text{g}/\mu\text{L}$. Grupo 2: 1,778 $\mu\text{g}/\mu\text{L}$. Grupo 3: 0,01; 0,056 e 0,316 $\mu\text{g}/\mu\text{L}$. Grupo 4: acetona.

No que se refere ao óleo essencial das cascas do caule de *D. lanceolala*, houve diferença significativa entre as diferentes doses testadas ($\chi^2 = 355,17$; $df = 5$; $p < 0,01$). A dose de 10 $\mu\text{g}/\mu\text{L}$ formou o grupo 1, com TL_{50} de 4 h e probabilidade de sobrevivência de 0,01. O grupo 2 foi formado pela dose de 1,778 $\mu\text{g}/\mu\text{L}$ com TL_{50} de 80 h e probabilidade de sobrevivência de 0,41. A dose de 0,316 formou o grupo 3 com $TL_{50} > 120$ h e probabilidade de sobrevivência de 0,66. Ao passo que as doses de 0; 0,01 e 0,056 formaram o grupo 4, com TL_{50} maior que 120 h e probabilidade de sobrevivência de 0,86 (Figura 15).

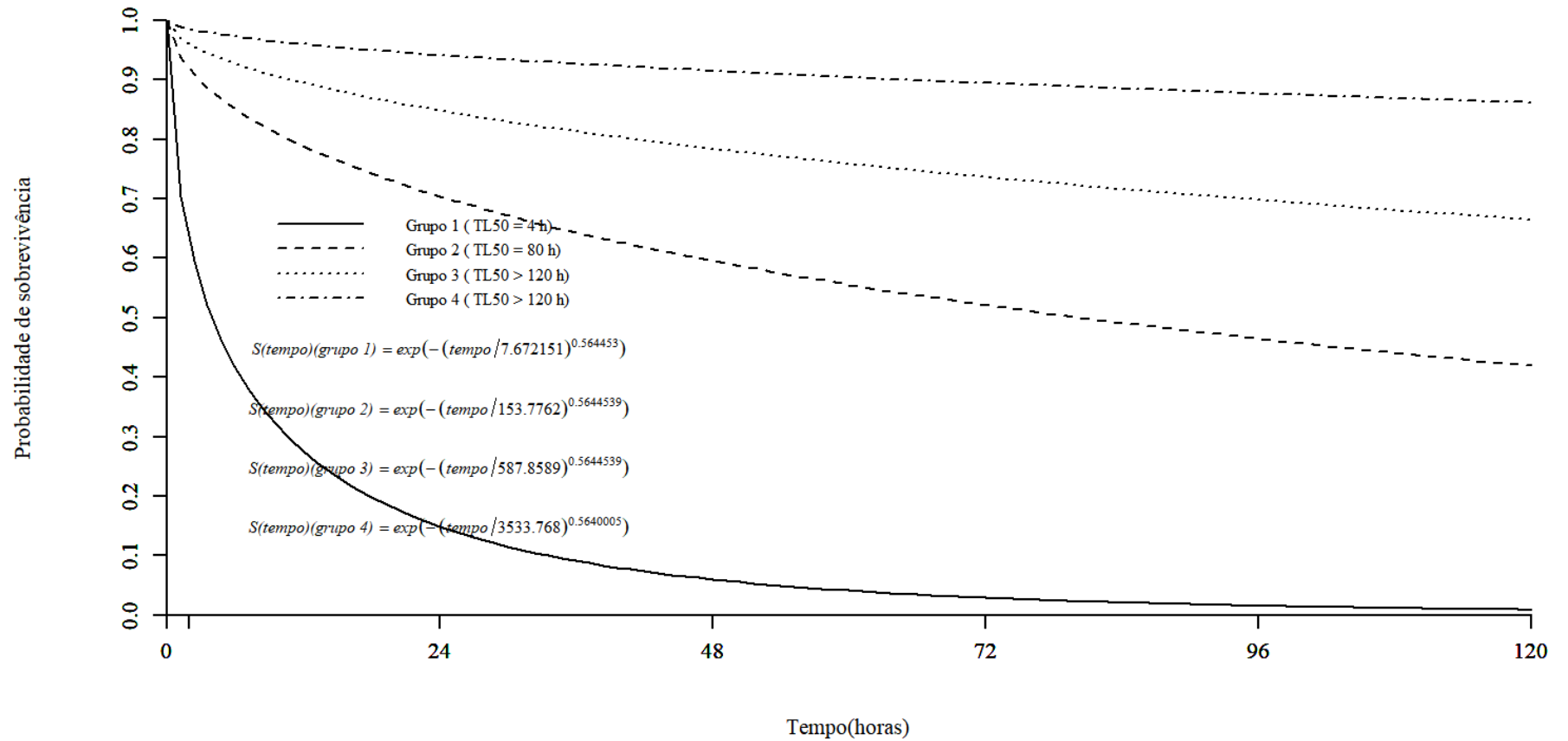


Figura 15 - Análise de sobrevivência de larvas de *Alphitobius diaperinus* após aplicação tópica de diferentes doses do óleo essencial das cascas de *Duguetia lanceolata*. Sendo $S(t) = \exp(-(\text{tempo}/\delta)\alpha)$, onde: δ = parâmetro de forma; α = parâmetro de escala. Grupo 1: 10 $\mu\text{g}/\mu\text{L}$. Grupo 2: 1,778 $\mu\text{g}/\mu\text{L}$. Grupo 3: 0,316 $\mu\text{g}/\mu\text{L}$. Grupo 4: 0; 0,01; 0,056.

O óleo essencial das cascas do caule de *X. brasiliensis*, em diferentes doses, causou diferença significativa na análise de sobrevivência das lagartas de *A. diaperinus* ($\chi^2 = 192,18$; $df = 5$; $p < 0,01$). Houve a formação de 4 grupos congêneres, o primeiro grupo, com a dose de 10 $\mu\text{g}/\mu\text{L}$ apresentou TL_{50} de 26 h e probabilidade de sobrevivência de 0,23. As doses de 1,778 e 0,316 $\mu\text{g}/\mu\text{L}$ formaram os grupos 2 e 3, respectivamente, com probabilidade de sobrevivência de 0,55 e 0,83. O quarto grupo foi formado pela testemunha acetona e as doses de 0,01 e 0,056 $\mu\text{g}/\mu\text{L}$, com probabilidade de sobrevivência de 0,91 (Figura 16).

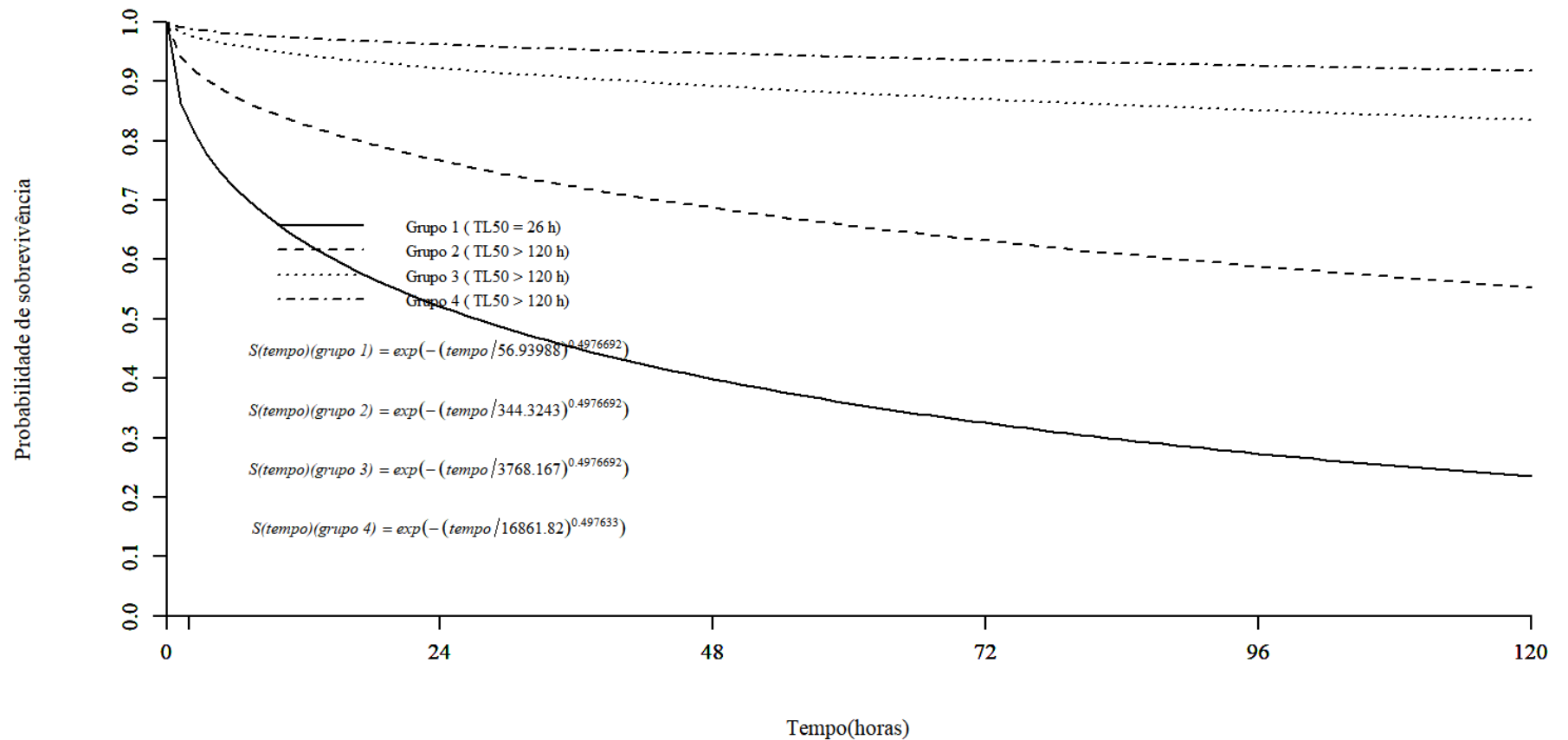


Figura 16 - Análise de sobrevivência de larvas de *Alphitobius diaperinus* após aplicação tópica de diferentes doses do óleo essencial das cascas do caule de *Xylopiá brasiliensis*. Sendo $S(t) = \exp(-(\text{tempo}/\delta)\alpha)$, onde: δ = parâmetro de forma; α = parâmetro de escala. Grupo 1: 10 $\mu\text{g}/\mu\text{L}$. Grupo 2: 1,778 $\mu\text{g}/\mu\text{L}$. Grupo 3: 0,316 $\mu\text{g}/\mu\text{L}$. Grupo 4: 0; 0,01; 0,056.

Ao passo que na análise de sobrevivência das larvas de *A. diaperinus* com diferentes doses do óleo essencial das folhas de *X. sericea*, diferença significativa entre os tratamentos foi constatada ($\chi^2 = 593,75$; $df = 5$; $p < 0,01$). Sendo possível a formação de 4 grupos de efeito semelhante. O grupo 1, com TL_{50} de 2,3 h foi formado pela dose 10 $\mu\text{g}/\mu\text{L}$; após 24 h da aplicação do tratamento 100% dos insetos estavam mortos. O segundo grupo, com TL_{50} de 70 h e probabilidade de sobrevivência de 0,31 foi formado pela dose de 1,778 $\mu\text{g}/\mu\text{L}$. As doses de 0,056 e 0,316 $\mu\text{g}/\mu\text{L}$ formaram o terceiro grupo com probabilidade de sobrevivência de 0,75. A menor dose, 0,01 e a testemunha acetona formaram o grupo 4 com probabilidade de sobrevivência de 0,79 (Figura 17).

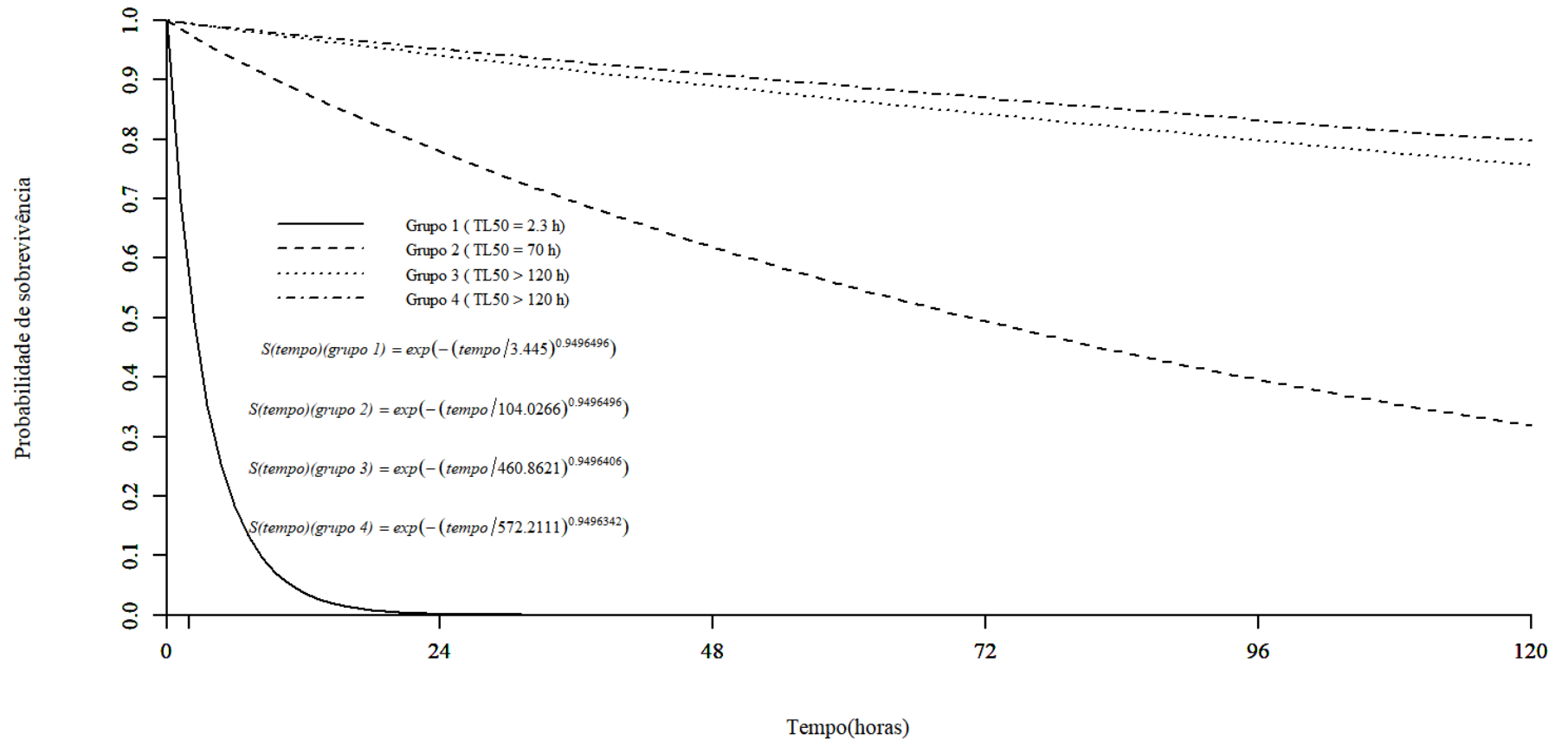


Figura 17 - Análise de sobrevivência de larvas de *Alphitobius diaperinus* após aplicação tópica de diferentes doses do óleo essencial das cascas do caule de *Xylopiá brasiliensis*. Sendo $S(t) = \exp(-(\text{tempo}/\delta)\alpha)$, onde: δ = parâmetro de forma; α = parâmetro de escala. Grupo 1: 10 $\mu\text{g}/\mu\text{L}$. Grupo 2: 1,778 $\mu\text{g}/\mu\text{L}$. Grupo 3: 0,316 e 0,056 $\mu\text{g}/\mu\text{L}$. Grupo 4: 0 e 0,01.

No que se refere ao ingrediente ativo cipermetrina, a análise de sobrevivência mostrou diferença significativa entre os tratamentos ($\chi^2 = 419,26$; $df = 5$; $p < 0,01$). Houve a formação de 5 grupos de efeitos semelhantes. O grupo formado pela maior dose do ingrediente ativo ($10 \mu\text{g}/\mu\text{L}$) causou TL_{50} de 4,5 h. O segundo grupo consistiu da dose de $1,58 \mu\text{g}/\mu\text{L}$ com TL_{50} de 20 h e probabilidade de sobrevivência de 0,01. O terceiro e quarto grupos apresentaram TL_{50} de 43 e 62 h, com probabilidade de sobrevivência de 0,13 e 0,26, respectivamente. O quinto grupo foi formada pela testemunha acetona com TL_{50} maior que 120 h e probabilidade de sobrevivência de 0,79 (Figura 18).

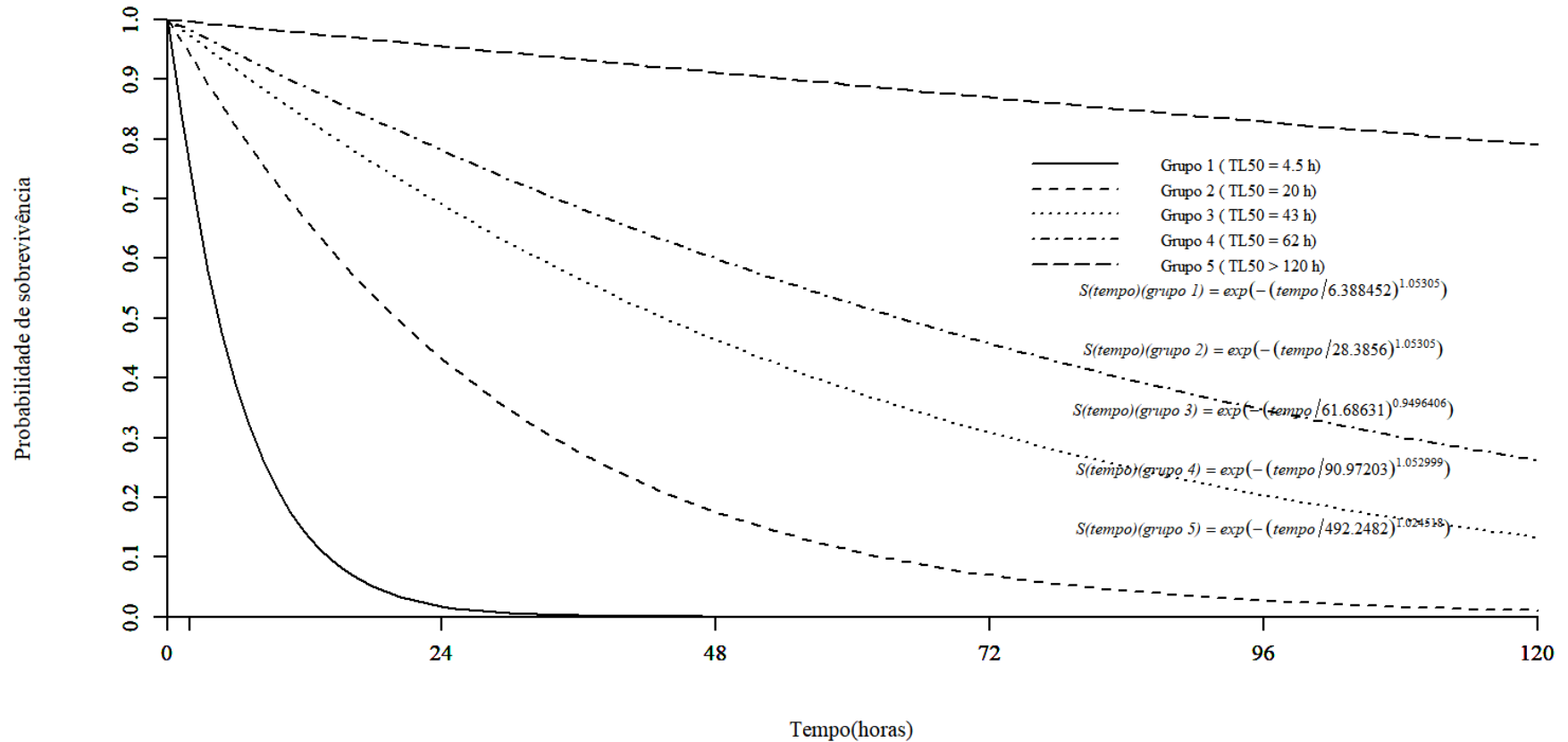


Figura 18 - Análise de sobrevivência de larvas de *Alphitobius diaperinus* após aplicação tópica de diferentes doses do ingrediente ativo cipermetrina. Sendo $S(t) = \exp(-(\text{tempo}/\delta)\alpha)$, onde: δ = parâmetro de forma; α = parâmetro de escala. Grupo 1: 10 $\mu\text{g}/\mu\text{L}$. Grupo 2: 1,58 $\mu\text{g}/\mu\text{L}$. Grupo 3: 0,111 $\mu\text{g}/\mu\text{L}$. Grupo 4: 0,025 e 0,05 $\mu\text{g}/\mu\text{L}$. Grupo 5: acetona.

5.5 Efeito residual do óleo essencial de *D. lanceolata* em bioensaio de ingestão

Após 1, 2, 3 e 4 semanas da aplicação de diferentes concentrações do óleo essencial das cascas do caule de *D. lanceolata* na dieta de *A. diaperinus*, as CL_{50} foram de $36,45 \pm 1,9774$; $44,05 \pm 3,2755$; $62,54 \pm 3,3446$ e $80,0303 \pm 3,3383$ $\mu\text{g}/\text{mg}$ de dieta. Ao passo que as CL_{90} foram de $73,91 \pm 6,9032$; $139,25 \pm 26,107$; $128,969 \pm 15,141$ e $124,901 \pm 10,426$ $\mu\text{g}/\text{mg}$ de dieta (Tabela 5).

Tabela 5. Resposta concentração-mortalidade, ao longo do tempo, de larvas de *Alphitobius diaperinus* alimentadas com dieta contendo diferentes concentrações do óleo essencial das cascas do caule de *Duguetia lanceolata*.

Tempo após a aplicação	df	χ^2	*b	*e	CL ₅₀ µg/mg	CL ₉₀ µg/mg
1 semana	247	258,5	-3,10	36,45	36,45 ± 1,9774	73,91 ± 6,9032
2 semanas	248	246,17	-1,90	44,05	44,05 ± 3,2755	139,25 ± 26,1070
3 semanas	247	230,16	-3,03	62,54	62,54 ± 3,3446	128,96 ± 15,1410
4 semanas	248	493,03	-4,93	80,03	80,03 ± 3,3383	124.90 ± 10,4260

*"b" e "e" = coeficientes da equação $f(x)=1/1+\exp(b(\log(x)-\log(e)))$.

Na análise de sobrevivência das larvas de *A. diaperinus* alimentadas com dieta contendo o óleo essencial de *D. lanceolata* (cascas do caule), após 1 semana da aplicação dos tratamentos, foi observado diferença estatística significativa entre os tratamentos ($\chi^2 = 279,09$; $df = 5$; $p < 0,01$). As maiores concentrações (100; 70 e 50 $\mu\text{g}/\text{mg}$ de dieta) causaram TL_{50} de 31,5, 44,1 e 58 h. As menores concentrações (35 e 25 $\mu\text{g}/\text{mg}$ de dieta) apresentaram TL_{50} de 105 h. A testemunha acetona apresentou probabilidade de sobrevivência de 1, ou seja 100% dos insetos sobreviveram (Figura 19).

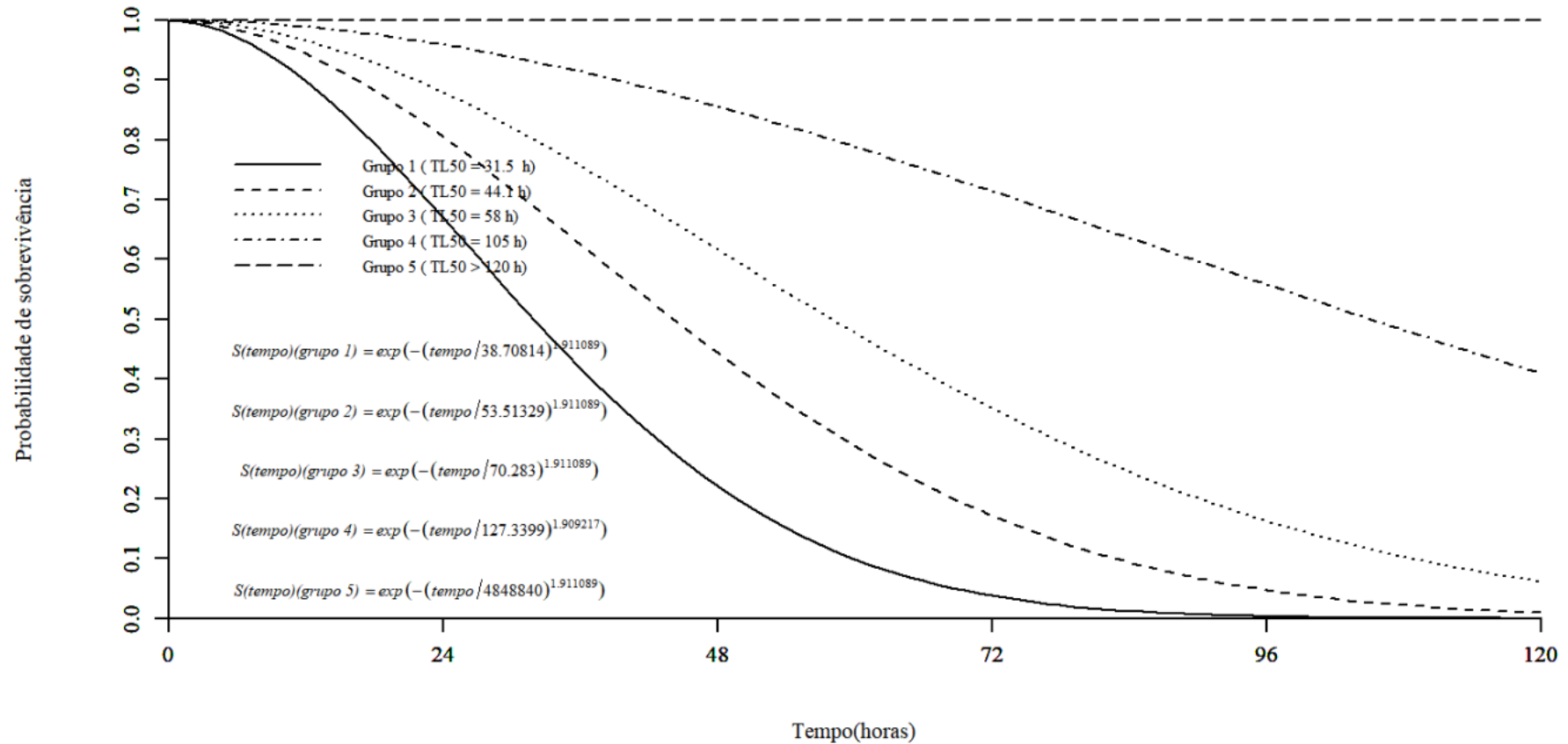


Figura 19 - Análise de sobrevivência de larvas de *Alphitobius diaperinus* após ingestão de dieta tratada com o óleo essencial de *Duguetia lanceolata*, passada 1 semana da aplicação dos tratamentos. Sendo $S(t) = \exp(-(\text{tempo}/\delta)\alpha)$, onde: δ = parâmetro de forma; α = parâmetro de escala. Grupo 1: 100 $\mu\text{g}/\text{mg}$ de dieta. Grupo 2: 70 $\mu\text{g}/\text{mg}$ de dieta. Grupo 3: 50 $\mu\text{g}/\text{mg}$ de dieta. Grupo 4: 25 e 35 $\mu\text{g}/\text{mg}$ de dieta. Grupo 5: acetona.

Após 2 semanas da aplicação de diferentes concentrações do óleo essencial de *D. lanceolata* na dieta houve diferença significativa entre os tratamentos ($\chi^2 = 80,05$; $df = 5$; $p < 0,01$). O grupo 1, com TL_{50} de 59 h e probabilidade de sobrevivência de 0,08 foi formado pelas concentrações de 70 e 100 $\mu\text{g}/\text{mg}$ de dieta. As concentrações de 50, 35 e 25 $\mu\text{g}/\text{mg}$ formaram o segundo grupo com probabilidade de sobrevivência de 0,68. A testemunha, acetona, formou o terceiro grupo com probabilidade de sobrevivência de 0,88 (Figura 20).

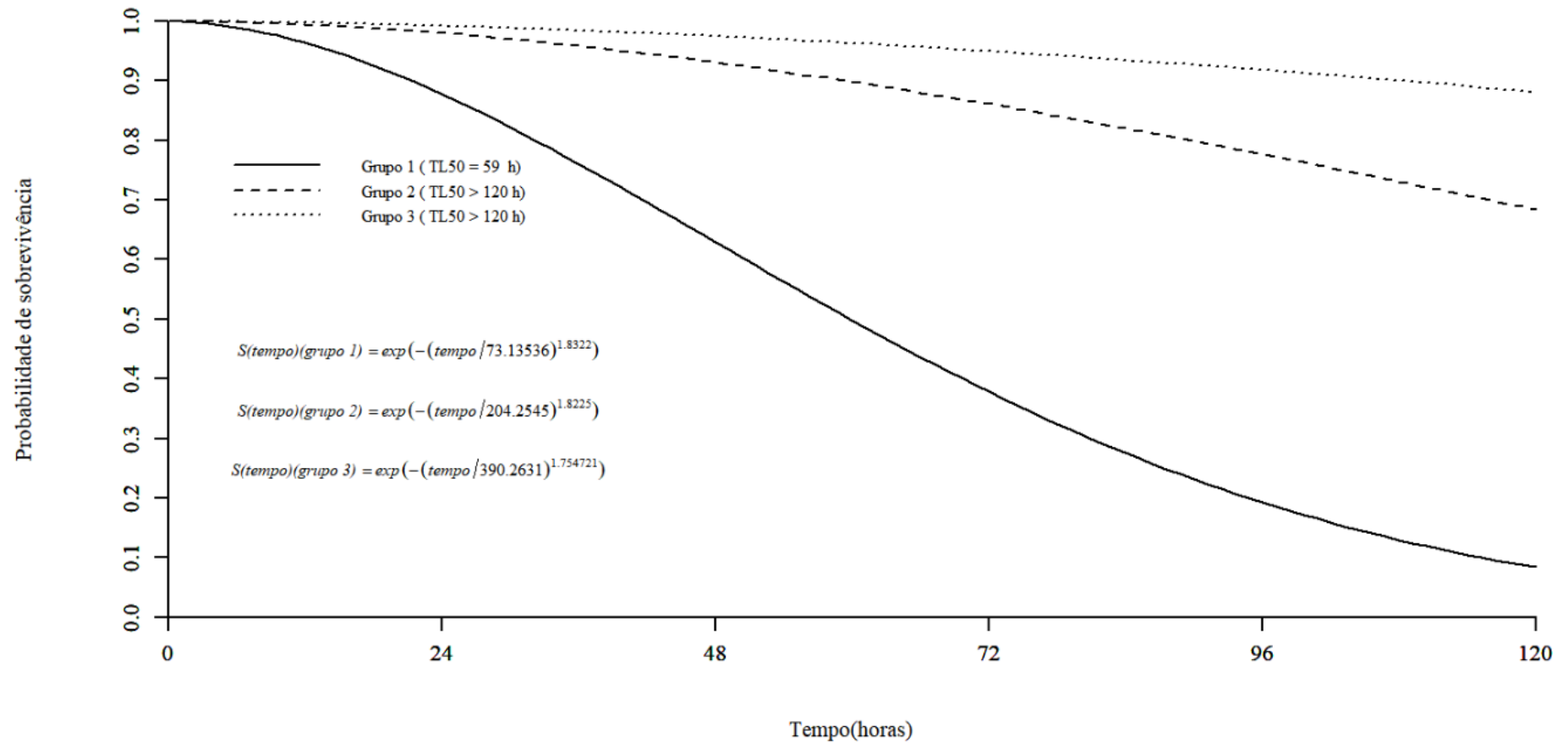


Figura 20 - Análise de sobrevivência de larvas de *Alphitobius diaperinus* após ingestão de dieta tratada com o óleo essencial de *Duguetia lanceolata*, após 2 semanas da aplicação dos tratamentos. Sendo $S(t) = \exp(-(\text{tempo}/\delta)^\alpha)$, onde: δ = parâmetro de forma; α = parâmetro de escala. Grupo 1: 100 e 70 $\mu\text{g}/\text{mg}$ de dieta. Grupo 2: 50, 35 e 25 $\mu\text{g}/\text{mg}$ de dieta. Grupo 3: acetona.

Após 3 semanas da aplicação dos tratamentos na dieta, foi observada diferença estatística entre os tratamentos ($\chi^2 = 154,32$; $df = 5$; $p < 0,01$). Foram formados 4 grupos de efeito semelhante. A maior concentração (100 $\mu\text{g}/\text{mg}$ de dieta) causou TL_{50} de 42 h (grupo 1). As concentrações de 70 e 50 $\mu\text{g}/\text{mg}$ de dieta causaram TL_{50} de 85 h e probabilidade de sobrevivência de 0,31, formando o grupo 2. O grupo 3 foi formado pela concentração de 35 $\mu\text{g}/\text{mg}$ de dieta com probabilidade de sobrevivência de 0,54. A menor concentração 25 $\mu\text{g}/\text{mg}$ de dieta e a testemunha acetona formaram o quarto grupo com probabilidade de sobrevivência de 0,89 (Figura 21).

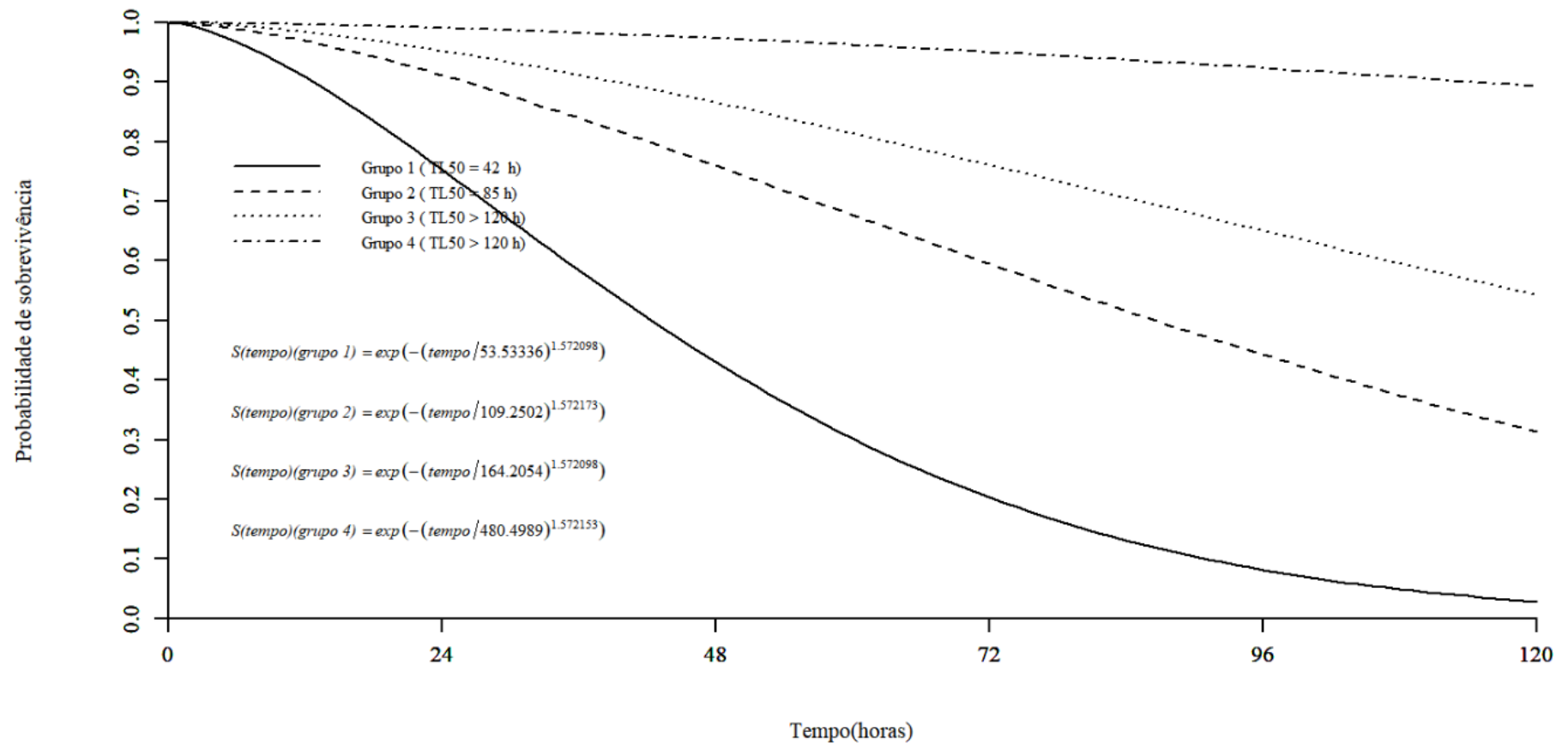


Figura 21 - Análise de sobrevivência de larvas de *Alphitobius diaperinus* após ingestão de dieta tratada com o óleo essencial de *Duguetia lanceolata*, após 3 semanas da aplicação dos tratamentos. Sendo $S(t) = \exp(-(\text{tempo}/\delta)\alpha)$, onde: δ = parâmetro de forma; α = parâmetro de escala. Grupo 1: 100 $\mu\text{g}/\text{mg}$ de dieta. Grupo 2: 70 e 50 $\mu\text{g}/\text{mg}$ de dieta. Grupo 3: 35 $\mu\text{g}/\text{mg}$. Grupo 4: 25 $\mu\text{g}/\text{mg}$ e acetona.

Mesmo após 4 semanas da aplicação dos tratamentos na dieta foi verificada diferença significativa entre os tratamentos ($\chi^2 = 168.9$; $df = 5$; $p < 0,01$). Foi possível a formação de 4 grupos congêneres. O grupo 1, com TL_{50} de 73.5 h foi formado pela concentração de 100 $\mu\text{g}/\text{mg}$ de dieta. O grupo 2 constituiu da concentração de 70 $\mu\text{g}/\text{mg}$ de dieta com TL_{50} de 88,5 h e probabilidade de sobrevivência de 0,14. As concentrações de 50 e 35 $\mu\text{g}/\text{mg}$ de dieta formaram o grupo 3 com probabilidade de sobrevivência de 0,56. A menor concentração (25 $\mu\text{g}/\text{mg}$ de dieta) e a testemunha acetona formaram o grupo 4 com probabilidade de sobrevivência de 0,85 (Figura 22).

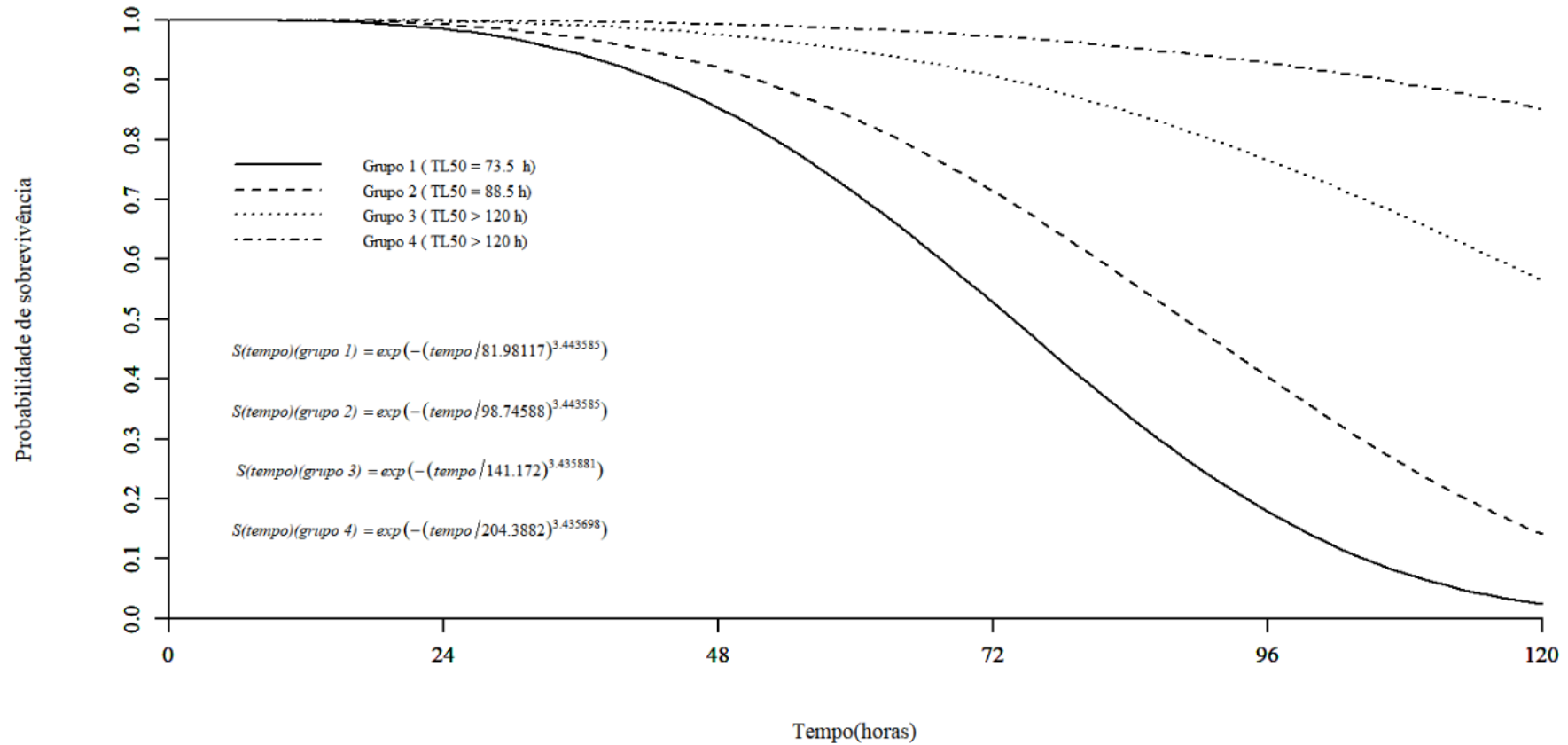


Figura 22 - Análise de sobrevivência de larvas de *Alphitobius diaperinus* após ingestão de dieta tratada com o óleo essencial de *Duguetia lanceolata*, após 4 semanas da aplicação dos tratamentos. Sendo $S(t) = \exp(-(\text{tempo}/\delta)\alpha)$, onde: δ = parâmetro de forma; α = parâmetro de escala. Grupo 1: 100 $\mu\text{g}/\text{mg}$ de dieta. Grupo 2: 70 $\mu\text{g}/\text{mg}$ de dieta. Grupo 3: 50 e 35 $\mu\text{g}/\text{mg}$. Grupo 4: 25 $\mu\text{g}/\text{mg}$ e acetona.

5.6 Análise ultraestrutural de larvas de *A. diaperinus* em Microscópio Eletrônico de Varredura

Quando submetidos a análise ultraestrutural de microscópio de varredura as larvas da *A. diaperinus* que ingeriram a dieta tratada com o óleo essencial de *D. lanceolata*, apresentaram alterações morfológicas que impediram o processo de ecdise, sendo constatado que a exúvia ficou aderida ao corpo do inseto (Figura 23).

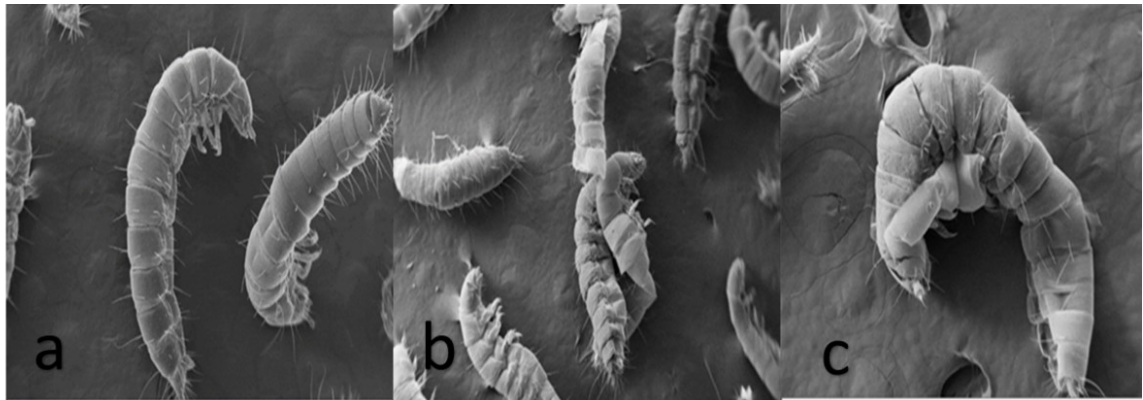


Figura 23 - Larvas de *Alphitobius diaperinus* submetidas à análise em microscópio eletrônico de varredura. (a) larvas alimentadas com dieta contendo o controle acetona. (b) e (c) larvas alimentadas com a dieta contendo o óleo essencial de *Duguetia lanceolata*.

Fonte: Autoria própria

5.7 Análise do efeito do óleo essencial de *D. lanceolata* para organismo não-alvo fungo *B. bassiana*

A partir das análises foi possível determinar o índice biológico de toxicidade *in vitro* do óleo essencial de *D. lanceolata* (cascas do caule) e demonstrar sua interferência no desenvolvimento do fungo entomopatogênico *B. bassiana*.

Para o crescimento vegetativo, foi observado que o tratamento com aplicação do óleo essencial de *D. lanceolata*, teve seu crescimento micelial inibido em 23% com relação ao tratamento testemunha. Ao analisar a produção de conídios por colônia, foi observado uma inibição na produção de 44%, o que representa uma queda significativa, diminuindo drasticamente a probabilidade das colônias de *B. bassiana* em produzir conídios, que atuam como unidade de dispersão/infecção do fungo. Entretanto, a viabilidade dos conídios produzidos manteve-se em um percentual de

65±3 %, 33% menor que a viabilidade das testemunhas, que foi de 97±1 % (Tabela 6).

Tabela 6 - Parâmetros biológicos e Índice Biológico de Toxicidade do organismo não-alvo, *Beauveria bassiana*, em interação com o óleo essencial de *Duguetia lanceolata* (cascas do caule)

Tratamento	Germinação de Conídios (%)	Crescimento Vegetativo (cm ²)	Conídios/colônia (×10 ⁷ /mL)	Índice Biológico de Toxicidade*
Testemunha	97 ± 1	3,14 ± 0,00	74,83 ± 4	-
<i>D. lanceolata</i>	65 ± 3	2,10 ± 0,13	41,91 ± 3	MT**

*O índice de toxicidade foi calculado usando o percentual de cada variável, em relação a testemunha.

**Valores de IT variando de 0 a 41 = tóxico (T); 42 a 66 = moderadamente tóxico (MT); acima de 66 = compatível (C).

5.8 Caracterização química dos óleos essenciais por CG/MS

As análises de CG/MS permitiram a identificação de alguns compostos presentes dos óleos essenciais de *A. sylvatica* (folhas), *X. sericea* (folhas) e *D. lanceolata* (cascas do caule), os quais estão descritos na Tabela 7.

Tabela 7. Análises químicas por CG/MS dos óleos essenciais de *Xylopiya sericea* (folhas), *Annona sylvatica* (folhas) e *Duguetia lanceolata* (cascas do caule).

COMPOSTOS	AI CALCULADO	AI Adams	X. sericea	A. sylvatica	D. lanceolata
α-Pinene	933	932		4,40	
Copaene	1378	1374	2,82	5,23	
β-Elemene	1393	1389	1,18		
NI	1394			2,63	
β-Caryophyllene	1425	1417	6,18	18,84	1,92
α-Humulene	1456	1452	1,96		
NI	1457			7,10	
Allo-aromadendrene	1464	1458	2,71	2,99	
γ-Muurolene	1480	1478	1,69	2,31	
NI	1484			3,22	
NI	1499			2,45	

Elixene	1500	1490	3,86		
α -Muurolene	1503	1500		1,06	
δ -Guaiene	1508	1509		1,19	
NI	1511		2,05		
NI	1516				23,88
NI	1521				1,32
γ -Cadinene	1517	1513	1,07		
δ -Cadinene	1527	1522	1,72		
NI	1527			4,91	
Germacrene B	1560	1559	1,89	1,81	
Nerolidol	1567	1561		3,71	
NI	1571				11,66
Sphatulenol	1582	1578	22,30		3,73
NI	1583			2,63	
NI	1588			6,66	
NI	1590		2,39		
NI	1599		2,26		
Guaiol	1601	1600		2,17	
NI	1603		1,40		
NI	1613			1,26	
NI	1614		1,61		
NI	1626				1,02
NI	1644		3,01		
NI	1652			1,28	
NI	1658				5,65
	1659		1,34		
	1669		1,50		
Bulnesol	1672	1670		2,32	
	1675		1,30		
α -Asarone	1693	1676			21,08
	1719				3,02
	1736				12,51

6 DISCUSSÃO

Os óleos essenciais provenientes das plantas da Família Annonaceae: *A. sylvatica* (folhas), *D. lanceolata* (cascas do caule), *X. brasiliensis* (cascas do caule) e *X. sericea* (folhas), avaliados nesse trabalho, foram tóxicos para *A. diaperinus*, tanto em bioensaio tópico, quanto em bioensaio de ingestão.

Este é o primeiro relato da atividade inseticida dos óleos essenciais de *D. lanceolata* (cascas do caule), *X. brasiliensis* (cascas do caule), *X. sericea* (folhas) e *A.*

sylvatica (folhas) para *A. diaperinus*. No entanto, já havia sido constatado o efeito subletal do extrato etanólico das folhas (ANSANTE et al., 2015), e efeito tóxico das frações solúveis em diclorometano provenientes do extrato metanólico das cascas do caule de *D. lanceolata* para *Spodoptera frugiperda* (JE Smith) (Lepidoptera: Noctuidae) (ALVES et al., 2016a, 2020). O extrato etanólico, fração hexânica e óleo essencial das folhas de *D. lanceolata* também apresentaram toxicidade para *Sitophilus zeamais* Mots (Coleoptera:Curculionidae) e *Zabrotes subfasciatus* (Bohemann) (Coleopetara: Chysomelidae: Bruchinae) (RIBEIRO et al., 2016, 2020; DOMINGUES et al., 2020).

Também é possível mencionar o efeito letal e subletal do extrato etanólico das sementes e folhas de *A. sylvatica* contra *Anastrepha fraterculus* (Wiedemann) (Diptera: Tephritidae) (STUPP et al., 2020), *Zaprionus indianus* (Gupta, 1970) (Diptera: Drosophilidae) (GEISLER et al., 2019), *Drosophila suzukii* (Matsumura) (Diptera:Drosophilidae) (BERNARDI et al., 2017), *Z. subfasciatus* (GONÇALVES et al., 2015), *Myzus persicae* (Sulzer) (Hemiptera: Aphididae), *Trichoplusia ni* Hübner (Lepidoptera: Noctuidae) (RIBEIRO et al., 2014), *S. frugiperda* (ANSANTE et al., 2015) e *S. zeamais* (RIBEIRO et al., 2016).

A atividade tóxica da fração solúvel em diclorometano das folhas de *X. brasiliensis* foi avaliada para *S. frugiperda* e *Tetranychus tumidus* Banks (Acari: Tetranychidae), mas sua toxicidade não foi constatada (ALVES et al., 2015, 2016b). No que se refere a *X. sericea*, é possível mencionar que os óleos essenciais das folhas e frutos foram ativos contra *Tetranychus urticae* Koch (Acari: Tetranychidae), contudo, ainda não há relato do seu efeito inseticida (PONTES et al., 2007).

Embora todos os óleos essenciais avaliados no presente trabalho tenham sido ativos para *A. diaperinus*, o resultado de maior relevância foi encontrado no bioensaio de ingestão com *D. lanceolata* (cascas do caule), que teve sua concentração letal mediana (CL₅₀), ou seja, a concentração necessária para causar a morte de 50% da população, de apenas $38,36 \pm 1,8113$ µg/mg de dieta. Entretanto, quando comparado ao ingrediente ativo esse resultado é cerca de 16 vezes maior que a concentração constata em cipermetrina (Sigma-Aldrich®) ($2,40 \pm 0.1753$ µg/mg de dieta). Mesmo assim, esse resultado apresenta-se muito promissor pois o óleo essencial é constituído por uma mistura complexa de substâncias. Sendo possível que se forem avaliadas as substâncias isoladas esse valor de CL₅₀ seja reduzido e esteja mais próximo ao valor detectado com o ingrediente ativo cipermetrina.

Outro resultado muito promissor encontrado para o óleo essencial de *D. lanceolata* (cascas do caule) foi o efeito inseticida constatado mesmo após 30 dias da incorporação do óleo essencial à dieta. Nesse sentido, pode-se dizer que durante todo o período em que as aves ficam alojadas nos galpões esse composto pode estar ativo para o controle da praga.

No que se refere à compatibilidade do óleo essencial das cascas do caule de *D. lanceolata* com o fungo entomopatogênico *B. bassiana*, o índice biológico de toxicidade foi moderadamente tóxico (MT). Esse achado é muito relevante, pois os ensaios foram conduzidos em condições de laboratório com exposição extrema do fungo ao óleo essencial, sendo possível que esse tratamento venha a ser compatível em condições de campo. Não existem relatos da compatibilidade de óleos essenciais com o fungo *B. bassiana*, entretanto, é importante ressaltar a necessidade de inseticidas compatíveis com os organismos não alvo para que se realize o manejo integrado de pragas (MIP). Nesse contexto, Oliveira et al. (2016) descreveu a compatibilidade da cipermetrina 5% e 6% com o fungo entomopatógeno *B. bassiana* em experimentos *in vitro*. Também existem relatos da compatibilidade dos extratos alcoólicos e aquosos de jabuticaba (*Myrciaria cauliflora* (Mart.)), goiaba (*Psidium guajava* (L.)), além de três diluições do desinfetante Peroxitano 1512L sobre a viabilidade de conídios de *B. bassiana*, contudo apenas os extratos tiveram pouco impacto no que se refere ao potencial de inóculo (MARTINS et al., 2016).

Nas análises em microscopia eletrônica de varredura foi detectado que o óleo essencial de *D. lanceolata* (cascas do caule), quando adicionado à dieta de *A. diaperinus*, afeta o processo de ecdise do inseto, podendo ser esse o fator que ocasiona a morte do inseto. Esse resultado é de extrema importância, pois é indicativo de que esse óleo atue possivelmente como um regulador de crescimento. Os reguladores de crescimento de insetos são conhecidos pela sigla IGR (Insect Growth Regulador), eles surgiram nos anos 70 e são conhecidos pelo seu modo de ação específico e menor toxicidade para mamíferos (CHAMBERLAIN, 1975; GRAFT, 1993).

Um bom exemplo de inseticida que comprovadamente atua como inibidor do crescimento de insetos, é o diflubenzuron (MONTAÑO-REYES et al., 2019). Foi relatada a ação inibidora da ecdise do diflubenzuron, com alterações morfológicas bastantes semelhantes às constatadas no presente trabalho, para *Aedes aegypti* L. (Diptera: Culicidae) (SILVA, 2004; MONTAÑO-REYES et al., 2019), bem como para

outros insetos associados a subfamília Anophelinae (FREITAS et al., 2014). A toxicidade do diflubenzuron também já foi comprovada contra a mosca do chifre *Haematobia irritans* (L.) (Diptera:Muscidae) (DA SILVA; MENDES, 2002). O diflubenzuron atua na biossíntese de quitina, comprometendo o processo de ecdise que é restrito aos artrópodes, além disso, os estudos sugerem uma rápida degradação no ambiente quando expostos à radiação solar (SILVA, 2004; FREITAS et al., 2014).

Na análise do perfil metabólico dos óleos essenciais das anonáceas *D. lanceolata*, *X. sericea* e *A. sylvatica*, foi constatado que os constituintes encontrados estão de acordo com aqueles previamente descritos na literatura para essas espécies (PONTES et al., 2007; SOUSA et al., 2012; FORMAGIO et al., 2013; ALVES et al., 2015). Foi detectada algumas variações na composição qualitativa e quantitativa previamente descrita na literatura, mas isso pode ser explicado pelo fato de que as plantas podem apresentar variações na composição de metabólitos secundários devido inúmeros fatores, tais como época de coleta, ataque de insetos, local de cultivo, entre outras (GUO et al., 2017; FERNANDES et al., 2019, HAGHIGHI et al., 2019; VAFADAR-YENGEJE et al., 2019; LEBANOV et al., 2019).

7 CONCLUSÕES

No presente trabalho foi constatada a toxicidade dos óleos essenciais de *A. sylvatica* (folhas), *D. lanceolata* (cascas do caule), *X. brasiliensis* (cascas do caule) e *X. sericea* (folhas) para *A. diaperinus*. Os resultados mais promissores foram detectados para *D. lanceolata* (cascas do caule). Foi verificado que o óleo essencial de *D. lanceolata* (cascas do caule) mostrou-se moderadamente tóxico para o organismo não alvo *B. bassiana*.

8 CONSIDERAÇÕES FINAIS

As plantas ao longo do seu processo evolutivo desenvolveram diversos mecanismos de adaptação e defesa. Entre esses mecanismos é possível mencionar a produção de compostos do metabolismo secundário. No que se refere as espécies de plantas da Família anonácea, pode-se mencionar seu reconhecido potencial para o controle de artrópodes. Nesse trabalho, foi constatado que os óleos essenciais provenientes das cascas do caule de *D. lanceolata* e *X. brasiliensis* e das folhas de *A.*

sylvatica e *X. sericea* causaram mortalidade para o cascudinho-dos-aviários, *A. diaperinus*. Além disso, esse estudo aponta o óleo essencial de *D. lanceolata* como sendo muito promissor ao controle do inseto no contexto do manejo integrado de pragas, visto que apresentou moderada toxicidade ao fungo entomopatogênico *B. bassiana*, agente causador de doenças no cascudinho-dos-aviários. Ainda é possível mencionar que o óleo essencial de *D. lanceolata*, possivelmente atuou como regulador de crescimento, visto que as larvas que ingeriram a dieta contendo o óleo não conseguiram realizar o processo de ecdise. Sendo constatado em análises de microscopia eletrônica de varredura a presença da exúvia aderida ao corpo do inseto. A análise cromatográfica dos óleos essenciais dessas espécies permitiu conhecer quais as substâncias presentes, abrindo perspectivas para a realização de novos trabalhos com as substâncias puras.

REFERÊNCIAS

ABPA. **Relatório Anual 2020**. Associação Brasileira de Proteína Animal, 2020. Disponível em: <https://abpa-br.org/exportacoes-de-carne-de-frango-mantem-alta-de-51-em-2020/>.

AGABOU, A.; ALLOUI, N. Importance of *Alphitobius diaperinus* (Panzer) as a reservoir for pathogenic bacteria in algerian broiler houses. **Veterinary World**, v. 3, n. 2, p. 71–73, 2010.

ALVES, LFA; OLIVEIRA, DGP; LAMBKIN, T; ALVES, V; PINTO, FGS; SCUR, M. *Beauveria Bassiana* Applied to Broiler Chicken Houses as Biocontrol of *Alphitobius Diaperinus* Panzer (Coleoptera: Tenebrionidae), an Avian Pathogens Vector. **Brazilian Journal of Poultry Science**, v. 17, n. 4, p. 459–466, 2015.

ALVES, S.B.; MOINO JR.; ALMEIDA, J. E. M. Produtos fitossanitários e entomopatogênico. In: S. B. Alves (Org.); . Fealq ed., 1998. São Paulo: Controle Microbiano de insetos.

ALVES, D. S.; COSTA, V. A.; MACHADO, A. R. T.; OLIVEIRA, D. F.; CARVALHO, G. A. *Duguetia lanceolata* A. St.-Hil. Stem bark produces phenylpropanoids lethal to *Spodoptera frugiperda* (JE Smith) (Lepidoptera: Noctuidae). **Crop Protection**, v. 127, n. July 2019, p. 104965, 2020. Elsevier Ltd. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.cropro.2019.104965>>.

ALVES, D. S.; MACHADO, A. R. T.; CAMPOS, V. A. C.; OLIVEIRA, D. F.; CARVALHO, G. A. Selection of annonaceae species for the control of *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae) and metabolic profiling of *Duguetia lanceolata* using nuclear magnetic resonance spectroscopy. **Journal of Economic Entomology**, v. 109, n. 2, p. 649–659, 2016.

ALVES, D. S.; MOREJÓN, R. C.; MACHADO, A. R. T.; et al. Acaricidal activity of Annonaceae fractions against *Tetranychus tumidus* and *Tetranychus urticae* (Acari: Tetranychidae) and the metabolite profile of *Duguetia lanceolata* (Annonaceae) using GC-MS. **Semina: Ciências Agrárias**, v. 36, n. 6, p. 4119–4132, 2015.

ALVES, L. F. A.; GASSEN, M. H.; PINTO, F. G. S.; NEVES, P. M. O. J.; ALVES, S. B. Ocorrência natural de *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuilleman (Moniliales: Moniliaceae) sobre o cascudinho, *Alphitobius diaperinus* (Panzer) (Coleoptera: Tenebrionidae), em aviário comercial de Cascavel, PR. **Neotropical Entomology**, v. 34, n. 3, p. 507–510, 2005. Disponível em: <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1519-566X2005000300021&lng=pt&nrm=iso&tlng=pt>.

ANSANTE, T. F.; DO PRADO RIBEIRO, L.; BICALHO, K. U.; et al. Secondary metabolites from Neotropical Annonaceae: Screening, bioguided fractionation, and toxicity to *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith) (Lepidoptera: Noctuidae). **Industrial Crops and Products**, v. 74, p. 969–976, 2015.

ARAUJO, R. C. P.; NEVES, F. A. R.; FORMAGIO, A. S. N.; et al. Evaluation of the anti-mycobacterium tuberculosis activity and in vivo acute toxicity of *Annona sylvatica*. **BMC Complementary and Alternative Medicine**, v. 14, p. 1–10, 2014.

ARENA, J. S.; MERLO, C.; DEFAGÓ, M. T.; ZYGADLO, J. A. Insecticidal and antibacterial effects of some essential oils against the poultry pest *Alphitobius diaperinus* and its associated microorganisms. **Journal of Pest Science**, v. 93, n. 1, p. 403–414, 2020. Springer Berlin Heidelberg. Disponível em: <<https://doi.org/10.1007/s10340-019-01141-5>>.

BERNARDI, D.; RIBEIRO, L.; ANDREAZZA, F.; et al. Potential use of *Annona* by products to control *Drosophila suzukii* and toxicity to its parasitoid *Trichopria anastrephae*. **Industrial Crops and Products**, v. 110, p. 30–35, 2017.

BERTOL, M. A. F.; WEISS, R. R.; KOZICKI, L. E.; DE ABREU, A. C. M. R. Archives of Veterinary Science. **Archives of Veterinary Science**, v. 20, n. 2, p. 156–163, 2015.

DA CÂMARA, C. A. G.; DE ALENCAR, J. W.; SILVEIRA, E. R. Volatile Constituents of *Xylopiá sericea* St. Hill. **Journal of Essential Oil Research**, v. 8, n. 1, p. 75–78, 1996. Taylor & Francis. Disponível em: <<https://doi.org/10.1080/10412905.1996.9700559>>.

CARVALHO, G.; ALVES, D. S.; OLIVEIRA, D. F. Bioensaios para a seleção de metabólitos secundários de plantas ativos contra insetos. In: et al. Lopes Everaldo Antonio (Org.); **A química na produção vegetal**. p.399, 2017.

CASTRILLO, L. A.; BROOKS, W. M. Differentiation of *Beauveria bassiana* isolates from the Darkling Beetle, *Alphitobius diaperinus*, Using Isozyme and RAPD Analyses. **Journal of Invertebrate Pathology**, v. 72, n. 3, p. 190–196, 1998.

CASTRILLO, L. A.; WIEGMANN, B. M.; BROOKS, W. M. Genetic Variation in *Beauveria bassiana* Populations Associated with the Darkling Beetle, *Alphitobius diaperinus*. , v. 275, n. 1999, p. 269–275, 2011.

CHAMBERLAIN, W. F. Review article ! Insect growth regulating agents for control of., v. 12, n. 4, p. 395–400, 1975.

CHERNAKI-LEFFER, A. M.; BIESDORF, S. M.; ALMEIDA, L. M.; LEFFER, E. V. B.; VIGNE, F. Isolamento de enterobactérias em *Alphitobius diaperinus* e na cama de aviários no oeste do estado do Paraná, Brasil. **Revista Brasileira de Ciência Avícola**, v. 4, n. 3, p. 243–247, 2002.

CHERNAKI, A. M.; DE ALMEIDA, L. M. Exigências térmicas, período de desenvolvimento e sobrevivência de imaturos de *Alphitobius diaperinus* (Panzer) (Coleoptera: Tenebrionidae). **Neotropical Entomology**, v. 30, n. 3, p. 365–368, 2001.

SIMÕES, C. M.O.; SCHENKEL, E. P.; MELLO, J. C. P.; MENTZ, L. A.; P. R. P. **Farmacognosia do produto natural ao medicamento**. 7o ed. Porto Alegre: Artmed, 2017.

CORDOVES, C. O.; DEPOINT, B. Programa de manejo integrado para o controle do cascudinho (*Alphitobios diaperinus*) em aviários. , p. 1–16, 1997.

CORIA-TÉLLEZ, A. V.; MONTALVO-GÓNZALEZ, E.; YAHIA, E. M.; OBLEDO-VÁZQUEZ, E. N. *Annona muricata*: A comprehensive review on its traditional medicinal uses, phytochemicals, pharmacological activities, mechanisms of action and toxicity. **Arabian Journal of Chemistry**, v. 11, n. 5, p. 662–691, 2018.

COSTA, M.S.; PEREIRA, M. JO.B.; OLIVEIRA, S.S.; SOUZA, P. T.; DALL'OGGIO, E. L. T. C. A. ARTIGO Anonáceas provocam mortalidade em larvas de *Aedes aegypti* (Linnaeus , 1762) (Diptera : Culicidae). **Revista Brasileira de Biociências**, v. v. 11, n 2, p. 184–190, 2013.

COSTA, D.G.; NASCIMENTO, F. A. M.; BORGATI, T. F.; et al. A Comprehensive View on (-)-7-Oxo-ent-kaur-16-en-19-oic Acid, the Major Constituent of *Xylopi sericea* Leaves Extract: Complete NMR Assignments, X-Ray Crystallographic Structure, in Vitro Antimalarial Activity and Cytotoxicity. **Chemistry and Biodiversity**, v. 16, n. 7, 2019.

CRAWFORD, P. J.; BROOKS, W. M.; ARENDS, J. J. Efficacy of Field-Isolated Strains of *Beauveria bassiana* (Moniliales: Moniliaceae) as Microbial Control Agents of the Lesser Mealworm (Coleoptera: Tenebrionidae). **Journal of Economic Entomology**, v. 91, n. 6, p. 1295–1301, 1998.

CRIPPEN, T. L.; SHEFFIELD, C. L.; BEIER, R. C.; NISBET, D. J. The horizontal transfer of *Salmonella* between the lesser mealworm (*Alphitobius diaperinus*) and poultry manure. **Zoonoses and Public Health**, v. 65, n. 1, p. e23–e33, 2018a.

CRIPPEN, T. L.; SHEFFIELD, C. L.; BEIER, R. C.; NISBET, D. J. The horizontal transfer of *Salmonella* between the lesser mealworm (*Alphitobius diaperinus*) and poultry manure. **Zoonoses and Public Health**, v. 65, n. 1, p. e23–e33, 2018b.

CRIPPEN, T. L.; SHEFFIELD, C. L.; ESQUIVEL, S. V.; DROLESKEY, R. E.; ESQUIVEL, J. F. The Acquisition and Internalization of *Salmonella* by the Lesser Mealworm, *Alphitobius diaperinus* (Coleoptera: Tenebrionidae). **Vector-Borne and Zoonotic Diseases**, v. 9, n. 1, p. 65–72, 2009. Disponível em: <<http://www.liebertonline.com/doi/abs/10.1089/vbz.2008.0103>>.

DANIEL, J. F. DE S.; SCALCO, A. V.; DE SOUZA, R. M.; et al. Susceptibility of *Alphitobius diaperinus* to *Beauveria bassiana* extracts. **Natural Product Research**, v. 33, n. 20, p. 3033–3036, 2019. Taylor & Francis.

DE MESQUITA, M. L.; DESRIVOT, J.; BORRIES, C.; et al. Antileishmanial and trypanocidal activity of Brazilian Cerrado plants. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 100, n. 7, p. 783–787, 2005.

DESPINS, J. L.; AXTELL, R. C. Feeding behavior and growth of broiler chicks fed larvae of the darkling beetle, *Alphitobius diaperinus*. **Poultry science**, v. 74, n. 2, p. 331–336, 1995. Poultry Science Association Inc. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.3382/ps.0740331>>.

DOMINGUES, V. DE C.; RIBEIRO, L. DO P.; GONÇALVES, G. L. P.; et al. Grain-protectant compounds from *Duguetia lanceolata* (Annonaceae) derivatives: Bioassay-guided searching and toxicity against the maize weevil. **Journal of Stored Products Research**, v. 85, 2020.

FERNANDES, S. S.; TONATO, D.; MAZUTTI, M. A.; et al. Yield and quality of chia oil extracted via different methods. **Journal of Food Engineering**, v. 262, n. June, p. 200–208, 2019. Elsevier. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2019.06.019>>.

FORMAGIO, A. S. N.; VIEIRA, M. D. C.; DOS SANTOS, L. A. C.; et al. Composition and evaluation of the anti-inflammatory and anticancer activities of the essential oil from *Annona sylvatica* A. St.-Hil. **Journal of Medicinal Food**, v. 16, n. 1, p. 20–25, 2013.

FOURNIER, G.; HADJIAKHOONDI, A.; LEBOEUF, M.; et al. Volatile constituents of *Xylopiya frutescens*, *Xylopiya pynaertii* and *Xylopiya sericea*: Chemical and biological study. **Phytotherapy Research**, v. 8, n. 3, p. 166–169, 1994. Wiley-Blackwell.

FOURNIER, G.; LEBOEUF, M.; CAVÉ, A. Annonaceae essential oils: A review. **Journal of Essential Oil Research**, v. 11, n. 2, p. 131–142, 1999.

FREITAS, A. F.; PEREIRA, F. F.; FORMAGIO, A. S. N.; et al. Effects of Methanolic Extracts of Annona Species on the Development and Reproduction of *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith) (Lepidoptera: Noctuidae). **Neotropical Entomology**, v. 43, n. 5, p. 446–452, 2014.

GEDEN, C. J.; ARENDS, J. J.; RUTZ, D. A.; STEINKRAUS, D. C. Laboratory evaluation of *Beauveria bassiana* (Moniliales: Moniliaceae) against the lesser mealworm, *Alphitobius diaperinus* (Coleoptera: Tenebrionidae), in poultry litter, soil, and a pupal trap. **Biological Control**, v. 13, n. 2, p. 71–77, 1998.

GEDEN, C. J.; STEINKRAUS, D. C. Evaluation of Three Formulations of *Beauveria bassiana* for Control of Lesser Mealworm and Hide Beetle in Georgia Poultry Houses. **Journal of Economic Entomology**, v. 96, n. 5, p. 1602–1607, 2003.

GEISLER, F. C. S.; MARTINS, L. N.; TREPTOW, R. C. B.; et al. Laboratory and field assessments of lethal and sublethal toxicities of acetogenin-based bioinsecticides against *Zaprionus indianus* (Diptera: Drosophilidae). **Chilean Journal of Agricultural Research**, v. 79, n. 4, p. 501–511, 2019.

GONÇALVES, G. L. P.; RIBEIRO, L. DO P.; GIMENES, L.; et al. Lethal and Sublethal Toxicities of *Annona sylvatica* (Magnoliales: Annonaceae) Extracts to *Zabrotes subfasciatus* (Coleoptera: Chrysomelidae: Bruchinae) . **Florida Entomologist**, v. 98, n. 3, p. 921–928, 2015.

GONTIJO, D. C.; BRANDÃO, G. C.; NASCIMENTO, M. F. A. DO; OLIVEIRA, A. B. DE. Antiplasmodial activity and cytotoxicity, isolation of active alkaloids, and dereplication of *Xylopia sericea* leaves ethanol extract by UPLC-DAD-ESI-MS/MS. **Journal of Pharmacy and Pharmacology**, v. 71, n. 2, p. 260–269, 2019.

GONTIJO, D. C.; NASCIMENTO, M. F. A. DO; BRANDÃO, G. C.; OLIVEIRA, A. B. DE. Phytochemistry and antiplasmodial activity of *Xylopia sericea* leaves. **Natural Product Research**, v. 0, n. 0, p. 1–5, 2019. Taylor & Francis. Disponível em: <<https://doi.org/10.1080/14786419.2019.1577838>>.

GONZÁLEZ-ESQUINCA, A. R.; DE-LA-CRUZ-CHACÓN, I.; CASTRO-MORENO, M.; OROZCO-CASTILLO, J. A.; RILEY- SALDAÑA, C. A. Alkaloids and acetogenins in Annonaceae development: biological considerations. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 36, n. spe1, p. 01-16, 2014. Sociedade Brasileira de Fruticultura. Disponível em: <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0100-29452014000500001&lng=en&tlng=en>. Acesso em: 26/8/2018.

GRAFT, J. . The role insect growth regulators in arthropod control. **Parasitology Today**, v. 9, p. 471–174, 1993.

GUARIDO, M. M. Atividade inseticida de extratos de *Annona foetida* Mart. (Annonaceae) sobre imaturos de *Aedes aegypti* (Linnaeus, 1762) (Diptera: Culicidae). , p. 1–72, 2009.

GUO, X.; CUI, M.; DENG, M.; et al. Molecular differentiation of five *Cinnamomum camphora* chemotypes using desorption atmospheric pressure chemical ionization mass spectrometry of raw leaves. **Scientific Reports**, v. 7, n. March, p. 1–8, 2017. Nature Publishing Group. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1038/srep46579>>.

HAJDU, Z.; HOHMANN, J. An ethnopharmacological survey of the traditional medicine utilized in the community of Porvenir, Bajo Paraguá Indian Reservation, Bolivia. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 139, n. 3, p. 838–857, 2012. Elsevier Ireland Ltd. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.jep.2011.12.029>>.

HASSEMER, M. J.; LOPES, R. B.; BORGES, M.; et al. Development of an attract-and-infect device for biological control of lesser mealworm, *Alphitobius diaperinus* (Coleoptera: Tenebrionidae) in poultry houses. **Biological Control**, v. 149, n. March,

p. 104326, 2020. Elsevier. Disponível em:
<<https://doi.org/10.1016/j.biocontrol.2020.104326>>.

HICKMANN, F.; DE MORAIS, A. F.; BRONZATTO, E. S.; et al. Susceptibility of the Lesser Mealworm, *Alphitobius diaperinus* (Coleoptera: Tenebrionidae), from Broiler Farms of Southern Brazil to Insecticides. **Journal of Economic Entomology**, v. 111, n. 2, p. 980–985, 2018.

HOCQÜEMILLER, R.; CAVÉ, A.; RAHARISOLOLALAO, A. Alcaloides de annonaceae, Alcaloïdes de *Xylopia buxifolia* et de *Xylopia danguyella*. **Journal of Natural Products**, v. 44, n. 5, p. 551–556, 1981.

PACHECO, I. A.; DE PAULA, D. C.. **Insetos de grãos armazenados: Identificação e biologia**. Fundação C ed. 1995.

JACOMINI, D.; TEMPONI, L. G.; ALVES, L. F. A.; et al. Extrato de tabaco no controle do besouro cascudinho de aviário. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 51, n. 5, p. 680–683, 2016. Embrapa Informação Tecnológica. Disponível em:
<http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0100-204X2016000500680&lng=pt&tlng=pt>. Acesso em: 4/3/2020.

JAPP, A. K. Influência do *Alphitobius diaperinus* (panzer, 1797) (coleoptera, tenebrionidae) no desempenho zootécnico de frangos de corte e avaliação da terra diatomácea como estratégia para o seu controle. , p. 0–61, 2008.

JAPP, A. K.; BICHO, C. DE L.; SILVA, A. V. F. DA. Importância e medidas de controle para *Alphitobius diaperinus* em aviários. **Ciência Rural**, v. 40, n. 7, p. 1668–1673, 2010. Disponível em:
<http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0103-84782010000700030&lng=en&nrm=iso&tlng=pt>.

JAYASURIYA, H.; HERATH, K. B.; ONDEYKA, J. G.; et al. Diterpenoid, Steroid, and Triterpenoid Agonists of Liver X Receptors from Diversified Terrestrial Plants and Marine Sources. **Journal of Natural Products**, v. 68, n. 8, p. 1247–1252, 2005. American Chemical Society. Disponível em: <<https://doi.org/10.1021/np050182g>>.

JUNIKKA, L.; KOEK-NOORMAN, J. Anatomical structure of barks in Neotropical genera of Annonaceae. **Ann. Bot. Fennici**, v. 44, n. Suppl A, p. 79–132, 2007. Disponível em: <<http://kdb.kew.org/kdb/detailedresult.do?id=374840>>.

KRINSKI, D.; MASSAROLI, A.; MACHADO, M. Potencial inseticida de plantas da

família Annonaceae. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 36, n. spe1, p. 225–242, 2014. Sociedade Brasileira de Fruticultura. Disponível em: <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0100-29452014000500027&lng=pt&tlng=pt>. Acesso em: 3/3/2020.

LAGO, J. H. G.; MOREIRA, I. C.; TANIZAKI, T. M.; et al. Mono and sesquiterpenes from the leaf essential oil of *Xylopi*a *brasiliensis* spreng. Annonaceae. **Journal of Essential Oil Research**, v. 15, n. 6, p. 406–407, 2003.

LEBANOV, L.; TEDONE, L.; KAYKHAI, M.; LINFORD, M. R.; PAULL, B. Multidimensional Gas Chromatography in Essential Oil Analysis. Part 2: Application to Characterisation and Identification. **Chromatographia**, v. 82, n. 1, p. 399–414, 2019. Springer Berlin Heidelberg. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1007/s10337-018-3651-9>>.

LEFFER, A. M.; KUTTEL, J.; MARTINS, L. M.; et al. Vectorial competence of larvae and adults of *Alphitobius diaperinus* in the transmission of *Salmonella* enteritidis in poultry. **Vector-Borne and Zoonotic Diseases**, v. 10, n. 5, p. 481–487, 2010.
LÜMMEN, P. Complex I inhibitors as insecticides and acaricides. **Biochimica et Biophysica Acta - Bioenergetics**, v. 1364, n. 2, p. 287–296, 1998.

MARQUES, C. R. G.; MIKAMI, A. Y.; PISSINATI, A.; et al. Mortalidade de *Alphitobius diaperinus* (Panzer) (Coleoptera: Tenebrionidae) por óleos de nim e citronela. **Semina: Ciências Agrárias**, v. 34, n. 6, p. 2565–2574, 2013.

MARTINS, C. C.; ALVES, L. F. A.; MAMPRIM, A. P. Effect of plant extracts and a disinfectant on biological parameters and pathogenicity of the fungus *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuill. (Ascomycota: Cordycipitaceae). **Brazilian Journal of Biology**, v. 76, n. 2, p. 420–427, 2016.

MCALLISTER, J. C.; STEELMAN, C. D.; NEWBERRY, L. A.; SKEELES, J. K. Isolation of Infectious Bursal Disease Virus from the Lesser Mealworm, *Alphitobius diaperinus* (Panzer). **Poultry Science**, v. 74, n. 1, p. 45–49, 1995. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.3382/ps.0740045>>.

MENDES, R. DE F.; PINTO, N. DE C. C.; DA SILVA, J. M.; et al. The essential oil from the fruits of the Brazilian spice *Xylopi*a *sericea* A. St.-Hil. presents expressive in-vitro antibacterial and antioxidant activity. **Journal of Pharmacy and Pharmacology**, v. 69, n. 3, p. 341–348, 2017.

MIO, L. L. M.-D.; NOVAES, Q. S. DE; ALVES, E. Metodologias de preparação de amostras de ferrugem para estudos morfológicos de urediniósporos por meio de

microscopia eletrônica de varredura. **Summa Phytopathologica**, v. 32, n. 3, p. 267–273, 2006. Grupo Paulista de Fitopatologia. Disponível em: <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0100-54052006000300009&lng=pt&tlng=pt>. Acesso em: 27/4/2020.

MONTAÑO-REYES, A.; LLANDERAL-CÁZARES, C.; VALDEZ-CARRASCO, J.; MIRANDA-PERKINS, K.; SÁNCHEZ-ARROYO, H. Susceptibility and alterations by diflubenzuron in larvae of *Aedes aegypti*. **Archives of Insect Biochemistry and Physiology**, v. 102, n. 2, p. 1–12, 2019.

MOREIRA, I. C.; LAGO, J. H. G.; ROQUE, N. F. Sesquiterpenes, diterpenes, steroids and alkaloid from branches of *Xylopiá brasiliensis* Spreng (Annonaceae). **Biochemical Systematics and Ecology**, v. 33, n. 9, p. 948–951, 2005.

MOREIRA, I. C.; LAGO, J. H. G.; YOUNG, M. C. M.; ROQUE, N. F. Antifungal Aromadendrane Sesquiterpenoids from the Leaves of *Xylopiá brasiliensis*. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, v. 14, n. 5, p. 828–831, 2003.

MOVAHHED HAGHIGHI, T.; SAHARKHIZ, M. J.; NADDAF, F. Ontogenetic variability of *Vitex pseudo-negundo* essential oil and its phytotoxic activity. **Scientia Horticulturae**, v. 257, n. July, p. 108735, 2019. Elsevier. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.scienta.2019.108735>>.

NOVAES, P.; TORRES, P. B.; CORNU, T. A.; et al. Comparing antioxidant activities of flavonols from *Annona coriacea* by four approaches. **South African Journal of Botany**, v. 123, p. 253–258, 2019. South African Association of Botanists. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.sajb.2019.03.011>>.

OLIVEIRA, D. G. P. Proposta de um protocolo para avaliação da viabilidade de condições de fungos entomopatogênicos e determinação de proteção ao calor conferida a *Beauveria bassiana* e *Metarhizium anisopliae* pela formulação em óleo emulsionável. , p. 89, 2009.

OLIVEIRA, D. G. P.; BONINI, A. K.; ALVES, L. F. A. Field Assessments to Control the Lesser Mealworm (Coleoptera: Tenebrionidae) Using Diatomaceous Earth in Poultry Houses. **Journal of Economic Entomology**, v. 110, n. 6, p. 2716–2723, 2017a.

OLIVEIRA, D. G. P.; CARDOSO, R. R.; MAMPRIM, A. P.; ANGELI, L. F. Laboratory and field evaluation of a cypermethrin-based insecticide for the control of *Alphitobius diaperinus* panzer (Coleoptera: Tenebrionidae) and its in-vitro effects on *Beauveria bassiana* bals. vuill. (hypocreales: Cordycipitaceae). **Revista Brasileira de Ciencia**

Avicola, v. 18, n. 3, p. 371–380, 2016.

PADOAN GONÇALVES, G. L.; DE CÁSSIA DOMINGUES, V.; DO PRADO RIBEIRO, L.; et al. Compounds from *Duguetia lanceolata* St.- Hil. (Annonaceae) bioactive against *Zabrotes subfasciatus* (Boheman) (Coleoptera: Chrysomelidae: Bruchinae). **Industrial Crops and Products**, v. 97, p. 360–367, 2017.

PINEDA-RAMÍREZ, N.; CALZADA, F.; ALQUISIRAS-BURGOS, I.; et al. Antioxidant properties and protective effects of some species of the annonaceae, lamiaceae, and geraniaceae families against neuronal damage induced by excitotoxicity and cerebral ischemia. **Antioxidants**, v. 9, n. 3, p. 1–19, 2020.

PONTES, A. F.; BARBOSA, M. R. DE V.; MAAS, P. J. M. Flora Paraibana: Annonaceae Juss. **Acta Botanica Brasilica**, v. 18, n. 2, p. 281–293, 2004. Disponível em: <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0102-33062004000200008&lng=pt&tlng=pt>.

PONTES, W. J. T.; OLIVEIRA, J. C. S. DE; CÂMARA, C. A. G. DA; et al. Atividade acaricida dos óleos essenciais de folhas e frutos de *Xylopiá sericea* sobre o ácaro rajado (*Tetranychus urticae* Koch). **Química Nova**, v. 30, n. 4, p. 838–841, 2007. SBQ. Disponível em: <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0100-40422007000400015&lng=pt&nrm=iso&tlng=pt>. Acesso em: 4/3/2020.

R CORE TEAM. R: A language and environment for statistical computing. , 2019. Vienna, Austria: R Foundation for Statistical Computing.

RATTAN, R. S. Mechanism of action of insecticidal secondary metabolites of plant origin. **Crop Protection**, v. 29, n. 9, p. 913–920, 2010. Elsevier Ltd. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.cropro.2010.05.008>>.

RIBEIRO, L. DO P.; VENDRAMIM, J. D.; GONÇALVES, G. L. P.; et al. Searching for promising sources of grain protectors in extracts from Neotropical Annonaceae. **Boletín Latinoamericano y del Caribe de Plantas Medicinales y Aromáticas**, v. 15, n. 4, p. 215–232, 2016.

RIBEIRO, L. P.; AKHTAR, Y.; VENDRAMIM, J. D.; ISMAN, M. B. Comparative bioactivity of selected seed extracts from Brazilian *Annona* species and an acetogenin-based commercial bioinsecticide against *Trichoplusia ni* and *Myzus persicae*. **Crop Protection**, v. 62, p. 100–106, 2014. Elsevier Ltd. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.cropro.2014.04.013>>.

RIBEIRO, L. P.; DOMINGUES, V. C.; GONÇALVES, G. L. P.; et al. Essential oil from *Duguetia lanceolata* St.-Hil. (Annonaceae): Suppression of spoilers of stored-grain. **Food Bioscience**, v. 36, n. May, p. 100653, 2020. Elsevier Ltd. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.fbio.2020.100653>>.

RICE, S. J.; BAKER, D. K.; LEEMON, D. M. Development of mycoinsecticide formulations with *Beauveria bassiana* and *Metarhizium anisopliae* for the control of lesser mealworm, *Alphitobius diaperinus*, in chicken broiler houses. **BioControl**, v. 64, n. 5, p. 489–500, 2019. Springer Netherlands. Disponível em: <<https://doi.org/10.1007/s10526-019-09951-3>>.

RICE, S. J.; BAKER, D. K.; MAYER, D. G.; LEEMON, D. M. Mycoinsecticide formulations of *Beauveria bassiana* and *Metarhizium anisopliae* reduce populations of lesser mealworm, *Alphitobius diaperinus*, in chicken-broiler houses. **Biological Control**, v. 144, n. January, p. 104234, 2020. Elsevier. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.biocontrol.2020.104234>>.

RICE, S. J.; LAMBKIN, T. A. A new culture method for lesser mealworm, *Alphitobius diaperinus*. **Journal of Applied Entomology**, v. 133, n. 1, p. 67–72, 2009.

RODRIGUES, G.; EVANGELISTA, V.; CARVALHO, D.; ANTÔNIO, D. CERNE
ISSN : 0104-7760 Universidade Federal de Lavras Brasil Gomes Rodrigues.
Florística de plantas medicinais nativas de remanescentes de floresta estacional semidecidual na região do Alto Rio Grande -. , 2008.

ROHDE, C.; ALVES, L. F. A.; NEVES, P. M. O. J.; et al. Seleção de isolados de *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuill. e *Metarhizium anisopliae* (Metsch.) Sorok. contra o cascudinho *Alphitobius diaperinus* (Panzer) (Coleoptera: Tenebrionidae). **Neotropical Entomology**, v. 35, n. 2, p. 231–240, 2006. Sociedade Entomológica do Brasil. Disponível em: <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1519-566X2006000200012&lng=pt&nrm=iso&tlng=pt>. Acesso em: 1/4/2020.

ROSSI-ZALAF, L. S.; ALVES, S. B.; VIEIRA, S. A. Efeito de meios de cultura na virulência de *Hirsutella thompsonii* (Fischer) (Deuteromycetes) para o controle *Brevipalpus phoenicis* (Geijskes) (Acari: Tenuipalpidae). **Neotropical Entomology**, v. 37, n. 3, p. 312–320, 2008.

SANTORO, P. H.; NEVES, P. M. O. J.; ALEXANDRE, T. M.; et al. Selection of *Beauveria bassiana* isolates to control *Alphitobius diaperinus*. **Journal of Invertebrate Pathology**, v. 97, n. 2, p. 83–90, 2008.

SCHARF, M. B.; BAUMANN, M.; BERKOWITZ, D. V. The effects of sodium oxybate on clinical symptoms and sleep patterns in patients with fibromyalgia. **The Journal of Rheumatology**, v. 30, n. 5, p. 1070 LP-1074, 2003. Disponível em: <<http://www.jrheum.org/content/30/5/1070.abstract>>.

SILVA, R. Z.; NEVES, P. M.; SANTORO, P. H. Techniques and parameters used in compatibility studies between entomopathogenic fungi and phytosanitary products 1. **Semina: Ciências Agrárias**, v. 26, n. 3, p. 305–312, 2005.

SILVA, A. S. DA; QUINTAL, A. P. N.; MONTEIRO, S. G.; et al. Ação do fungo *Beauveria bassiana*, isolado 986, sobre o ciclo biológico do cascudinho *Alphitobius diaperinus* em laboratório. **Ciência Rural**, v. 36, n. 6, p. 1944–1947, 2006.

Universidade Federal de Santa Maria. Disponível em: <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0103-84782006000600047&lng=pt&tlng=pt>. Acesso em: 4/3/2020.

DA SILVA, J. J.; MENDES, J. Effect of diflubenzuron on immature stages of *Haematobia irritans* (L.) (Diptera: Muscidae) in Uberlândia, State of Minas Gerais, Brazil. **Memorias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 97, n. 5, p. 679–682, 2002.

SILVA, F. M. E I. G. DA. Avaliação da atividade inibidora do diflubenzuron na ecdise das larvas de *Aedes aegypti* (Linnaeus, 1762) (Diptera, Culicidae) Evaluation of the inhibiting activity of the diflubenzuron on the ecdysis of. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 37, n. 2, p. 135–138, 2004.

SIMÕES, C.M.O; SCHENKEL, E.P; MELLO, J.C.P; MENTZ, L.A; PETROVICK, P. R. **Farmacognosia do produto natural ao medicamento**. 7º ed. Porto Alegre, 2017.

SINGH, N.; JOHNSON, D. Baseline Susceptibility and Cross-Resistance in Adult and Larval *Alphitobius diaperinus* (Coleoptera: Tenebrionidae) Collected from Poultry Farms in Arkansas. **Journal of Economic Entomology**, v. 108, n. 4, p. 1994–1999, 2015.

SOUSA, O. V.; DEL-VECHIO-VIEIRA, G.; ALVES, M. S.; et al. Chemical composition and biological activities of the essential oils from *Duguetia lanceolata* St. Hil. barks. **Molecules**, v. 17, n. 9, p. 11056–11066, 2012.

SOUSA, O. V.; DEL-VECHIO-VIEIRA, G.; AMARAL, M. P. H.; et al. Efeitos antinociceptivo e antiinflamatório do extrato etanólico das Folhas de *Duguetia lanceolata* St.-Hil. (Annonaceae). **Latin American Journal of Pharmacy**, v. 27, n. 3, p. 398–402, 2008.

SOUSA, O. V.; SOARES JÚNIOR, D. T.; DEL-VECHIO, G.; et al. Atividades antinociceptiva e antiinflamatória do óleo essencial de cascas de *Duguetia lanceolata* St. Hil., Annonaceae. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 14, p. 11–14, 2004.

STUPP, P.; RAKES, M.; OLIVEIRA, D. C.; et al. Acetogenin-Based Formulated Bioinsecticides on *Anastrepha fraterculus*: Toxicity and Potential Use in Insecticidal Toxic Baits. **Neotropical Entomology**, v. 49, n. 2, p. 292–301, 2020.

SZCZEPANIK, M.; WALCZAK, M.; ZAWITOWSKA, B.; et al. Chemical composition, antimicrobrial activity and insecticidal activity against the lesser mealworm *Alphitobius diaperinus* (Panzer) (Coleoptera: Tenebrionidae) of *Origanum vulgare* L. ssp. *hirtum* (Link) and *Artemisia dracuncululus* L. essential oils. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 98, n. 2, p. 767–774, 2018.

SZCZEPANIK, M.; ZAWITOWSKA, B.; SZUMNY, A. Insecticidal activities of *Thymus vulgaris* essential oil and its components (thymol and carvacrol) against larvae of lesser mealworm, *Alphitobius diaperinus* Panzer (Coleoptera: Tenebrionidae). **Allelopathy Journal**, v. 30, n. 1, p. 129–142, 2012.

SZOŁYGA, B.; GNIŁKA, R.; SZCZEPANIK, M.; SZUMNY, A. Chemical composition and insecticidal activity of *Thuja occidentalis* and *Tanacetum vulgare* essential oils against larvae of the lesser mealworm, *Alphitobius diaperinus*. **Entomologia Experimentalis et Applicata**, v. 151, n. 1, p. 1–10, 2014.

TAIZ L., Z. E. **Fisiologia Vegetal**. 5 ed. ed. Porto Alegre, 2013.

TAKAHASHI, J. A.; VIEIRA, H. S.; BOAVENTURA, M. A. D.; et al. Mono and diterpenes from seeds of *Xylopia sericea*. **Quimica Nova**, v. 24, n. 5, p. 616–618, 2001.

TAKHTAJAN ARMEN. Floristic Regions of the World. . p.522, 1986. Los Angeles: University of California Pres Berkeley. Disponível em: <<http://www.tdwg.org/standards/104>>.

TEMPONE, A. G.; TREIGER BORBOREMA, S. E.; DE ANDRADE, H. F.; et al. Antiprotozoal activity of Brazilian plant extracts from isoquinoline alkaloid-producing families. **Phytomedicine**, v. 12, n. 5, p. 382–390, 2005.

THERNEAU, T. M. Survival Analysis [R package survival version 2.41-3].

Comprehensive R Archive Network (CRAN).

TRINDADE, R. C. P.; GOMES, I. B.; DE LEMOS, E. E. P.; SANT'ANA, A. E. G. Toxicity of soursop extracts to diamondback moth. **Bioscience Journal**, v. 34, n. 1, p. 104–111, 2018.

TUNDIS, R.; XIAO, J.; LOIZZO, M. R. Annona species (Annonaceae): a rich source of potential antitumor agents? **Annals of the New York Academy of Sciences**, v. 1398, n. 1, p. 30–36, 2017.

UEMURA, D. H.; ALVES, L. F. A.; OPAZO, M. A. U.; et al. Distribuição e Dinâmica Populacional Do Cascudinho *Alphitobius Diaperinus* (Coleoptera : Tenebrionidae) Em Aviários De Frango De Corte. **Arquivos do Instituto Biológico**, v. 75, n. 4, p. 429–435, 2008.

USDA. Livestock and Poultry World Markets and trade. United States Department of Agriculture and Foreign Agricultural Service, 2019. Disponível em: https://downloads.usda.library.cornell.edu/usda-esmis/files/73666448x/mg74qq69r/j6731729p/livestock_poultry.pdf

VAFADAR-YENGEJE, L.; AMINI, R.; DABBAGH MOHAMMADI NASAB, A. Chemical compositions and yield of essential oil of *Moldavian balm* (*Dracocephalum moldavica* L.) in intercropping with faba bean (*Vicia faba* L.) under different fertilizers application. **Journal of Cleaner Production**, v. 239, p. 118033, 2019. Elsevier Ltd. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.jclepro.2019.118033>>.

VOGADO, G. M. S.; VOGADO, K. T. S.; FONSECA, W. J. L.; et al. Evolução Da Avicultura Brasileira. **Nucleus Animalium**, v. 8, n. 1, p. 49–58, 2016.

WANG, X.; LI, Q.; SHEN, L.; et al. Fumigant, Contact, and Repellent Activities of Essential Oils Against the Darkling Beetle, *Alphitobius diaperinus*. **Journal of Insect Science**, v. 14, n. 75, p. 1–11, 2014. Disponível em: <<http://www.bioone.org/doi/abs/10.1673/031.014.75>>.

YAJID, A. I.; AB RAHMAN, H. S.; WONG, M. P. K.; WAN ZAIN, W. Z. Potential benefits of *Annona muricata* in combating cancer: A review. **Malaysian Journal of Medical Sciences**, v. 25, n. 1, p. 5–15, 2018.

ZAFRA-POLO, M. C.; GONZÁLEZ, M. C.; ESTORNELL, E.; SAHPAZ, S.; CORTES, D. Acetogenins from annonaceae, inhibitors of mitochondrial complex I. **Phytochemistry**, v. 42, n. 2, p. 253–271, 1996.