

UNIVERSIDADE TECNOLÓGICA FEDERAL DO PARANÁ

SANDRA GEBAUER BESEN

**TOXICIDADE DE ÓLEOS ESSENCIAIS E COMPOSTOS
MAJORITÁRIOS DE *Mentha* spp. para larvas de *Alphitobius
diaperinus* (PANZER) (COLEOPTERA: TENEBRIONIDAE) E SUA
INTERAÇÃO COM O FUNGO ENTOMOPATOGÊNICO *Beauveria
bassiana***

SANTA HELENA

2022

SANDRA GEBAUER BESEN

**TOXICIDADE DE ÓLEOS ESSENCIAIS E COMPOSTOS
MAJORITÁRIOS DE *Mentha* spp. para larvas de *Alphitobius
diaperinus* (PANZER) (COLEOPTERA: TENEBRIONIDAE) E SUA
INTERAÇÃO COM O FUNGO ENTOMOPATOGÊNICO *Beauveria
bassiana***

**Toxicity of essential oils and major compounds from *Mentha* spp. against
Alphitobius larvae
diaperinus (Panzer) (Coleoptera: Tenebrionidae) and its interaction with the
entomopatogenic fungus *Beauveria bassiana***

Dissertação apresentada como requisito para obtenção do
título de Mestre em Recursos Naturais e Sustentabilidade
da Universidade Tecnológica Federal do Paraná (UTFPR).
Orientadora: Prof. Dra. DeJane Santos Alves
Coorientador: Prof. Dr. Daian Guilherme Pinto de Oliveira

SANTA HELENA

2022



Esta licença permite compartilhamento, remixe, adaptação e criação a partir do trabalho, mesmo para fins comerciais, desde que sejam atribuídos créditos ao(s) autor(es). Conteúdos elaborados por terceiros, citados e referenciados nesta obra não são cobertos pela licença.



**Ministério da Educação
Universidade Tecnológica Federal do Paraná
Campus Santa Helena**



SANDRA GEBAUER BESEN

TOXICIDADE DE ÓLEOS ESSENCIAIS E COMPOSTOS MAJORITÁRIOS DE MENTHA SPP. PARA LARVAS DE ALPHITOBIOUS DIAPERINUS (PANZER) (COLEOPTERA: TENEBRIONIDAE) E SUA INTERAÇÃO COM O FUNGO ENTOMOPATOGÊNICO BEAUVERIA BASSIANA

Trabalho de pesquisa de mestrado apresentado como requisito para obtenção do título de Mestre Em Recursos Naturais E Sustentabilidade da Universidade Tecnológica Federal do Paraná (UTFPR). Área de concentração: Recursos Naturais E Sustentabilidade.

Data de aprovação: 25 de Março de 2022

Prof.a DeJane Santos Alves, Doutorado - Universidade Tecnológica Federal do Paraná

Prof Geraldo Andrade Carvalho, Doutorado - Universidade Federal de Lavras (Ufla)

Prof Luis Francisco Angeli Alves, Doutorado - Universidade Estadual do Oeste do Paraná (Unioeste)

Prof.a Natalia Ramos Mertz, Doutorado - Universidade Tecnológica Federal do Paraná (Utfpr)

Documento gerado pelo Sistema Acadêmico da UTFPR a partir dos dados da Ata de Defesa em 31/03/2022.

Dedico esta dissertação à minha pequena e amada Rafaela Olinda,
não foi um caminho fácil, mas conseguimos.

AGRADECIMENTOS

Primeiramente agradecer a Deus por sempre me iluminar e guiar por todos os caminhos que percorro, me permitindo ter saúde, fé e muito amor no coração.

À minha maravilhosa orientadora Prof. Dra. Dejana Santos Alves, minha gratidão por todos os ensinamentos, orientações e ajuda nessa caminhada.

À minha família por toda a ajuda, paciência e incentivos. Sem vocês eu não conseguiria.

À querida colega e amiga Katiane Pompermayer pelos ensinamentos e ajuda em todas as etapas da pesquisa.

Ao Grupo de Pesquisa em Entomologia Aplicada (GPEA), pela colaboração nos trabalhos desenvolvidos.

Ao coorientador Prof. Dr. Daian Guilherme Pinto de Oliveira, pela ajuda nos trabalhos desenvolvidos com o fungo *Beauveria bassiana*.

Aos professores Denilson Ferreira de Oliveira (UFLA), Geraldo Humberto Silva (UFV), Gabriela de Souza Trindade Silva e Murilo Souza de Oliveira pelas análises cromatográficas e por ceder compostos majoritários para os bioensaios.

Obrigada a todos, esse trabalho é a soma de todos os esforços e dedicação.

“A educação é o grande motor do desenvolvimento pessoal. É através dela que a filha de um camponês se torna médica, que o filho de um mineiro pode chegar a chefe de mina, que um filho de trabalhadores rurais pode chegar a presidente de uma grande nação.”

Nelson Mandela.

RESUMO

A avicultura é de grande importância para o Brasil, possibilitando crescimento econômico e a produção de alimentos. Entretanto, alguns fatores dificultam essa produção, tais como os insetos pragas. Nesse contexto, o cascudinho-dos-aviários *Alphitobius diaperinus* (Panzer) (Coleoptera: Tenebrionidae) destaca-se como a principal praga em aviários de frangos de corte no Brasil, havendo a necessidade de buscas constantes por novas moléculas para seu controle. Este trabalho teve como objetivo avaliar a toxicidade dos óleos essenciais (OEs) de *Mentha arvensis* L., *Mentha spicata* L. e *Mentha piperita* L. e de seus compostos majoritários para *A. diaperinus*. Além disso, estudou-se a interação desses OEs com o fungo entomopatogênico *Beauveria bassiana*. Todos os OEs testados foram tóxicos para *A. diaperinus* em ensaios de aplicação tópica e ingestão. Os OEs de *M. arvensis* e *M. piperita* tiveram como composto majoritário o mentol, enquanto que para o OE de *M. spicata* a carvona foi encontrada em maior quantidade. Os isômeros de carvona foram mais tóxicos em ensaio de aplicação tópica, enquanto o D-mentol foi mais tóxico em ensaio de ingestão. Ressalta-se que os OEs de *M. arvensis*, *M. piperita* e *M. spicata* tiveram seus índices de toxicidade determinados e foram considerados compatíveis para *B. bassiana*. Dessa forma, os OEs de *M. arvensis*, *M. piperita* e *M. spicata* mostraram-se tóxicos para *A. diaperinus* e são compatíveis para o fungo *B. bassiana*, apresentando-se promissores para serem empregados em novos estudos visando o uso em condições de campo.

Palavras-chave: Inseticidas botânicos. Metabólitos secundários. Controle de pragas.

ABSTRACT

Poultry farming is of great importance to Brazil, enabling economic growth and food production. However, some factors make this production difficult, such as insect pests. In this context, the lesser mealworm *Alphitobius diaperinus* (Panzer) (Coleoptera: Tenebrionidae) is a major pest. However, some factors make this production difficult, such as insect pests. In this context, the avian beetle. This study aimed to evaluate the toxicity of essential oils (EOs) from *Mentha arvensis* L., *Mentha spicata* L. e *Mentha piperita* L. and its major compounds for *A. diaperinus*. In addition, the interaction of these EOs with the entomopathogenic fungus *Beauveria bassiana* was studied. All OEs tested were toxic to *A. diaperinus* in topical application and ingestion tests. The EOs from *M. arvensis* and *M. piperita* had menthol as the majority compound, while for the EO of *M. spicata* a carvona was found in greater quantity. Carvone isomers were more toxic in a topical application assay, while D-menthol was more toxic in an ingestion assay. It is noteworthy that the EOs of *M. arvensis*, *M. piperita* and *M. spicata* had their toxicity indices determined and were considered compatible for *B. bassiana*. Thus, the EOs of *M. arvensis*, *M. piperita* and *M. spicata* have been shown to be toxic to *A. diaperinus* and are compatible for the fungus *B. bassiana*, presenting promising to be used in new studies aiming the use in field conditions.

Keywords: Botanical insecticides. Secondary metabolites. Pest control.

LISTA DE GRÁFICOS

- Gráfico 1- Análise de sobrevivência de larvas de *Alphitobius diaperinus* após aplicação tópica de óleos essenciais de *Mentha arvensis*, *Mentha piperita* e *Mentha spicata*. UTFPR, Campus Santa Helena – PR, 202230.
- Gráfico 2- Análise de sobrevivência de larvas de *Alphitobius diaperinus* após ingestão de dieta contendo óleos essenciais de *Mentha arvensis*, *Mentha piperita* e *Mentha spicata*. UTFPR, Campus Santa Helena – PR, 2022.....31.
- Gráfico 3- Análise de sobrevivência de larvas de *Alphitobius diaperinus* após aplicação tópica de diferentes doses dos óleos essenciais de *Mentha arvensis*(a), *Mentha piperita*(b) e *Mentha spicata*(c) e (d) óleo de neem. UTFPR, Campus Santa Helena – PR, 2022.....35.
- Gráfico 4- Análise de sobrevivência de larvas de *Alphitobius diaperinus* após oferecimento de dieta contendo diferentes concentrações dos óleos essenciais de *Mentha arvensis*(a), *Mentha piperita*(b) e *Mentha spicata*(c) e (d) óleo de neem. UTFPR, Campus Santa Helena – PR, 2022.....40.
- Gráfico 5- Análise de sobrevivência de larvas de *Alphitobius diaperinus* (a) em ensaio de aplicação tópica e de (b) ingestão com os compostos majoritários dos óleos essenciais de *Mentha arvensis*, *Mentha piperita* e *Mentha spicata*. UTFPR, Campus Santa Helena – PR,2022.....43.

LISTA DE TABELAS

- Tabela 1- Nomes científicos, nomes INCI (Nomenclatura Internacional de Ingredientes Cosméticos), método de extração e nome comercial dos óleos essenciais empregados nesse estudo. UTFPR, Campos Santa Helena – PR, 2022.....20.
- Tabela 2- Caracterização química dos óleos essenciais provenientes de *Mentha* spp. UTFPR, Campos Santa Helena – PR, 2022.....29.
- Tabela 3- Resposta dose-mortalidade de larvas de *Alphitobius diaperinus* tratadas com os óleos essenciais de *Mentha piperita*, *Mentha spicata* e *Mentha arvensis* e o óleo de neem. UTFPR, Campos Santa Helena – PR, 2022.....33.
- Tabela 4-Resposta concentração-mortalidade de larvas de *Alphitobius diaperinus* tratadas com os óleos essenciais de *Mentha piperita*, *Mentha spicata* e *Mentha arvensis* e o óleo de neem. UTFPR, Campos Santa Helena – PR, 2022.....38.
- Tabela 5- Parâmetros biológicos e índice Biológico de Toxicidade para o fungo *Beauveria bassiana*, em interação com os óleos essenciais de *Mentha arvensis*, *Mentha spicata* e *Mentha piperita*. UTFPR, Campos Santa Helena – PR, 2022.....44.

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	14
2 OBJETIVOS	16
2.1 Objetivo Geral	163
2.2 Objetivos Específicos	13
3 REFERENCIAL TEÓRICO	17
3.1 Cascudinho-dos-aviários <i>A. diaperinus</i>	17
3.2 Plantas selecionadas o estudo.....	16
3.2.1 <i>Mentha arvensis</i>	16
3.2.2 <i>Mentha spicata</i>	16
3.2.3 <i>Mentha piperita</i>	17
3.3 <i>Beauveria bassiana</i> (Bals.)Vuill.....	18
4 MATERIAL E MÉTODOS	23
4.1 Produtos utilizados como tratamentos	23
4.2 Caracterização química dos OEs	23
4.3 Criação de <i>A. diaperinus</i>	24
4.4 Obtenção de <i>B. bassiana</i>	21
4.5 Bioensaios.....	24
4.5.1 <i>Screening</i> da bioatividade de OEs em ensaio de aplicação tópica	24
4.5.2 <i>Screening</i> da bioatividade de OEs em ensaio de ingestão	25
4.5.3 Determinação da dose-resposta dos OEs em ensaio de aplicação tópica.....	22
4.5.4 Determinação da concentração-resposta dos OEs em ensaio de Ingestão.....	23
4.6 Toxicidade dos compostos majoritários dos OEs de <i>Mentha</i> spp. para <i>A.</i> <i>diaperinus</i>	23
4.7 Análise da interação dos OEs para organismo não-alvo, o fungo <i>B. bassiana</i>	24
4.7.1 Germinação.....	25
4.7.2 Crescimento vegetativo.....	25
4.7.3 Produção de conídios.....	26
5 ANÁLISE ESTATÍSTICA	29
6 RESULTADOS	28
6.1 Caracterização química dos OEs	28
6.2 <i>Screening</i> da bioatividade de OEs em ensaio de aplicação tópica	30
6.3 <i>Screening</i> da bioatividade de OEs em ensaio de ingestão	14
6.4 Determinação da dose-resposta dos OEs em ensaio de aplicação tópica	32
6.5 Determinação da concentração-resposta dos OEs em ensaio de ingestão.....	37
6.6 Toxicidade dos compostos majoritários dos OEs de <i>Mentha</i> spp. para <i>A.</i> <i>diaperinus</i>	42
6.7 Análise da interação dos OEs para organismo não-alvo, o fungo <i>B. bassiana</i>	44
7 DISCUSSÃO	45
8 CONCLUSÃO	47
REFERENCIAS	48
ANEXOS	54
Material suplementar. Gráfico 1.....	54
Material suplementar. Gráfico 2.....	56

1 INTRODUÇÃO

A indústria avícola no Brasil está em constante expansão, se destacando no mercado interno e externo de frangos. Entre os estados brasileiros que são líderes na produção de frango de corte, destaca-se o Paraná. De acordo com a Associação Brasileira de Proteína Animal, o Paraná teve em 2020 uma produção de carne de frango de 4,49 milhões de toneladas (ABPA, 2020).

Todavia, entre os fatores que oneram a produção de frangos de cortes destacam-se as pragas, sendo a mais importante o cascudinho-dos-aviários *Alphitobius diaperinus* (Panzer) (Coleoptera: Tenebrionidae). Ao habitar as granjas avícolas o cascudinho pode ser ingerido pelas aves ocasionando prejuízos econômicos. A ingestão desses insetos pode acarretar ainda ferimentos no sistema digestório das aves (JAPP *et al.*, 2010). Outro prejuízo causado por *A. diaperinus* diz respeito ao fato dele poder atuar como vetor e reservatório de microrganismos patogênicos, tais como a *Salmonella* spp. (DONOSO; PAREDES; RETAMAL, 2020; MITUNIEWICZ; DZIK, 2020). Destaca-se que o hábito desse inseto em fazer galerias em madeiras e no solo para oviposição e metamorfose causa danos à estrutura dos galpões (HICKMANN *et al.*, 2018).

O controle desse inseto é dificultado pelo seu comportamento críptico, pois o cascudinho abriga-se em fendas, rachaduras, abaixo dos comedouros, no solo, próximo aos pilares de sustentação dos galpões (CHERNAKI; ALMEIDA., 2001; UEMURA *et al.*, 2008), Além disso, a grande capacidade de reprodução favorece seu aparecimento e novas infestações.

Os inseticidas químicos sintéticos são usados para o controle de *A. diaperinus*. Entretanto, os efeitos adversos tais como: seleção de populações resistentes (RENAULT; COLINET, 2021) e presença de resíduos na carne de frango (ĐOKIĆ; SEDAK; BILANDŽIĆ, 2020) justificam a busca por métodos mais eficientes e de baixo impacto ambiental para o controle desse inseto.

Nesse sentido, os óleos essenciais (OEs), os quais são produtos oriundos dos metabólitos secundários de plantas, surgem como uma opção promissora para o controle de insetos pragas. Entre as plantas conhecidas por produzir substâncias com atividade inseticida, pode-se citar as espécies do gênero *Mentha*, que são plantas pertencentes à família Lamiaceae. A atividade inseticida de *Mentha* spp. tem sido reportada na literatura (BORZOU; KHAGHANI; NOURI-GANBALANI, 2021); entretanto, estudos com *A. diaperinus* são escassos até o momento (SUBEKTI; CAHYANINGRUM, 2020).

Entre as espécies do gênero *Mentha*, pode-se destacar *Mentha arvensis* (L.), *Mentha spicata* (L.) e *Mentha piperita* (L.). A espécie *M. arvensis* é relatada por apresentar toxicidade para insetos da ordem Coleoptera como *Sitophilus oryzae* (L.) e *Sitophilus zeamais* Motsch. (Coleoptera: Curculionidae) (ZIMMERMANN *et al.*, 2021). Já *M. spicata* também apresenta toxicidade para insetos da mesma ordem, como *Callosobruchus chinensis* (L.) e *Callosobruchus maculatus* (F.) (Coleoptera: Bruchidae) (JAYARAM *et al.*, 2022). A espécie *M. piperita* é a única que apresenta toxicidade ao inseto *A. diaperinus* (SUBEKTI; CAHYANINGRUM, 2020).

Destaca-se ainda que no contexto do manejo integrado de pragas é desejável que haja compatibilidade entre as diferentes táticas de controle empregadas. Assim, entre os inimigos naturais de *A. diaperinus* destaca-se o fungo entomopatogênico, *Beauveria bassiana*. Esse agente de controle biológico é encontrado naturalmente em solos de aviários, e é patogênico para larvas e adultos de *A. diaperinus*. Além disso, foi comprovada sua eficiência no controle desse inseto em aviário comercial (ALVES *et al.*, 2015).

Desta forma, esse trabalho teve como objetivo avaliar a toxicidade de OEs e compostos majoritários provenientes de *M. arvensis*, *M. spicata* e *M. piperita* para larvas de *A. diaperinus* e a interação com o fungo entomopatogênico *B. bassiana*. Essa pesquisa tem como hipóteses: i) os OEs de *M. arvensis*, *M. spicata* e *M. piperita* são tóxicos para *A. diaperinus*; ii) os compostos majoritários dos OEs ativos são tóxicos para *A. diaperinus* e iii) os OEs são compatíveis com o fungo entomopatogênico *B. bassiana*.

2 OBJETIVOS

2.2 Objetivo Geral

Avaliar a toxicidade de OEs provenientes de *M. arvensis*, *M. spicata* e *M. piperita* e de seus compostos majoritários para larvas de *A. diaperinus* e a interação dos OEs com o fungo entomopatogênico *B. bassiana*.

2.3 Objetivos Específicos

- Avaliar a toxicidade de OE de *M. arvensis*, *M. spicata* e *M. piperita* para *A. diaperinus*, por meio de aplicação tópica e de ingestão;
- Determinar as doses e concentrações letais medianas (DL₅₀; CL₅₀) dos OEs mais tóxicos para *A. diaperinus*;
- Realizar a caracterização química dos OEs por Cromatografia Gasosa acoplada a Espectrometria de Massas (CG-EM);
- Determinar a toxicidade dos compostos majoritários dos OEs para *A. diaperinus*;
- Avaliar a interação dos OEs com o fungo entomopatogênico *B. bassiana*.

3 REFERENCIAL TEÓRICO

3.1 Cascudinho-dos-aviários *A. diaperinus*

O cascudinho-dos-aviários é um inseto representante da ordem Coleoptera e originário do continente africano. Trata-se de um inseto cosmopolita, comumente encontrado em camas de aviários e que adapta-se bem em qualquer lugar do mundo (MENDES; POVALUK, 2017). Acredita-se que esse inseto tenha migrado para os aviários por meio de rações contaminadas (JAPP *et al.*, 2010). Devido à maior demanda por produção de carne de frango, houve aumento do número de aves confinadas em um ambiente úmido, com temperatura alta e grande disponibilidade de alimentos. Esses fatores são propícios para o rápido crescimento populacional de *A. diaperinus* (JAPP, 2008; KOTSOU *et al.*, 2021). Haja vista que na cama de aviários, os insetos retiram todo alimento necessário para sua sobrevivência, como: adubo, ração, aves mortas e moribundas, assim encontrando um ótimo ambiente para sobreviverem e se reproduzirem (JAPP *et al.*, 2010; MENDES; POVALUK, 2017).

O cascudinho-dos-aviários é um inseto holometábolo, que passa por quatro estágios, sendo eles: ovo, larva, pupa e adulto. A duração média do ciclo de vida de *A. diaperinus* é de 55 dias, a depender das condições ambientais. Do ovo eclode a larva, o período de desenvolvimento embrionário dura cerca de 3 a 10 dias. A fase larval tem duração média de 58 dias e os insetos apresentam 11 ínstars. Ao término da fase larval, os insetos passam para a fase de pupa; as pupas apresentam coloração esbranquiçada, essa fase dura em média cinco dias, daí emergem os adultos. Os adultos inicialmente apresentam coloração clara que se torna escura com o passar do tempo. Entre 10 a 20 dias após a emergência, os adultos começam o processo de acasalamento e podem viver por mais de 1 ano (JAPP *et al.*, 2010; VERGARA; GAZANI; 1996). O ciclo biológico do cascudinho está diretamente relacionado com a temperatura, sendo 31°C considerada a mais adequada para o desenvolvimento das fases imaturas desse inseto com altas taxas de sobrevivência (CHERNAKI; ALMEIDA, 2001).

A presença de *A. diaperinus* nos aviários causa inúmeros prejuízos aos avicultores. Ao se alimentarem de aves mortas ou moribundas é possível que esse inseto atue como vetor e reservatório de microrganismos patogênicos, tais como: bactérias, vírus, fungos e protozoários (MITUNIEWICZ; DZIK, 2020; SUBEKTI; CAHYANINGRUM, 2020). Entre os microrganismos patogênicos de maior importância, cujo *A. diaperinus* é vetor e reservatório, destaca-se as bactérias do gênero *Salmonella*. A *Salmonella* spp. é capaz de causar intoxicações alimentares em humanos e quando constatada a sua presença em lotes de frango,

os mesmos perdem seu valor, gerando prejuízos financeiros ao avicultor (DONOSO *et al.*, 2020).

O cascudinho tem o hábito de fazer galerias para oviposição, isso causa danos nas estruturas dos aviários, como perfurações nas madeiras e no isolamento térmico, visto que isso é crucial para um bom desenvolvimento das aves (HICKMANN *et al.*, 2018). As aves apresentam a tendência de se alimentarem dos insetos, ao invés da ração balanceada, o que causa redução na conversão alimentar nas aves afetando o seu desenvolvimento e refletindo diretamente no ganho do produtor (DESPINS; AXTELL, 1994).

O método mais usado para o controle de *A. diaperinus* é a utilização de inseticidas químicos sintéticos, principalmente à base de piretroides e organofosforados (JAPP *et al.*, 2010; SALIN *et al.*, 2003). Entretanto, essa tática de controle apresenta desvantagens, tais como: intoxicação das aves, ambiente e avicultores; seleção de populações de insetos resistentes e eliminação de inimigos naturais (ALVES *et al.*, 2006; JAPP, 2008; OLIVEIRA, 2009). Destaca-se ainda que a presença de resíduos de pesticidas nas carcaças das aves cria barreiras comerciais para a exportação de carne de frango e, em consequência causa prejuízos financeiros.

Devido os prejuízos econômicos que o cascudinho-dos-aviários causa é importante estabelecer medidas de controle que sejam eficientes e ao mesmo tempo seguras para as aves, homens e ambiente. O uso de produtos provenientes de plantas, tais como os OEs vêm sendo um forte aliado no controle de vários insetos pragas, atuando para a manutenção do equilíbrio do ambiente (PEGORINI *et al.*, 2016).

3.2 Plantas selecionadas para o estudo

3.2.1 Mentha arvensis

Segundo The List Plant Index (2021), essa espécie tem como sinónimas: *Calamintha arvensis* (L.) Garsault e *Mentha parietariifolia* Becker ex Steud.

A espécie *M. arvensis* é uma erva aromática pertencente à família Lamiaceae. É amplamente cultivada na Índia, Japão, Nepal, Bangladesh e Srilanka para uso em aplicações medicinais, OEs e condimentos alimentares (THAWKAR *et al.*, 2016).

Em pesquisa utilizando a base de dados Scopus (2021) constatou-se que não possui estudos relacionados à ação inseticida de *M. arvensis* para o inseto *A. diaperinus*. As sinonímias também foram pesquisadas e, para esse inseto, não foram encontrados trabalhos. Sendo assim, é uma pesquisa inédita visando avaliar o efeito do OE de *M. arvensis* para o controle do cascudinho. Com a busca usando as palavras chave *Mentha arvensis* and insect, foram encontrados 34 documentos publicados.

Pode-se ressaltar alguns trabalhos em que foi estudada a bioatividade de *M. arvensis* para outros insetos da ordem Coleoptera, a saber: *Sitophilus granarius* L. (RENOZ; DEMETER; DEGAND; NICOLIS; LEBBE; MARTIN; LOUIS *et al.*, 2021); *Sitophilus oryzae* L. e *Sitophilus zeamais* Motsch (Coleoptera: Curculionidae) (LEE *et al.*, 2001; ZIMMERMANN *et al.*, 2021); *C. maculatus* (ALVES *et al.*, 2015); *Tribolium castaneum* (MISHRA; TRIPATHI; TRIPATHI, 2012); *C. chinensis* (KUMAR *et al.*, 2009; PANDEY *et al.*, 2011).

3.2.2 *Mentha spicata*

Conhecida popularmente como hortelã, *M. spicata* é muito utilizada na medicina para o tratamento de agentes gastrointestinais, problemas respiratórios, mau hálito e por seus efeitos antiespasmódico, diurético e sedativo (MAHBOUBI, 2021). Trata-se de uma erva perene, cultivada comercialmente em todo o mundo.

De acordo com o The List Plant Index (2021), *M. spicata* não possui sinonímia. Em pesquisa realizada na base de Scopus (2021) observou-se que *M. spicata* não possui estudos com ação inseticida para *A. diaperinus*. Entretanto, a bioatividade para insetos da ordem Coleoptera tem sido reportada, a saber: *C. chinensis* e *C. maculatus* (JAYARAM *et al.*, 2022); *Epicauta atomaria* (Germar) (Coleoptera: Meloidae) (WAGNER; CAMPOS-SOLDINI, 2022) e *Trogoderma granarium* Everts (Coleoptera: Dermestidae) (TAREQ AL-AMERI *et al.*, 2020).

Pode-se mencionar ainda a atividade inseticida de *M. spicata* para insetos de outras ordens: *Reticulitermes dabieshanensis* (L.) (Blattodea: Rhinotermitidae) (YANG *et al.*, 2021); *Ectomyelois ceratoniae* (Z.) (Lepidoptera: Pyralidae), *Ephestia kuehniella* (Z.) (Lepidoptera: Pyralidae) e *Plodia interpunctella* (H.) (Lepidoptera: Pyralidae) (AISSAOUI *et al.*, 2021); *Helicoverpa armigera* (H.) (Lepidoptera: Noctuidae) (BOULAMTAT *et al.*, 2021) e *Culex pipiens* complex (Diptera: Culicidae) (MOHAFRASH *et al.*, 2020).

3.2.3 *Mentha piperita*

Segundo The List Plant Index (2021), essa espécie tem como sinônimas: *Mentha adpersa* (M.), *Mentha aquatica* var. *citrata* (E.), *Mentha aquatica* f. *piperita* (L.), *Mentha balsamea* (W.), *Mentha banatica*, (H.) *Mentha braousiana* (P.), *Mentha canescens* var. *schultzei* (B.), *Mentha citrata* (E.), *Mentha concinna* (P.), *Mentha crispula* (W.), *Mentha durandoana* (M.), *Mentha exaltata* (H.), *Mentha fraseri* (D.), *Mentha glabra* (B.), *Mentha glabrata* (V.), *Mentha hircynica* (R.), *Mentha heuffelii* (H.), *Mentha hircina* (H.), *Mentha hircina* (J.), *Mentha hirtescens* (H.), *Mentha hortensis* (T.), *Mentha hortensis* var. *citrata* dez, *Mentha hudsoniana* (H.), *Mentha kahirina* (F.), *Mentha langii* (G.), *Mentha maximiliana* var. *schultzei* (B.), *Mentha napolitana* (T.), *Mentha nigricans* (M.), *Mentha odora* (S.), *Mentha odorata* (S.), *Mentha officinalis* (H.), *Mentha pimentum* (N.), *Mentha piperoides* (M.) *Mentha schultzei* (B.), *Mentha suaveis* var. *schultzei* (B.) e *Mentha tenuis* (F.).

Conhecida popularmente por hortelã-pimenta, *M. piperita* é nativa da Europa e do Oriente Médio, mas atualmente é cultivada em vários países do mundo. Considera-se que *M. piperita* é uma espécie híbrida que resultou do cruzamento entre *Mentha aquatica* L. (hortelã-água) e *M. spicata* L. (BEYKIA *et al.*, 2014).

De acordo com The List Plant (2021), *M. piperita* possui cerca de 35 sinônimas e dessas 13 possuem trabalhos publicados, são elas: *Mentha aquatica* var. *citrata*; *Mentha aquatica* f. *piperita*; *Mentha* e *canescens*; *Mentha citrata*; *Mentha concinna*; *Mentha exaltata*; *Mentha glabra*; *Mentha glabrata*; *Mentha hircina*; *Mentha maximiliana*; *Mentha nigricans*; *Mentha odora* e *Mentha odorata*. Entretanto, entre as sinônimas, nenhum trabalho foi encontrado referente à bioatividade para *A. diaperinus*.

Apenas um trabalho foi encontrado relatando a atividade inseticida do OE de *M. piperita* para *A. diaperinus*. Nesse estudo, os OEs foram aplicados em papel filtro e após secagem foram inoculados adultos de *A. diaperinus*. Passadas 9 h do contato de *A. diaperinus* com os tratamentos, 100% dos insetos estavam mortos (SUBEKTI, CAHYANINGRUM, 2020).

A atividade inseticida para outros insetos da ordem Coleoptera tem sido relatada, podendo-se citar como exemplos: *C. chinensis* e *C. maculatus* (JAYARAM *et al.*, 2022); *T. granarium* (BORZOU; KHAGHANI; NOURI-GANBALANI, 2021); *Acanthoscelides obtectus* Say (Coleoptera: Bruchidae) (HATEGEKIMANA; ERLER, 2020); *Tribolium castaneum* (H.) (Coleoptera: Tenebrionidae), *Lasioderma serricornis* (F.) (Coleoptera:

Anobiidae) e *Liposcelis bostrychophila* (B.) (Psocoptera: Liposcelididae) (PANG *et al.*, 2020a).

3.3 *Beauveria bassiana* (Bals) Vuill

Os fungos entomopatogênicos habitam naturalmente o solo, e ao atacarem seus hospedeiros podem reduzir a densidade das populações de insetos no ambiente. Entre os fungos entomopatogênicos, destaca-se *B. bassiana*, que além de ocorrer de forma natural, também pode ser introduzido no ambiente para controlar insetos pragas (LITWIN *et al.*, 2021).

Fungos entomopatogênicos infectam os hospedeiros usando estruturas que se fixam na parte externa do inseto, ocorre a germinação sobre o corpo e penetração através da cutícula (OLIVEIRA *et al.*, 2014). Em se tratando especificamente de *B. bassiana*, seu ciclo de vida inclui um estágio patogênico e um estágio de vida livre. No estágio patogênico ocorre a possibilidade de infectar, matar e colonizar o inseto hospedeiro, ao passo que no estágio de vida livre o fungo pode viver no ambiente por muito tempo, até parasitar outro ser vivo (MAISTROU *et al.*, 2020).

Alguns isolados de *B. bassiana* são encontrados naturalmente no solo de aviários de frangos de corte e têm-se mostrado ativos contra *A. diaperinus* (ALVES *et al.*, 2005). Há mais de duas décadas estão sendo desenvolvidas pesquisas sobre a utilização do fungo *B. bassiana* para o controle biológico do cascudinhos-dos-aviários (ALVES *et al.*, 2005; OLIVEIRA *et al.*, 2014; REZENDE *et al.*, 2009; ROHDE *et al.*, 2006).

Estudos buscam também selecionar e avaliar a eficiência de diferentes isolados de *B. bassiana* para o controle de *A. diaperinus*. Pode-se constatar, por exemplo, a alta eficiência de *B. bassiana* isolado UNIOESTE 04 na mortalidade de larvas e adultos de *A. diaperinus*. Esse isolado também apresentou alto crescimento vegetativo (diâmetro médio de 3,8 cm) e alta produção de conídios em placa; produzindo também um número significativo de conídios em cadáveres de larvas e adultos de cascudinhos, com reflexo direto no controle do inseto em campo, pois possibilita a sua transmissão de insetos mortos para insetos sadios em campo. Assim, o isolado UNIOESTE 04 apresentou forte potencial para utilização a campo como medida de manejo do cascudinho (ROHDE *et al.*, 2006).

Ao ser comparado com outros fungos como *Cladosporium* sp. e *Trichoderma* sp., *B. bassiana* causou maior mortalidade em *A. diaperinus*, sendo as larvas mais suscetíveis que os adultos. A mortalidade de larvas iniciou-se no quarto dia após a inoculação mesmo em

concentrações baixas, ao passo que para os adultos a mortalidade deu início no sexto dia e em concentrações mais elevada de conídios (REZENDE *et al.*, 2009).

Não foram encontrados relatos na literatura a respeito da interação do fungo *B. bassiana* com os OEs de *M. arvensis*, *M. spicata* e *M. piperita*, os quais foram empregados no presente estudo.

4 MATERIAL E MÉTODOS

4.1 Produtos utilizados como tratamentos

Os OEs de *M. arvensis*, *M. spicata* e *M. piperita* foram obtidos da empresa Ferquima Ltda (Tabela 1).

Tabela 1 - Nomes científicos, nome INCI (Nomenclatura Internacional de Ingredientes Cosméticos), método de extração e nome comercial dos óleos essenciais empregados nesse estudo.

Nome científico	Nome INCI	Método de extração	Nome comercial do produto
<i>Mentha arvensis</i>	<i>Mentha arvensis</i> Leaf Oil	Destilação a vapor das folhas	Óleo Essencial de <i>Mentha arvensis</i>
<i>Mentha piperita</i>	<i>Mentha piperita</i> Oil	Destilação a vapor das folhas	Óleo Essencial de <i>Mentha piperita</i>
<i>Mentha spicata</i>	<i>Mentha Viridis</i> Leaf Oil	Destilação a vapor das foas	Óleo Essencial de <i>Mentha spicata</i>

Como controle negativo foi empregado o óleo de neem (Óleo Vegetal Neem Puro[®]; teor de azadirachtina: 3000 mg/kg; Destilaria Bauru, Catanduva/SP).

4.2 Caracterização química dos OEs

Foi empregado um cromatógrafo gasoso acoplado a um espectrômetro de massas (modelo QP2010, Shimadzu, Japão), com coluna capilar RTX-5MS (30 m × 0,25 mm ID × 0,25 µm film thickness; Restek).

Os OEs foram diluídos em acetona na concentração de 10 mg mL⁻¹, sendo que 1 µL da solução foi injetado no cromatógrafo gasoso, no qual foi empregado hélio a 1,0 mL min⁻¹ como veículo. As condições seguiram o proposto por Adams (2007), sendo: Split/splitless temperatura: 220 °C; Split razão de injeção: 1:20; temperatura inicial da coluna: 60 °C; taxa de elevação de temperatura da coluna: 2 °C min⁻¹ até 200 °C, após 200 °C a taxa de elevação para 5 °C min⁻¹; temperatura final da coluna: 250 °C; temperatura da interface entre o cromatógrafo e o espectrofotômetro de massa: 220 °C; ionização de moléculas do espectrofotômetro: impacto de elétrons a 70 eV; faixa de massa/carga (m/z) analisada no

espectrofotômetro de massa: 45–400; tempo de aquisição do espectro de massa: 0,5 s. Os componentes foram identificados baseados em comparações com o índice de retenção relativo usando dados de uma série de n-alcenos (C9-C20). Todos os espectros serão comparados com a base NIST 05 Mass Spectral Library 2005; picos com similaridade menor que 90% foram descartados.

4.3 Criação de *A. diaperinus*

Os insetos foram oriundos de criação mantida em condições de laboratório de acordo com metodologia descrita por Rice; Lambkin (2009). Os insetos foram alimentados com dieta constituída de farelo de trigo (76%), ração para frangos de corte (17%) e levedo de cerveja (7%). A dieta foi suplementada com secções de maçã, *in natura*, que foi empregada como fonte de água. Em recipientes plásticos (1000 mL) foi adicionada a dieta (100 g) e aproximadamente 200 adultos não sexados. A cada três dias, os insetos adultos foram dispostos em um novo recipiente com a dieta, de forma a se ter nos recipientes ovos de idade aproximada.

A criação foi mantida em câmara climática à temperatura de $32 \pm 2^\circ\text{C}$, umidade relativa de $70 \pm 10\%$ e fotofase de 12 h.

4.4 Obtenção de *B. bassiana*

O fungo entomopatogênico, *B. bassiana* isolado Unioeste 04, utilizado para os ensaios foi proveniente da Coleção de Fungos Entomopatogênicos do Laboratório de Biotecnologia da Unioeste, campus Cascavel-Paraná.

4.5 BIOENSAIOS

4.5.1 *Screening* da bioatividade de OEs em ensaio de aplicação tópica

O ensaio foi conduzido de acordo com metodologia de Wang et al. (2014). Os OEs (10 mg) foram solubilizados em acetona (100 μL), com auxílio de agitador de tubos do tipo Vortex. Alíquotas (1 μL) da solução resultante foram aplicadas no dorso de larvas de 3º a 4º instares (10-13 dias de idade) com a utilização de microseringa tipo Hamilton®. Após a

aplicação, as larvas foram alocadas individualmente em microtubos do tipo Eppendorf contendo 20 mg de dieta. No controle negativo, as larvas receberam a aplicação de acetona.

O delineamento experimental foi inteiramente casualizado, com 50 repetições por tratamento, sendo cada uma constituída por 1 inseto, mantido individualizado. As avaliações foram realizadas diariamente, durante cinco dias, contando-se o número de insetos vivos e mortos. O ensaio foi repetido em dois dias diferentes.

4.5.2 *Screening* da bioatividade de OEs em ensaio de ingestão

Os ensaios foram conduzidos de acordo com metodologia de GLISZCZYŃSKA et al. (2016) e de SZCZEPANIK et al. (2016), com adaptações. Os OEs (100 mg) foram solubilizados em acetona (1.000 μ L), com auxílio de agitador de tubos do tipo Vortex. As soluções resultantes (1.000 μ L) foram incorporados à dieta (1 g). Após a evaporação do solvente, em capela por 1 h e 30 min, alíquotas da dieta (20 mg), foram transferidas para microtubos do tipo Eppendorf, onde foi inoculada uma larva proveniente da criação, com idade entre 10 e 13 dias (larva de 3^o a 4^o instares).

O delineamento experimental foi inteiramente casualizado, com 50 repetições para cada tratamento, sendo cada repetição constituída por 1 inseto. O controle negativo foi dieta acrescida de acetona. As avaliações foram realizadas 24, 48, 72, 96 e 120 h após o início do bioensaio, pela contagem do número de insetos vivos e mortos. O ensaio foi repetido em dois dias diferentes.

4.5.3 Determinação da dose-resposta dos OEs em ensaio de aplicação tópica

As doses empregadas foram determinadas por meio de progressão aritmética e testes prévios, e o experimento foi conduzido de acordo com a metodologia descrita no subitem 4.5.1.

Foram utilizados os OEs de *M. arvensis*, *M. spicata* e *M. piperita*. As doses aplicadas foram 0; 1; 3,16; 10; 31,62 e 100 μ g de OE/larva. A sobrevivência dos insetos foi avaliada após 24, 48, 72, 96 e 120 h da aplicação dos tratamentos. Para a determinação da resposta dose-mortalidade e estimativa dos valores de DL₅₀ e DL₉₀ foram empregados os dados de sobrevivência dos insetos após 24 h da aplicação dos tratamentos. Ao passo, que os dados de

sobrevivência dos insetos ao longo do tempo foram usados para determinar a construção de curvas de sobrevivência e para estimativa do (TL₅₀).

O controle negativo foi constituído de acetona e o controle positivo correspondeu ao óleo de neem nas doses 0, 5, 7, 12, 20 e 30 µg de OE/larva. Os bioensaios foram repetidos duas vezes em dias diferentes.

4.5.4 Determinação da concentração-resposta dos OEs em ensaio de ingestão

Os OEs foram solubilizados em acetona e incorporados à dieta nas concentrações de 0, 25, 35, 50, 70 e 100 µg de OE/mg de dieta. O experimento foi conduzido de acordo com a metodologia descrita no subitem 4.5.2. O delineamento experimental foi inteiramente casualizado, com 50 repetições para cada tratamento. Os dados referentes à sobrevivência dos insetos após 72 h, do oferecimento da dieta contendo os OEs, foram empregados para a estimativa dos valores de CL₅₀ e CL₉₀. Valores referentes à sobrevivência dos insetos ao longo do tempo (24, 48, 72, 96 e 120 h após a montagem do bioensaio) foram empregados para a construção de curvas de sobrevivência e estimativa do TL₅₀. Como controle positivo foi utilizado óleo de neem nas concentrações de 0, 25, 50, 100, 230 e 500 µg de OE/mg de dieta.

4.6 Toxicidade dos compostos majoritários dos OEs de *Mentha* spp. para *A. diaperinus*

Os compostos majoritários dos OEs foram adquiridos comercialmente e tiveram a bioatividade avaliada para *A. diaperinus*. A análise cromatográfica empregada (subitem 4.2) não permitiu a identificação de isômeros. Assim para cada composto majoritário foi avaliada a toxicidade de seus isômeros D e L.

Os ensaios foram conduzidos como descrito previamente (4.5.1 e 4.5.2), com vistas a avaliar a toxicidade em ensaio de aplicação tópica e ingestão. O controle negativo foi constituído de acetona.

No bioensaio de aplicação tópica os tratamentos e as doses testadas foram: acetona, *M. arvensis* (100 µg de OE/larva), *M. spicata* (100 µg de OE/larva), *M. piperita* (100 µg de OE/larva), D-carvona (80 µg de OE/larva), L-carvona (80 µg de OE/larva), D-menthol (50 µg de OE/larva) e L-menthol (50 µg de OE/larva). Ao passo que para o ensaio de aplicação via ingestão os tratamentos e concentrações empregadas foram: acetona, *M. arvensis* (100 µg de OE/mg de dieta), *M. spicata* (100 µg de OE/mg de dieta), *M. piperita* (100 µg de OE/mg de

dieta), D-carvona (80 µg de OE/mg de dieta), L-carvona (80 µg de OE/mg de dieta), D-menthol (50 µg de OE/mg de dieta) e L-menthol (50 µg de OE/mg de dieta).

Para a determinação das doses e concentrações a serem testadas foi usada como padrão o valor máximo de dose ou concentração avaliada no ensaio de screening. A concentração empregada foi determinada por meio da análise quantitativa por CG-EM e a pureza dos compostos majoritários, sendo usada a seguinte fórmula:

$$CST = COE \times TCM (\%).$$

Onde: CST é a concentração a ser testada; COE: concentração do OE; TCM: teor do composto majoritário presente no óleo em porcentagem.

4.7 Análise da interação dos OEs para organismo não-alvo, o fungo *B. bassiana*

Foi utilizado o fungo *B. bassiana* isolado Unioeste 04, selecionado previamente como virulento contra larvas e adultos do cascudinho e ainda com elevada produtividade em meio de cultura e em fermentação sólida (arroz) (ROHDE *et al.*, 2006).

Foram testados OEs das plantas *M. arvensis*, *M. spicata* e *M. piperita*. Os OEs foram avaliados na concentração de 100 mg solubilizados em 1000 µL de Solução aquosa Tween 80 (0,01%). A testemunha negativa foi água destilada esterilizada + Tween 80 (0,01%).

A interação dos produtos e o fungo foram avaliados com base nos parâmetros biológicos: germinação (OLIVEIRA *et al.*, 2015), crescimento vegetativo (SILVA; NEVES, 2005) e a produção de conídios (ROSSI-ZALAF *et al.*, 2008), conforme como segue:

4.7.1 Germinação

Placas Rodac[®] contendo meio de cultura Batata-dextrose-água (BDA) foram inoculadas com 150 µL da suspensão do fungo ($1,0 \times 10^7$ conídios/mL), aplicados com um pipetador automático no centro da placa. Após leve agitação para distribuir a suspensão na superfície do meio, foi feita a pulverização de 300 µL dos produtos com um micropulverizador acoplado a um compressor de ar, sob pressão constante de 12 kgf/cm².

As placas foram incubadas por 18-24 h em $26 \pm 0,5$ °C; 12 h de fotofase e após este período foi feita a contagem do número de conídios germinados e não-germinados sob

microscópio óptico (aumento de 400×), focando-se diretamente quatro campos no centro de cada placa, totalizando-se quatro contagens com aproximadamente 200 conídios em média/quadrante. Foram considerados germinados (viáveis) os conídios que apresentaram o tubo germinativo com o comprimento igual ou maior do que o diâmetro, foram realizadas 5 repetições por tratamento.

4.7.2 Crescimento vegetativo

Foram preparadas placas de Petri com meio BDA esterilizado. O fungo Unioeste 04 foi inoculado com uma alça de platina em três pontos equidistantes entre si, na superfície do meio de cultura. Após 48 h de incubação sob 25 ± 2 °C e fotofase de 12 h, as placas foram pulverizadas com os produtos com um micropulverizador acoplado a um compressor de ar, sob pressão constante de 12 Kgf/cm².

As placas foram incubadas a 25 ± 2 °C e fotofase de 12 h, durante sete dias. Foram realizadas 6 repetições. Após este período foi realizada a medida do diâmetro das colônias, em dois sentidos perpendiculares utilizando uma régua, em pelo menos duas colônias mais uniformes de cada placa, tendo-se assim o diâmetro médio de colônias.

4.7.3 Produção de conídios

Após a avaliação do crescimento vegetativo, duas colônias de cada uma das placas foram recortadas e transferidas individualmente para tubos de vidro estéril, onde foram adicionados 10 mL de água destilada com Tween 80® a 0,01% para agitação. Em seguida, foram realizadas diluições e feita a contagem dos conídios em câmara de Neubauer em microscópio óptico, foram realizadas 5 repetições por tratamento.

A interação entre o produto e o fungo foi analisada com base no cálculo da toxicidade, segundo a fórmula: $IB=47[CV]+43[ESP]+10[GER]100$, onde: IB = índice biológico; CV = porcentagem de crescimento vegetativo em relação à testemunha; ESP = porcentagem de produção de conídios nas colônias em relação à testemunha; GER = porcentagem de germinação, sendo $IB > 66$ compatível; moderadamente tóxico $42 < IB < 66$ e tóxico $IB < 42$ (0–41) (Rossi-Zalaf *et al.*, 2008).

5 ANÁLISE ESTATÍSTICA

Os dados referentes aos ensaios repetidos duas vezes em dias diferentes foram submetidos ao teste de Bartlett, previamente a análise conjunta dos resultados. Para a construção das curvas de sobrevivência dos insetos ao longo do tempo (subitens 4.5.1, 4.5.2, 4.5.3 e 4.5.4) os dados foram analisados por meio do estimador não paramétrico de Kaplan–Meier e submetidos ao teste de log-rank usando pacote survival (THERNEAU, 2013). As curvas de sobrevivência foram comparadas pelo teste de comparação múltipla de pairwise.

Para a determinação da resposta dose e concentração-mortalidade (subitens 4.5.3 e 4.5.4) os dados referentes à mortalidade dos insetos após 24 e 72 h foram usados para a estimativa dos valores de DL₅₀ (dose letal mediana), DL₉₀ (dose letal para 90% da população), CL₅₀ (concentração letal mediana) e CL₉₀ (concentração letal para 90% da população). Para o cálculo das doses letais para a população foi empregada a fórmula:

$$f(x)=1/1+\exp(b(\log(x)-\log(e))),$$

onde “b” e “e” = coeficientes da equação

Para todos os dados de interação com o fungo, verificou-se a hipótese de normalidade pelo teste de Shapiro Wilk, sendo os dados analisados quanto à variância (ANOVA) e as médias comparadas entre si pelo teste de Tukey (P<0,05).

6 RESULTADOS

6.1 Caracterização química dos OEs

O composto majoritário presente nos OEs *M. arvensis* e *M. piperita* foi o mentol, nas proporções de 50,42 e 45,78%. Ao passo que em *M. spicata* encontrou-se grande proporção da carvona (81,19%) (Tabela 2).

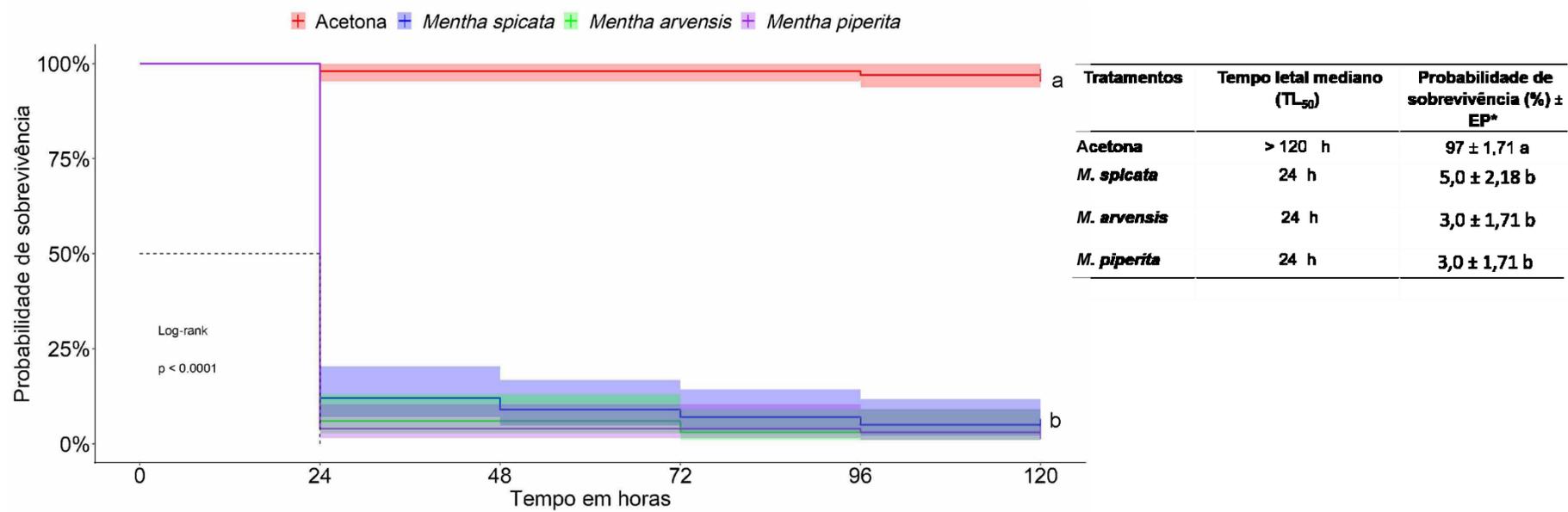
Tabela 2. Caracterização química dos óleos essenciais provenientes de *Mentha* spp.

RT min*	Area %	Nome IUPAC	CAS	Nome Simplificado	Probabilidade	Fórmula Molecular	IR(Calc)**	IR(Adams)***
<i>Mentha arvensis</i>								
8,949	1,90	1-methyl-4-prop-1-en-2-ylcyclohexene	138-86-3	Limonene	94	C10H16	1030	1024
14,615	1,38	(1R,2S,5R)-5-methyl-2-prop-1-en-2-ylcyclohexan-1-ol	89-79-2	Isopulegol	96	C10H18O	1146	1145
15,113	18,87	(2S,5R)-5-methyl-2-propan-2-ylcyclohexan-1-one	89-80-5	Menthone	97	C10H18O	1155	1148
15,676	15,88	5-methyl-2-propan-2-ylcyclohexan-1-one	491-07-6	Menthone <iso->	96	C10H18O	1165	1158
16,305	50,42	5-methyl-2-propan-2-ylcyclohexan-1-ol	1490-04-6	Menthol	97	C10H20O	1177	1167
16,776	0,94	(1R,2S,5S)-5-methyl-2-propan-2-ylcyclohexan-1-ol	3623-52-7	Menthol <iso->	95	C10H20O	1178	1179
<i>Mentha spicata</i>								
8,951	11,72	1-methyl-4-prop-1-en-2-ylcyclohexene	138-86-3	Limonene	95	C10H16	1030	1024
16,160	1,27	5-methyl-2-propan-2-ylcyclohexan-1-ol	1490-04-6	Menthol	95	C10H20O	1177	1167
20,413	81,19	2-methyl-5-prop-1-en-2-ylcyclohex-2-en-1-one	99-49-0	Carvone	97	C10H14O	1247	1239
<i>Mentha piperita</i>								
15,128	23,63	(2S,5R)-5-methyl-2-propan-2-ylcyclohexan-1-one	89-80-5	Menthone	97	C10H18O	1155	1148
15,727	9,87	(2R,5R)-5-methyl-2-propan-2-ylcyclohexan-1-ol	491-01-0	Menthol <neo->	93	C10H18O	1165	1158
16,292	45,78	5-methyl-2-propan-2-ylcyclohexan-1-ol	1490-04-6	Menthol	97	C10H20O	1176	1167
23,437	8,19	(5-methyl-2-propan-2-ylcyclohexyl) acetate	89-48-5	Methyl Acetate	97	C12H22O2	1296	1294
16,776	0,94	(1R,2S,5S)-5-methyl-2-propan-2-ylcyclohexan-1-ol	3623-52-7	Menthol <iso->	95	C10H20O	1178	1179
		** Índice de retenção calculado;			*** Índice de retenção Adams			

6.2 *Screening* da bioatividade de OEs em ensaio de aplicação tópica

Os OEs de *M. arvensis*, *M. piperita* e *M. spicata* causaram alta taxa de mortalidade para *A. diaperinus* ($\chi^2 = 344$; $df = 3$; $p \leq 0,001$), sendo o tempo necessário para causar mortalidade em 50% da população (TL₅₀) de 24 h. Houve sobreposição entre os intervalos de confiança das larvas tratadas com os OEs, as probabilidades de sobrevivência variaram entre 3 a 5% (Gráfico 1).

Gráfico 1 - Análise de sobrevivência de larvas de *Alphitobius diaperinus* após aplicação tópica de óleos essenciais de *Mentha arvensis*, *Mentha piperita* e *Mentha spicata* na dose de 100 µg OE/larva.

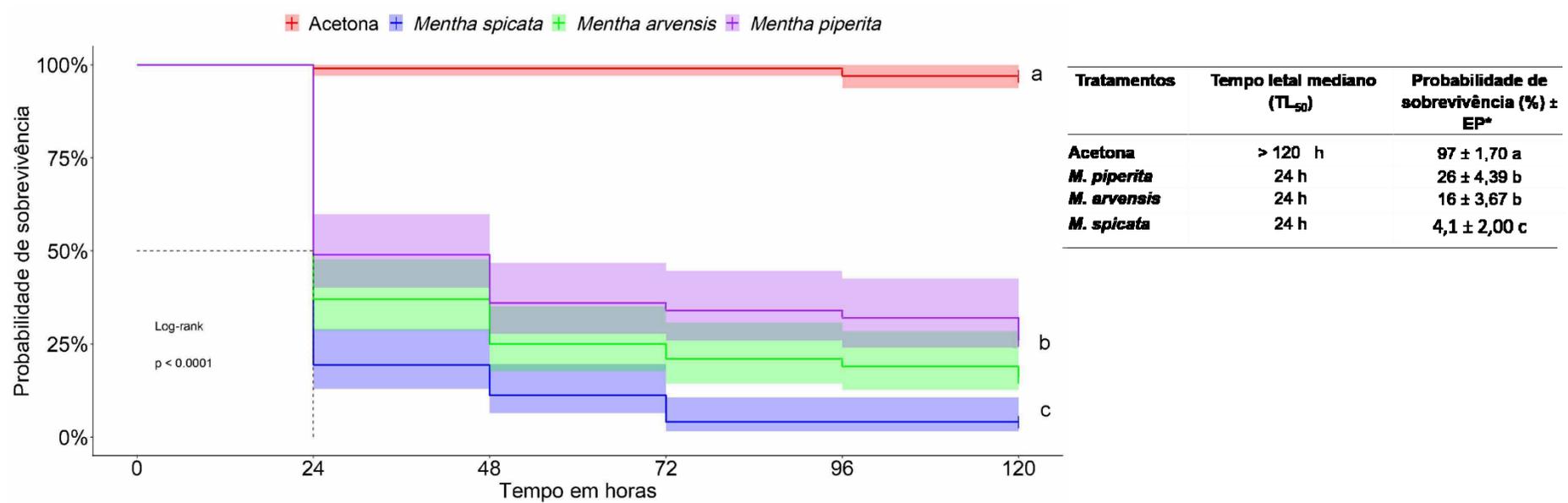


*EP=Erro padrão; Médias seguidas de mesma letra não diferem pelo teste de comparação múltipla de parwise.

6.3 *Screening* da bioatividade de OEs em ensaio de ingestão

Constatou-se diferença significativa na sobrevivência das larvas, as quais foram oferecidas a dieta contendo os OEs de *M. arvensis*, *M. piperita* e *M. spicata* ($\chi^2 = 223$; $df = 3$; $p \leq 0,001$). O OE de *M. spicata* foi o mais tóxico com probabilidade de sobrevivência de 4,08 %. As larvas apresentaram TL_{50} menor de que 24 h para todos os OEs testados, todavia para os tratamentos com os OEs de *M. arvensis* e *M. piperita* as probabilidades de sobrevivência foram de 16 e 26% (Gráfico 2).

Gráfico 2 - Análise de sobrevivência de larvas de *Alphitobius diaperinus* após ingestão de dieta contendo óleos essenciais de *Mentha arvensis*, *Mentha piperita* e *Mentha spicata*, na concentração de 100 µg de OE/mg de dieta.



*EP=Erro padrão; Médias seguidas de mesma letra não diferem pelo teste de comparação múltipla de pairwise.

6.4 Determinação da dose-resposta dos OEs em ensaio de aplicação tópica

Entre os OEs avaliados nesse estudo, o OE de *M. arvensis* e *M. piperita* foram os mais tóxicos, com DL₅₀ de $26,53 \pm 2,5407$ e $32,20 \pm 2,6152$ µg de OE/larva, respectivamente. O OE de *M. spicata* diferiu dos demais, causando DL₅₀ com $45,44 \pm 3,4366$ µg de OE/larva. O controle positivo, óleo de neem, foi o tratamento mais tóxico com DL₅₀ de $8,45 \pm 0,3260$ µg de OE/larva (Tabela 3; Material suplementar – Gráfico1).

Tabela 3 - Resposta dose-mortalidade de larvas de *Alphitobius diaperinus* tratadas com os óleos essenciais de *Mentha piperita*, *Mentha spicata*, *Mentha arvensis* e o óleo de neem.

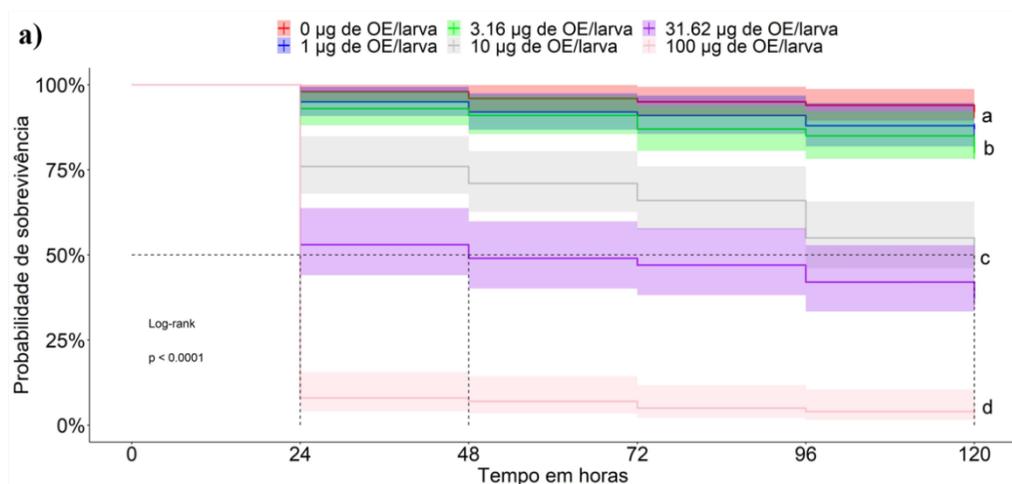
Tratamento	df	χ^2	p	b*	e*	DL ₅₀ (µg/µL)	DL ₉₀ (µg/µL)
<i>M. piperita</i>	497	2232,1	0	-1,82 ± 0,1694	32,20 ± 2,6152	32,20 ± 2,6152 (LI = 27,08; LS = 37,33) b	107,16 ± 15,455 (LI = 76,86; LS = 137,452) a
<i>M. spicata</i>	498	420,4	0	-2,14 ± 0,2154	45,44 ± 3,4366	45,44 ± 3,4366 (LI = 38,71; LS = 52,18) a	126,46 ± 17,121 (LI = 92,90; LS=160,01) a
<i>M. arvensis</i>	498	642,1	0	-1,37 ± 0,1201	26,53 ± 2,540	26,53 ± 2,5408 (LI = 21,55; LS= 31,51) b	130,99 ± 23,652 (LI = 84,64; LS = 177,35) a
Neem	498	459,84	0,8	-3,37 ± 0,28596	8,45 ± 0,3260	8,45 ± 0,3260 (LI = 7,81; LS = 9,09) c	16,22 ± 1,06 (LI = 1413; LS = 18,30) b

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

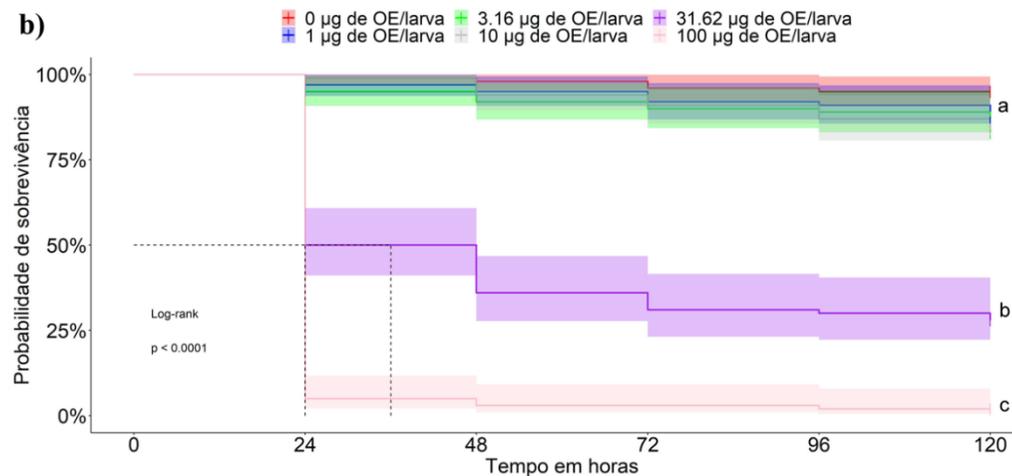
A mortalidade das larvas de *A. diaperinus*, ao longo do tempo, submetidas à aplicação tópica dos OEs de *M. arvensis* ($\chi^2 = 332$; gl = 5; $p = \leq 0,001$), *M. piperita* ($\chi^2 = 454$; gl = 5; $p = \leq 0,001$), *M. spicata* ($\chi^2 = 310$; gl = 5; $p \leq 0,001$) e o controle positivo, óleo de neem, ($X^2 = 371$; df = 5; $p < 0,00$) foi dependente das doses aplicadas. Na dose de 10 μg de OE/larva, o OE de *M. arvensis* foi o único que acarretou TL_{50} de 120 h nas larvas. Em se tratando dos demais OEs a dose de 10 μg de OE/larva causou $\text{TL}_{50} > 120$ h. Nas maiores doses testadas (31,62 μg de OE/larva e 100 μg de OE/larva) os TL_{50} foram de: 120 h e 24 h; 36 h e 24 h; 24 h e 24 h, respectivamente, para os OEs de *M. arvensis*, *M. piperita* e *M. spicata* (Gráfico 3).

OE de *M. spicata* foi o único capaz de reduzir probabilidade de sobrevivência das larvas na dose de 3,16 μg de OE/larva. A menor dose capaz de reduzir a sobrevivência dos insetos tratados com o OE de *M. piperita* foi a de 31,62 μg de OE/larva, ao passo que para *M. arvensis*, doses acima de 10 μg de OE/larva causaram redução na probabilidade de sobrevivência. No que se refere ao controle negativo, óleo de neem, a menor dose avaliada (5 μg de OE/larva) já foi capaz de causar mortalidade nos insetos. As larvas que receberam a aplicação tópica do óleo de neem nas doses de 12, 20 e 30 μg de OE/larva apresentaram probabilidade de sobrevivência de 9,18; 2,17 e 0%, respectivamente (Gráfico 3).

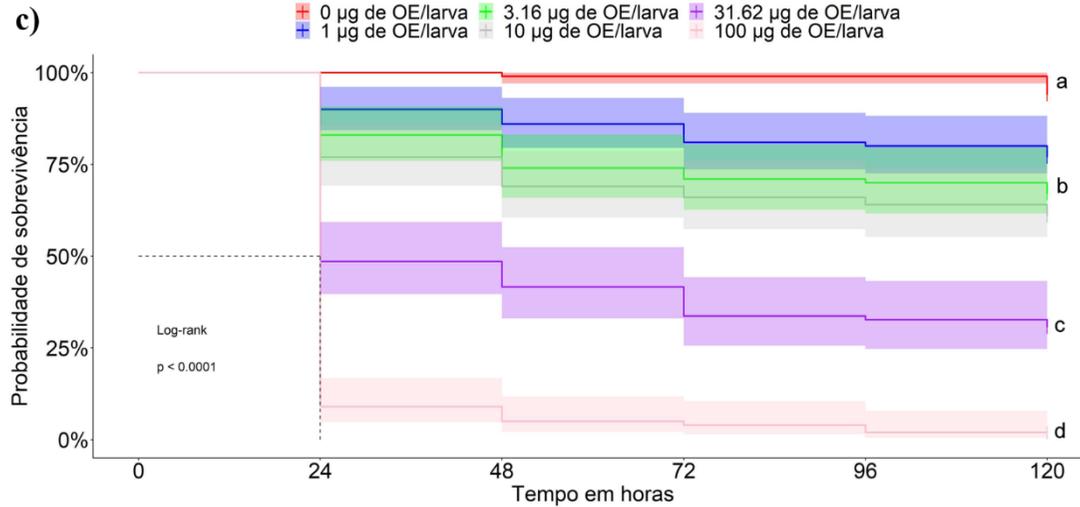
Gráfico 3 - Análise de sobrevivência e tempo letal médio de larvas de *Alphitobius diaperinus* após aplicação tópica de diferentes doses dos óleos essenciais de *Mentha arvensis* (a), *Mentha piperita* (b), (c) *Mentha spicata* e (d) óleo de neem.



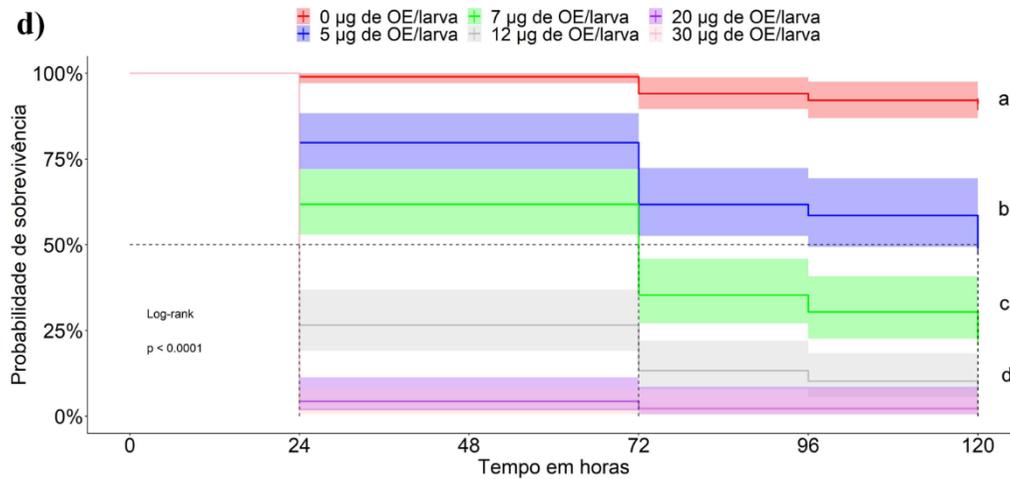
Tratamentos (µg de OE/larva)	Tempo letal mediano (TL ₅₀)	Probabilidade de sobrevivência (%) ± EP*
0	> 120 h	92 ± 2,71 a
1	> 120 h	87 ± 3,36 a
3,16	> 120 h	80 ± 4,00 a
10	120 h	48 ± 5,00 b
31,62	120 h	37 ± 4,83 c
100	24	4 ± 1,96 d



Tratamentos (µg de OE/larva)	Tempo letal mediano (TL ₅₀)	Probabilidade de sobrevivência (%) ± EP*
0	>120 h	95 ± 2,17 a
1	>120 h	86 ± 3,47 a
3,16	>120 h	83 ± 3,76 a
10	>120 h	84 ± 3,66 a
31,62	36 h	28 ± 4,49 b
100	24 h	2 ± 1,40 c



Tratamentos (µg de OE/larva)	Tempo letal mediano (TL ₅₀)	Probabilidade de sobrevivência (%) ± EP*
0	> 120 h	94 ± 2,37 a
1	> 120 h	77 ± 4,2 b
3,16	> 120 h	67 ± 4,70 b
10	> 120 h	61 ± 4,88 b
31,62	24	30,7 ± 4,59 c
100	24	2 ± 1,40 d



Tratamentos (µg de OE/larva)	Tempo letal mediano (TL ₅₀)	Probabilidade de sobrevivência (%) ± EP*
0	> 120 h	91,1 ± 2,83 a
5	120 h	48,9 ± 5,16 b
7	72 h	22,5 ± 4,14 c
12	24 h	9,18 ± 2,92 d
20	24 h	2,17 ± 1,52 d
30	24 h	0

6.5 Determinação da concentração-resposta dos OEs em ensaio de ingestão

Os OEs estudados nesse trabalho foram mais tóxicos para larvas de *A. diaperinus* do que o OE de neem. No que se refere aos valores de CL_{50} , a toxicidade dos OEs de *M. arvensis*, *M. piperita* e *M. spicata* foi 1,95; 3,74 e 2,38 vezes menores do que a do controle positivo, óleo de neem (Tabela 4; Material suplementar – Gráfico 2).

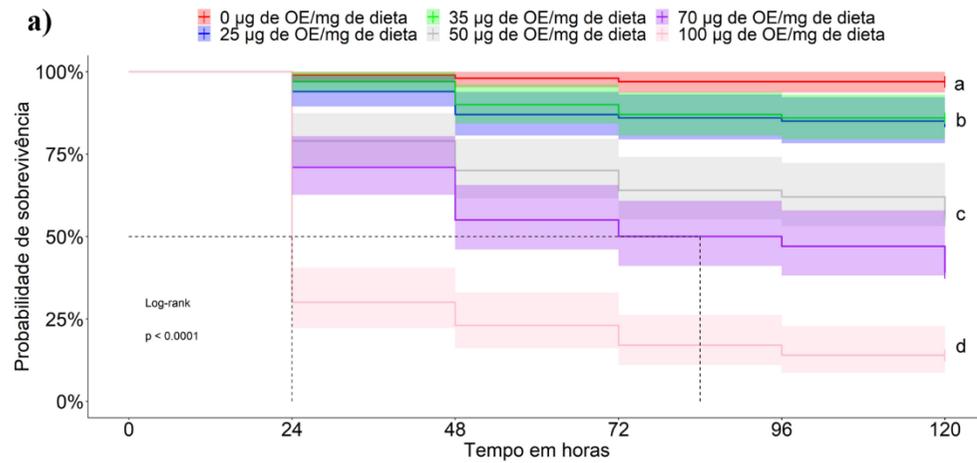
Tabela 4 - Resposta concentração-mortalidade *Alphitobius diaperinus* tratados com os óleos essenciais de *Mentha piperita*, *Mentha spicata*, *Mentha arvensis* e óleo de neem. UTFPR, Campus Santa Helena – PR, 2021.

Tratamento	df	χ^2	p	b*	e*	CL ₅₀ (µg/µL)	CL ₉₀ (µg/µL)
<i>M. arvensis</i>	499	523,19	0,2193	-2,68 ± 0,2572	63,59 ± 2,650	63,59 ± 2,6502 (LI = 58,39; LS = 68,7878) b	144,20 ± 14,142 (LI = 116,48; LS = 171,91) c
<i>M. piperita</i>	500	500	0,4915	-1,91 ± 0,2178	58,69 ± 3,1266	33,06 ± 2,4397 (LI = 28,28; LS=37,84) d	184,90 ± 28,16 (LI = 156,74; LS = 213,06) b
<i>M. spicata</i>	498	497,36	0,4997	-1,94 ± 0,2178	52,08 ± 2,6517	52,08 ± 2,6517 (LI = 46,88; LS = 57,27) c	161,10 ± 22,45 (LI = 117,08; LS = 205,11) c
Neem	498	887,61	0,531	-3,23 ± 0,2843	123,83 ± 6,1424	123,83 ± 6,1425 (LI = 111,79; LS = 135,87) a	244,12 ± 19,76 (LI = 205,38; LS = 282,86) a

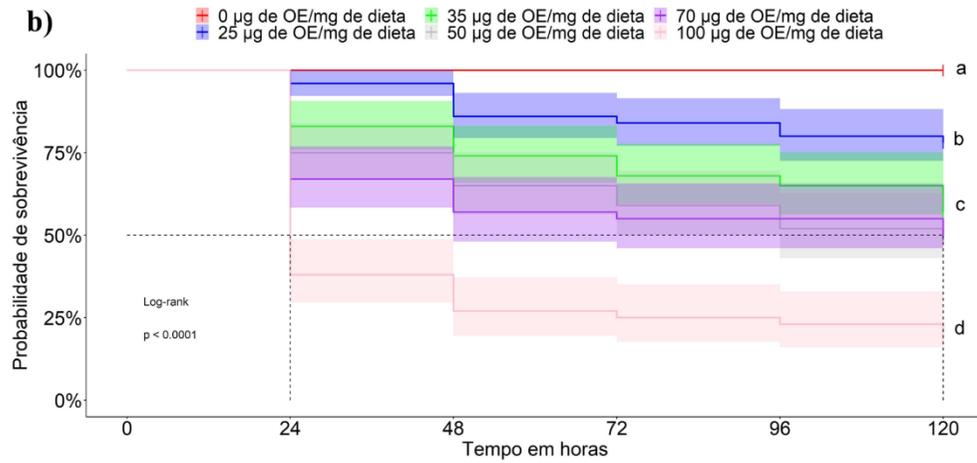
No que diz respeito à análise de sobrevivência, houve redução na probabilidade de sobrevivência e no TL_{50} dos insetos conforme aumento da concentração dos OEs de *M. arvensis* ($\chi^2 = 281$; $gl = 5$; $p \leq 0,001$), *M. piperita* ($\chi^2 = 180$; $gl = 5$; $p \leq 0,001$) e *M. spicata* ($\chi^2 = 214$; $df = 5$; $p = <2e-16$) na dieta ofertada para *A. diaperinus*. O mesmo comportamento, dependente da concentração utilizada, foi constatado para o OE de neem ($\chi^2 = 368$; $gl = 5$; $p \leq 0,001$) (Gráfico 4).

Todos os OEs foram mais tóxicos para *A. diaperinus* do que o óleo de neem. O óleo de neem reduziu a probabilidade de sobrevivência dos insetos apenas na concentração de 100 μ g de OE/mg de dieta (50%), ao passo que para os OEs de *M. arvensis*, *M. piperita* e *M. spicata* (100 μ g de OE/mg de dieta) causaram probabilidades de sobrevivências de 14; 20 e 14%, respectivamente (Gráfico 4).

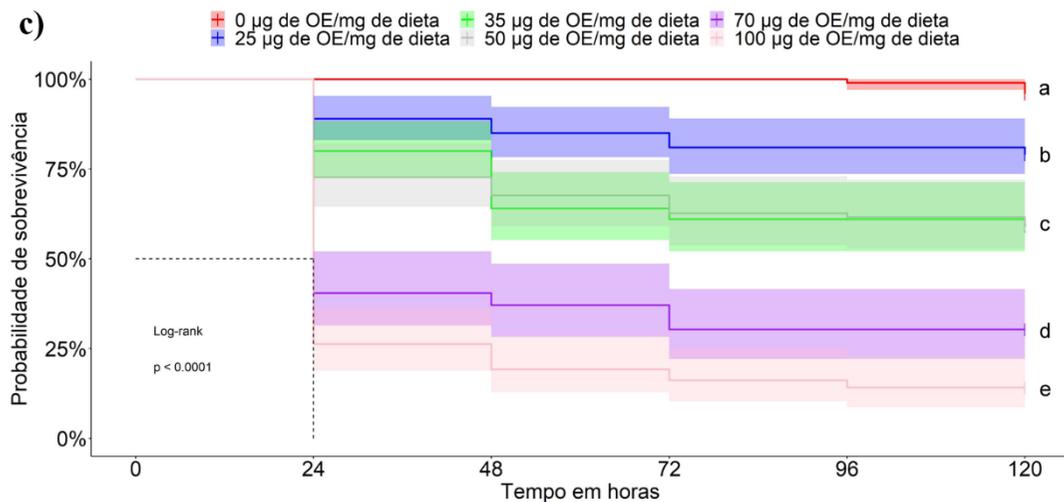
Gráfico 4 - Tempo letal médio e análise de sobrevivência de larvas de *Alphitobius diaperinus* 120 horas após oferecimento de dieta contendo diferentes concentrações dos óleos essenciais de *Mentha arvensis* (a), *Mentha piperita* (b), (c) *Mentha spicata* e (d) óleo de neem.



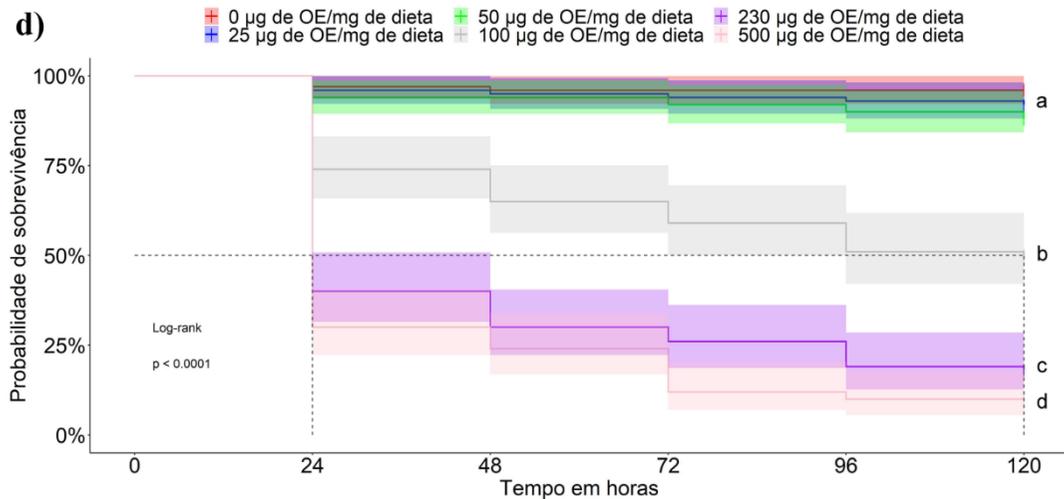
Tratamentos (µg de OE/mg de dieta)	Tempo letal mediano (TL ₅₀)	Probabilidade de sobrevivência (%) ± EP*
0	> 120 h	97 ± 1,70 a
25	> 120 h	85 ± 3,57 b
35	> 120 h	86 ± 3,47 b
50	> 120 h	55 ± 4,97 c
70	84 h	39 ± 4,88 c
100	24 h	14 ± 3,47) d



Tratamentos (µg de OE/mg de dieta)	Tempo letal mediano (TL ₅₀)	Probabilidade de sobrevivência (%) ± EP*
0	> 120 h	100 ± 0 a
25	> 120 h	78 ± 4,14 b
35	> 120 h	57 ± 4,95 c
50	120 h	49 ± 5,00 c
70	120 h	50 ± 5,00 c
100	24 h	20 ± 4,00 d



Tratamentos (µg de OE/mg de dieta)	Tempo letal mediano (TL ₅₀)	Probabilidade de sobrevivência (%) ± EP*
0	> 120 h	96 ± 1,96 a
25	> 120 h	79 ± 4,07 b
35	> 120 h	59 ± 4,92 c
50	> 120 h	59,6 ± 4,93 c
70	24 h	30,3 ± 4,87 d
100	24 h	14,1 ± 3,50 e

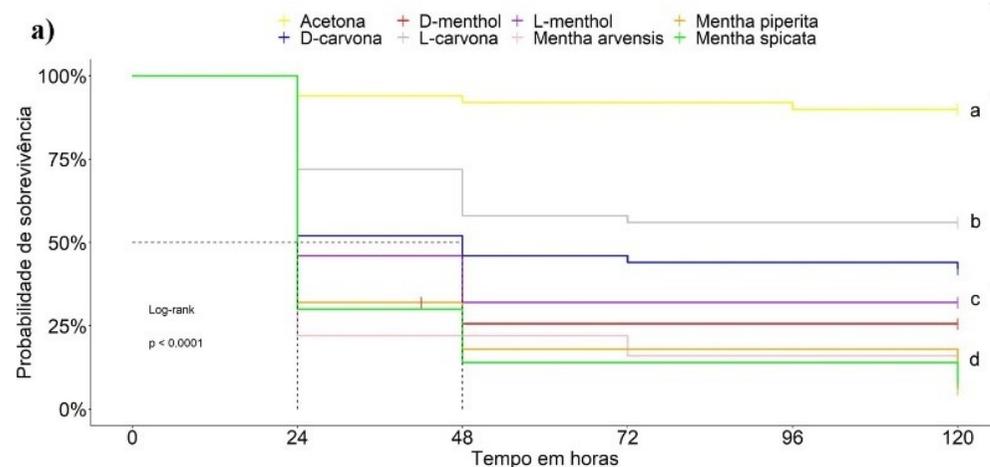


Tratamentos (µg de OE/mg de dieta)	Tempo letal mediano (TL ₅₀)	Probabilidade de sobrevivência (%) ± EP*
0	> 120 h	96 ± 1,96 a
25	> 120 h	92 ± 2,71 a
50	> 120 h	88 ± 3,25 a
100	120 h	50 ± 5,00 b
230	24 h	18 ± 3,84 c
500	24 h	10 ± 3,00 d

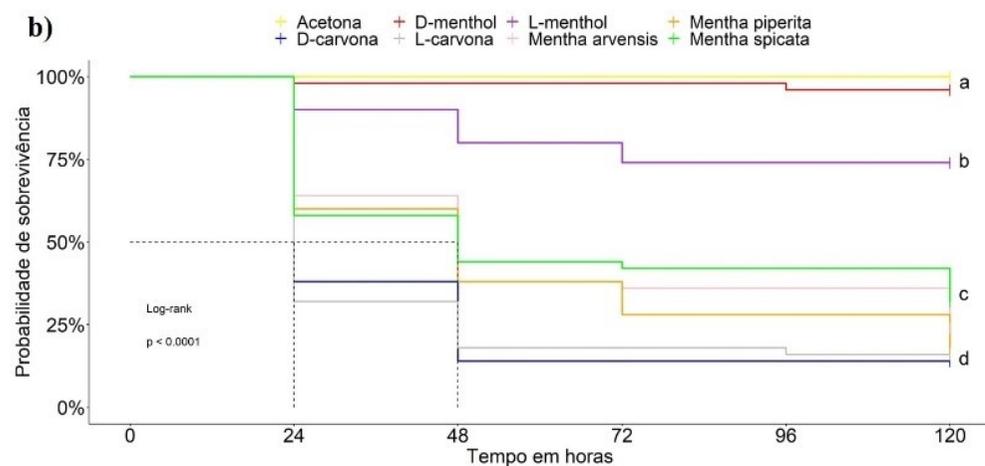
6.6 Toxicidade dos compostos majoritários dos OEs de *Mentha* spp. para *A. diaperinus*

No ensaio de aplicação tópica os OEs de *M. arvensis* e *M. spicata* foram mais tóxicos do que seus compostos majoritários ($\chi^2 = 308$; gl = 7; $p \leq 0,001$). Não houve diferença estatística entre o OE de *M. piperita* e os isômeros D e L-carvona (Gráfico 5a). Ressalta-se que no ensaio de ingestão, o composto D-mentol foi o que apresentou maior toxicidade para os insetos ($\chi^2 = 378$; gl = 7; $p \leq 0,001$) (Gráfico 5b).

Gráfico 5 - Análise de sobrevivência de larvas de *Alphitobius diaperinus*, (a) em ensaio de aplicação tópica e de (b) ingestão com os compostos majoritários dos óleos essenciais de *Mentha arvensis*, *Mentha piperita* e *Mentha spicata*.



Tratamentos	Tempo letal mediano (TL ₅₀)	Probabilidade de sobrevivência (%) ± EP*
Acetona	> 120 h	90 ± 4,24 a
L-carvona	> 120 h	56 ± 7,02 b
D-carvona	48 h	42 ± 6,98 c
L-menthol	24 h	32 ± 6,60 c
D-menthol	24 h	25,6 ± 6,23 c
<i>M. piperita</i>	24 h	6 ± 3,36 d
<i>M. arvensis</i>	24 h	8 ± 3,84 d
<i>M. spicata</i>	24 h	8 ± 3,84 d



Tratamentos	Tempo letal mediano (TL ₅₀)	Probabilidade de sobrevivência (%) ± EP*
Acetona	> 120 h	100 ± 0 a
D-menthol	> 120 h	96 ± 2,77 a
L-menthol	> 120 h	74 ± 6,20 b
<i>M. spicata</i>	48 h	32 ± 6,60 c
<i>M. arvensis</i>	48 h	24 ± 6,04 c
<i>M. piperita</i>	48 h	18 ± 5,43 c
L-carvona	24 h	16 ± 5,18 d
D-carvona	24 h	14 ± 4,91 d

6.7 Análise da interação dos OEs para organismo não-alvo, o fungo *B. bassiana*

Ao se avaliar a interação dos OEs de *M. arvensis*, *M. piperita* e *M. spicata* (100 mg solubilizados em 1000 µL de meio de cultura) com o fungo entomopatogênico *B. bassiana*, constatou-se que não houve diferença para os parâmetros germinação de conídios, crescimento vegetativo e número de conídios/colônia. De acordo com os valores dos índices de biológicos, os OEs estudados nesse trabalho são compatíveis com *B. bassiana* (Tabela 5).

Tabela 5 - Parâmetros biológicos e Índice Biológico de Toxicidade para o fungo *Beauveria bassiana*, em interação com os óleos essenciais de *Mentha arvensis*, *Mentha spicata* e *Mentha piperita*.

Tratamento	Germinação de Conídios (%)	Crescimento Vegetativo (cm ²)	Conídios/colônia (×10 ⁷)	Índice Biológico
Testemunha	88,1	35,9	7,6 x 10 ⁷	-
<i>M. arvensis</i>	83,2	31,8	5,0 x 10 ⁷	80,8 (C)
<i>M. spicata</i>	80,7	34,9	8,4 x 10 ⁷	100,0 (C)
<i>M. piperita</i>	79,9	30,4	6,2 x 10 ⁷	86,3 (C)

*O índice Biológico foi calculado usando o percentual de cada variável, em relação a testemunha (Rossi-Zalaf et al., 2008).

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

7 DISCUSSÃO

Os OEs provenientes de *M. arvensis*, *M. piperita* e *M. spicata* apresentam grande potencial para serem usados no controle de *A. diaperinus*, pois foram tóxicos para esse inseto, em ensaio de aplicação tópica e ingestão. O que está de acordo com outros estudos, os quais relataram a toxicidade de plantas da família Lamiaceae para *A. diaperinus* (PERCIO *et al.*, 2013; SUBEKTI, CAHYANINGRUM, 2020). O potencial desses OEs pode ser destacado ainda pelo fato de terem sido mais bioativos para *A. diaperinus* do que o óleo de neem, em ensaio de ingestão. O óleo de neem foi escolhido como controle positivo pois é relatado por ser tóxico para *A. diaperinus* (MARQUES *et al.*, 2013; WALLDORF *et al.*, 2012), além disso trata-se do pesticida botânico de maior sucesso em uso agrícola em todo o mundo (KILANI-MORAKCHI; MORAKCHI-GOUDJIL; SIFI, 2021).

Esse é o primeiro relato da toxicidade dos OEs de *M. arvensis* e *M. spicata* para *A. diaperinus*. Entretanto existem estudos que relataram a bioatividade de *M. arvensis* para outros insetos da ordem Coleoptera, tais como: *Sitophilus zeamais* Motsch, *Sitophilus oryzae* (L.) (Coleoptera: Curculionidae) (ZIMMERMANN *et al.*, 2021), *Tribolium castaneum* (Coleoptera: Tenebrionidae) (MISHRA *et al.*, 2014), entre outros. O OE de *M. arvensis* ainda mostrou bons resultados diminuindo a eclosão de larvas e a atividade alimentar de escaravelhos (PANDEY *et al.*, 2011). Quanto ao modo de ação de *M. arvensis* para coleópteros pode-se mencionar que em ensaio de contato empregando adultos de *Sitophilus granarius* L. (Coleoptera: Curculionidae), verificou-se que os insetos expressaram diferentemente proteínas relacionadas ao desenvolvimento e funcionamento dos sistemas muscular e nervoso, respiração celular, síntese proteica e desintoxicação (RENOZ; DEMETER; DEGAND; NICOLIS; LEBBE; MARTIN; DENEUBOURG; *et al.*, 2021)

Em relação ao OE de *M. spicata*, trabalhos realizados com outros coleópteros mostraram a sua atividade inseticida contra: *Rhyzopertha dominica* (Coleoptera: Bostrychidae) (WICOCHEA-RODRÍGUEZ *et al.*, 2021), *Trogoderma granarium* (E.) (Coleoptera: Dermestidae) (TAREQ AL-AMERI *et al.*, 2020), *Rhyzopertha dominica* F. (Coleoptera: Bostrychidae) (SOUZA *et al.*, 2016), entre outros. Estudos sobre o mecanismo de ação para coleópteros não foram encontrados.

No que diz respeito à espécie *M. piperita*, a atividade inseticida para adultos de *A. diaperinus* foi constatada em ensaio de contato. Os insetos apresentam 100% de mortalidade após 9 h de contato com secções de papel filtro tratadas com o OE de *M. piperita* (SUBEKTI; CAHYANINGRUM, 2020). Além disso, o OE de *M. piperita* possui uma grande gama de

estudos relacionados com coleópteros pragas, dentre eles podemos destacar a atividade inseticida para *T. granarium* (BORZOUY *et al.*, 2021), *T. castaneum*, *Lasioderma serricorne* (F.) (Coleoptera: Anobiidae), (PANG *et al.*, 2020), *Sitophilus oryzae* (L.) (Coleoptera: Curculionidae), *R. dominica* e *T. castaneum* (MACKLED *et al.*, 2019). Estudos sobre o modo de ação desse OE para insetos não foram encontrados.

O composto majoritário presente nas espécies *M. arvensis* e *M. piperita* foi o mentol. Enquanto que para *M. spicata* o composto majoritário foi a carvona. Tais resultados estão de acordo com aqueles previamente descritos em literatura, que descrevem o mentol como composto majoritário de *M. arvensis* (NADEEM *et al.*, 2022) e de *M. piperita* (MOETAMEDIPOOR *et al.*, 2021). Assim como o carvona como composto majoritário do OE de *M. spicata* (AGR SCI-TARIM BILI; BASRI KARAYEL, 2022).

As diferenças encontradas nas atividades inseticidas dos compostos majoritários e os OEs pode ser devido a ação de sinergismo e/ou efeito aditivo entre as substâncias (AHMED *et al.*, 2021; CHEN *et al.*, 2021). Essas substâncias apresentam relatam em literatura de atividade insetividade. Estudos com vistas a avaliar a atividade inseticida do mentol e carvone para *A. diaperinus* não foram encontrados. Todavia pode-se relatar que o mentol causou mortalidade em *Sitophilus zeamais* Motschulsky (YILDIRIM; EMSEN; KORDALI, 2013); efeito repelente em *T. castaneum*, *L. serricorne* e *Liposcelis bostrychophila* (PANG *et al.*, 2020a); e efeito histopatológico nos hemócitos de *Rhynchophorus ferrugineus* “Oliver” (Coleoptera: Curculionidae) (MOHAMMED; DAWSARI; ALAM, 2022). A carvona é relatada como sendo capaz de inibir a atividade da enzima acetilcolinesterase, empregando a enzima da enguia elétrica e também a enzima de coleópteros (LÓPEZ, MARÍA DOLORES; PASCUAL-VILLALOBOS, 2015; LÓPEZ, M. D.; PASCUAL-VILLALOBOS, 2010).

Vale ressaltar que visando o manejo integrado de pragas é preciso a compatibilidade entre diferentes táticas de controle. Assim, ao se avaliar o efeito dos OEs de *M. arvensis*, *M. piperita* e *M. spicata* nos parâmetros germinação de conídios, crescimento vegetativo e número de conídios/colônia verificou-se que não houve efeito negativo para *B. bassiana*. De acordo com o índice de toxicidade, todos os OEs foram considerados compatíveis. Dessa forma, os OEs de *M. arvensis*, *M. piperita* e *M. spicata* foram compatíveis com o fungo entomopatogênico *B. bassiana*. Não foram encontradas pesquisas relacionadas à interação desses OEs e o fungo *B. bassiana*.

8 CONCLUSÕES

Os OEs de *M. arvensis*, *M. spicata* e *M. piperita*, em ensaios de aplicação tópica e ingestão, são tóxicos para *A. diaperinus*. Nas espécies *M. arvensis* e *M. piperita* o composto majoritário presente foi o mentol, para a espécie *M. spicata* o composto majoritário foi a carvona. Os isômeros de carvona foram mais tóxicos em ensaio de aplicação tópica, enquanto o D-mentol foi mais tóxico em ensaio de ingestão.

Os OEs não são tóxicos para o *B. bassiana*, e dessa forma, apresentam-se promissores para o controle de *A. diaperinus*.

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/>.

AGR SCI-TARIM BILI, J; BASRI KARAYEL, Hasan. The Effects of Natural Boron Mineral on the Essential Oil Ratio and Components of the Spearmint (*Mentha spicata* L.). *Tarım Bilimleri Dergisi*, v. 28, n. 1, p. 63–70, fev. 2022.

AHMED, Qasim *et al.* Evaluation of Aphicidal Effect of Essential Oils and Their Synergistic Effect against *Myzus persicae* (Sulzer) (Hemiptera: Aphididae). *Molecules* 2021, Vol. 26, Page 3055, v. 26, n. 10, p. 3055, maio 2021.

AISSAOUI, Fatima *et al.* Variations of chemical composition of two Algerian essential oils collected for different seasons and assessment of their insecticidal toxicity against three moth pests. *Journal of Plant Diseases and Protection*, v. 128, n. 5, p. 1167–1176, 2021. Disponível em: <<https://doi.org/10.1007/s41348-021-00491-6>>.

ALVES, LUIS F.A. *et al.* Ocorrência Natural de *Beauveria bassiana* (Bals .) Vuilleman (Moniliales: Moniliaceae) Sobre o Cascudinho, *Alphitobius diaperinus* (Panzer) (Coleoptera: Tenebrionidae), em Aviário Comercial de Cascavel , PR. *SCIENTIFIC NOTE*, n. June, p. 507–510, 2005.

ALVES, L F A *et al.* COMUNICAÇÃO AÇÃO DA TERRA DE DIATOMÁCEA CONTRA ADULTOS DO CASCUDINHO. *Comunicação Científica*, v. v.73, n.1, p. 115–118, 2006.

ALVES, LFA *et al.* as Biocontrol of *Alphitobius diaperinus* Panzer (Coleoptera : Tenebrionidae), an Avian Pathogens Vector. 2015.

ALVES, Marcela S. *et al.* Essential Oils composition and toxicity tested by fumigation against *Callosobruchus maculatus* (Coleoptera: Bruchidae) pest of stored cowpea. *Revista Virtual de Química*, v. 7, n. 6, p. 2387–2399, nov. 2015.

BEYKIA, Mina *et al.* Encapsulation of Thyme essential oils in chitosan-benzoic acid nanogel with enhanced antimicrobial activity agai ... 2014.

BORZOU, Ehsan; KHAGHANI, Ramin; NOURI-GANBALANI, Gadir. Lethal and Sublethal Effects of *Eucalyptus camaldulensis* and *Mentha piperita* Essential Oils on the *Khapra Beetle* (Coleoptera: Dermestidae) in Terms of Feeding Inhibition, Oviposition, and Seed Damage. *Environmental Entomology*, v. 50, n. 3, p. 692–698, 1 jun. 2021. Disponível em: <<https://doi.org/10.1093/ee/nvab023>>.

BOULAMTAT, Rachid *et al.* Chemical composition , and insecticidal activities of four plant essential oils from Morocco against larvae of *Helicoverpa armigera* (Hub .) under field and laboratory conditions. *Crop Protection*, v. 144, n. February, p. 105607, 2021. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.cropro.2021.105607>>.

CHEN, Yijuan *et al.* Insecticidal activities of *Salvia hispanica* L. essential oil and combinations of their main compounds against the beet armyworm *Spodoptera exigua*. *Industrial Crops and Products*, v. 162, p. 113271, abr. 2021.

CHERNAKI; ALMEIDA. Exigências Térmicas , Período de Desenvolvimento e Sobrevivência de Imaturos de *Alphitobius diaperinus* (Panzer) (Coleoptera : Tenebrionidae). p. 365–368, 2001.

DESPINS, Joseph L; AXTELL, Richard C. Feeding Behavior and Growth of Turkey Poults

Fed Larvae of the Darkling Beetle, *Alphitobius diaperinus*. *Poultry Science*, v. 73, n. 10, p. 1526–1533, 1994. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.3382/ps.0731526>>.

ĐOKIĆ, Maja; SEDAK, Marija; BILANDŽIĆ, Nina. Insekticid fipronil u proizvodima od peradi u Europskoj uniji. v. 51, n. 2, p. 165–174, 2020.

DONOSO, Alvaro; PAREDES, Natalia; RETAMAL, Patricio. Detection of Antimicrobial Resistant *Salmonella enterica* Strains in Larval and Adult Forms of Lesser Mealworm (*Alphitobius diaperinus*) From Industrial Poultry Farms. v. 7, n. October, p. 1–6, 2020.

FENG, Yi Xi *et al.* The potential contribution of cymene isomers to insecticidal and repellent activities of the essential oil from *Alpinia zerumbet*. *International Biodeterioration & Biodegradation*, v. 157, p. 105138, fev. 2021.

HATEGEKIMANA, Athanase; ERLER, Fedai. Fecundity and fertility inhibition effects of some plant essential oils and their major components against *Acanthoscelides obtectus* Say (Coleoptera: Bruchidae). *Journal of Plant Diseases and Protection*, v. 127, n. 5, p. 615–623, out. 2020.

HICKMANN, Frederico *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.

JAPP, Anne 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, Anne Karoline; BICHO, Carla de Lima; SILVA, Ana Vitória Fischer Da. Importância e medidas de controle para *Alphitobius diaperinus* em aviários. p. 1668–1673, 2010.

JAYARAM, C. S. *et al.* Chemical Composition and Insecticidal Activities of Essential Oils against the Pulse Beetle. *Molecules* 2022, Vol. 27, Page 568, v. 27, n. 2, p. 568, jan. 2022.

KILANI-MORAKCHI, Samira; MORAKCHI-GOUDJIL, Houda; SIFI, Karima. Azadirachtin-Based Insecticide: Overview, Risk Assessments, and Future Directions. *Frontiers in Agronomy*, v. 3, p. 32, jul. 2021.

KOTSOU, Konstantina *et al.* Influence of Temperature , Relative Humidity and Protein Content on the Growth and Development of Larvae of the Lesser Mealworm , *Alphitobius diaperinus* (Panzer). 2021.

KUMAR, Ashok *et al.* Use of essential oil from *Mentha arvensis* L. to control storage moulds and insects in stored chickpea. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, v. 89, n. 15, p. 2643–2649, dez. 2009.

LEE, Sung Eun *et al.* Fumigant toxicity of volatile natural products from Korean spices and medicinal plants towards the rice weevil, *Sitophilus oryzae* (L). *Pest Management Science*, v. 57, n. 6, p. 548–553, jun. 2001.

LITWIN, Anna *et al.* Lipidomic response of the entomopathogenic fungus *Beauveria bassiana* to pyrethroids. *Scientific Reports*, p. 1–11, 2021. Disponível em: <<https://doi.org/10.1038/s41598-021-00702-y>>.

LÓPEZ, M. D.; PASCUAL-VILLALOBOS, M. J. Mode of inhibition of acetylcholinesterase by monoterpenoids and implications for pest control. *Industrial Crops and Products*, v. 31, n.

2, p. 284–288, mar. 2010.

LÓPEZ, María Dolores; PASCUAL-VILLALOBOS, María Jesús. Are monoterpenoids and phenylpropanoids efficient inhibitors of acetylcholinesterase from stored product insect strains? *Flavour and Fragrance Journal*, v. 30, n. 1, p. 108–112, jan. 2015.

MACKLED, Marwa I *et al.* Assessment of the Toxicity of Natural Oils from. *Processes*, v. 7, p. 1–15, 2019.

MAHBOUBI, Mohaddese. Journal of Traditional and Complementary Medicine *Mentha spicata* L . essential oil , phytochemistry and its effectiveness in fl atulence. *Journal of Traditional Chinese Medical Sciences*, v. 11, n. 2, p. 75–81, 2021. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.jtcme.2017.08.011>>.

MAISTROU, Sevasti *et al.* Virulence traits within a community of the fungal entomopathogen *Beauveria* : Associations with abundance and distribution. *Fungal Ecology*, v. 48, p. 100992, 2020. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.funeco.2020.100992>>.

MARQUES, Renata Camila *et al.* Mortalidade de *Alphitobius diaperinus* (Panzer) (Coleoptera : Tenebrionidae) por óleos de nim e citronela Mortality *Alphitobius diaperinus* (Panzer) (Coleoptera : Tenebrionidae) by neem and citronella oils. p. 2565–2574, 2013.

MENDES, Liriane Rogovski; POVALUK, Maristela. CICLO E CONTROLE DO *Alphitobius diaperinus* (COLEOPTERA, TENEBRIONIDAE) NO MUNICÍPIO DE QUITANDINHA, PR. *Saúde e Meio Ambiente Revista interdisciplinar*, v. v. 6, n. 1, p. 107–122, 2017.

MISHRA, Bhuwan Bhaskar; TRIPATHI, S P; TRIPATHI, C P M. Response of *Tribolium castaneum* (Coleoptera: Tenebrionidae) and *Sitophilus oryzae* (Coleoptera: Curculionidae) to potential insecticide derived from essential oil of *Mentha arvensis* leaves. *Biological Agriculture & Horticulture*, v. 28, n. 1, p. 34–40, 1 mar. 2012. Disponível em: <<https://doi.org/10.1080/01448765.2012.662792>>.

MISHRA, Bhuwan Bhaskar; TRIPATHI, S P; TRIPATHI, C P M. Sub-lethal Activity of Plant Volatile Essential Oils in Management of Red Flour Beetle *Tribolium castaneum* (Coleoptera: Tenebrionidae). *Journal of Essential Oil Bearing Plants*, v. 17, n. 6, p. 1211–1218, 2 nov. 2014. Disponível em: <<https://doi.org/10.1080/0972060X.2014.961038>>.

MITUNIEWICZ, Tomasz; DZIK, Sara. Charakterystyka pleśniakowca lśniącego *Alphitobius diaperinus* (Panzer) (Coleoptera : Tenebrionidae). v. 76, n. 3, p. 145–149, 2020.

MOETAMEDIPOOR, Seyed Ali *et al.* Essential oil chemical diversity of Iranian mints. *Industrial Crops and Products*, v. 172, p. 114039, nov. 2021.

MOHAFRASH, Samia M M *et al.* Industrial Crops & Products *Mentha spicata* essential oil nanoformulation and its larvicidal application against *Culex pipiens* and *Musca domestica*. *Industrial Crops & Products*, v. 157, n. September, p. 112944, 2020. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2020.112944>>.

MOHAMMED, Mona; DAWSARI, Al; ALAM, Pravej. Disruption impact of citronella and menthol insecticides on adults behavior and hemocytes morphology in the red palm weevil *Rhynchophorus ferrugineus* “Oliver” (Coleoptera: Curculionidae): <https://doi-org.ez48.periodicos.capes.gov.br/10.1177/00368504221079437>, v. 105, n. 1, p. 003685042210794, fev. 2022.

NADEEM, Farwa *et al.* Improved Spectrophotometric Method for Fast and Accurate Quantitative Determination of Menthol in Essential Oils. *Food Analytical Methods*, v. 1, p. 1–

6, jan. 2022.

OLIVEIRA, D G P; ALVES, L F A; SOSA-GÓMEZ, D R. Advances and Perspectives of the Use of the Entomopathogenic Fungi *Beauveria bassiana* and *Metarhizium anisopliae* for the Control of Arthropod Pests in Poultry Production. 2014.

OLIVEIRA, Daian Guilherme Pinto *et al.* A protocol for determination of conidial viability of the fungal entomopathogens *Beauveria bassiana* and *Metarhizium anisopliae* from commercial products. *Journal of Microbiological Methods*, v. 119, p. 44–52, 2015. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.mimet.2015.09.021>>.

OLIVEIRA, Daian Guilherme Pinto De. Universidade de São Paulo Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz” Proposta de um protocolo para avaliação da viabilidade de conídios de fungos entomopatogênicos e determinação da proteção ao calor conferida a. 2009.

PANDEY, A.K., SINGH, P., TRIPATHI, N.N.; IMPACT. Impact of essential oils on eggs hatchability and feeding activity of pulse beetles. p. 7874, 2011.

PANG, Xue *et al.* Toxicity and repellent activity of essential oil from *Mentha piperita* Linn. leaves and its major monoterpenoids against three stored product insects. *Environmental Science and Pollution Research*, v. 27, n. 7, p. 7618–7627, mar. 2020a.

PANG, Xue *et al.* Toxicity and repellent activity of essential oil from *Mentha piperita* Linn . leaves and its major monoterpenoids against three stored product insects. p. 7618–7627, 2020b.

PEGORINI, Carla Samanta *et al.* Associação do óleo essencial de *Eugenia uniflora* e *Bacillus thuringiensis* sobre *Alphitobius diaperinus* (Panzer) (Coleop.: Tenebrionidae). 2016.

PERCIO, Geisa *et al.* *Alphitobius diaperinus* (Coleoptera: Tenebrionidae) Susceptibility to *Cunila angustifolia* Essential Oil. *Journal of Medical Entomology*, v. 50, n. 5, p. 1040–1045, set. 2013.

RENAULT, David; COLINET, Herv. Differences in the Susceptibility to Commercial Insecticides among Populations of the Lesser Mealworm *Alphitobius diaperinus* Collected from Poultry Houses in France. 2021.

RENOZ, François; DEMETER, Sébastien; DEGAND, Hervé; NICOLIS, Stamatios C.; LEBBE, Olivier; MARTIN, Henri; DENEUBOURG, Jean Louis; *et al.* The modes of action of *Mentha arvensis* essential oil on the granary weevil *Sitophilus granarius* revealed by a label-free quantitative proteomic analysis. *Journal of Pest Science 2021 95:1*, v. 95, n. 1, p. 381–395, abr. 2021.

RENOZ, François; DEMETER, Sébastien; DEGAND, Hervé; NICOLIS, Stamatios C; LEBBE, Olivier; MARTIN, Henri; LOUIS, Jean; *et al.* The modes of action of *Mentha arvensis* essential oil on the granary weevil *Sitophilus granarius* revealed by a label - free quantitative proteomic analysis. *Journal of Pest Science*, n. 0123456789, 2021. Disponível em: <<https://doi.org/10.1007/s10340-021-01381-4>>.

REZENDE, S.R.F. *et al.* Control of the *Alphitobius Diaperinus* (Panzer) (Coleoptera : Tenebrionidae) with Entomopathogenic Fungi. *Brazilian Journal of Poultry Science*, v. v.11, p. 121–127, 2009.

ROHDE, C Risthiane *et al.* Seleção de Isolados de *Beauveria bassiana* (Bals .) Vuill . e *Metarhizium anisopliae* (Metsch .) Sorok . contra o Cascudinho *Alphitobius diaperinus* (Panzer) (Coleoptera : Tenebrionidae). n. April, p. 231–240, 2006.

ROSSI-ZALAF, Luciana S.; ALVES, Sérgio B.; VIEIRA, Solange 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.

RUBENS CANDIDO ZIMMERMANN, Caio Elias de Carvalho Arag~ *et al.* Insecticide activity and toxicity of essential oils against two stored-product insects. v. 144, n. February, 2021.

SALIN, C.; DELETTRE, Y. R.; VERNON, P. Controlling the Mealworm *Alphitobius diaperinus* (Coleoptera : Tenebrionidae) in Broiler and Turkey Houses : Field Trials with a Combined Insecticide Treatment : Insect Gro Controlling the Mealworm *Alphitobius diaperinus* (Coleoptera : Tenebrionidae. *JOURNAL OF ECONOMIC ENTOMOLOGY*, v. 96, n. May, p. 126–130, 2003.

SILVA, Roberta Z Da; NEVES, Pedro M O J. Techniques and parameters used in compatibility tests between *Beauveria bassiana* (Bals) Vuill and in vitro phytosanitary products. v. 674, n. June 2004, p. 667–674, 2005.

SOUZA, VALDEANY NÚBIA DE *et al.* FUMIGATION TOXICITY OF ESSENTIAL OILS AGAINST *Rhyzopertha dominica* (F.) IN STORED MAIZE GRAIN. *Revista Caatinga*, v. 29, n. 2, p. 435–440, jun. 2016.

SUBEKTI, N.; CAHYANINGRUM, S. H. Insecticidal activity of some plant essential oil extracts against *Alphitobius diaperinus* pest causing Avian influenza Insecticidal activity of some plant essential oil extracts against *Alphitobius diaperinus* pest causing Avian influenza. *Journal of Physics: Conference Series*, 2020.

TAREQ AL-AMERI, Dalal *et al.* Effect of essential oil of colocynth, *Citrullus colocynthis* and spearmint, *Mentha spicata* against the khapra beetle, *Trogoderma granarium* Everts (Coleoptera: Dermestidae). *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science*, v. 553, n. 1, p. 012045, ago. 2020.

THAWKAR, B.S. *et al.* Phytochemical and pharmacological review of *Mentha arvensis*. p. 38078, 2016.

THERNEAU, Terry M. Survival Analysis [R package survival version 2.41-3]. [S.d.].

UEMURA, D H *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.

VERGARA;, Clorinda C.; GAZANI;, Raúl B. Biología de *Alphitobius diapeinus* (Panzer) Coleoptera: Tenebrionidae). . [S.l: s.n.]. , 1996

WALLDORF, Volker *et al.* Treatment with a neem seed extract (MiteStop ®) of beetle larvae parasitizing the plumage of poultry. p. 623–627, 2012.

WICOCHEA-RODRÍGUEZ, Daniel; RIGOU, Peggy; CHALIER, Pascale. A new green insecticide for stored wheat grains : Efficiency against *Rhyzopertha dominica* and risk assessment. v. 101, n. May, 2021.

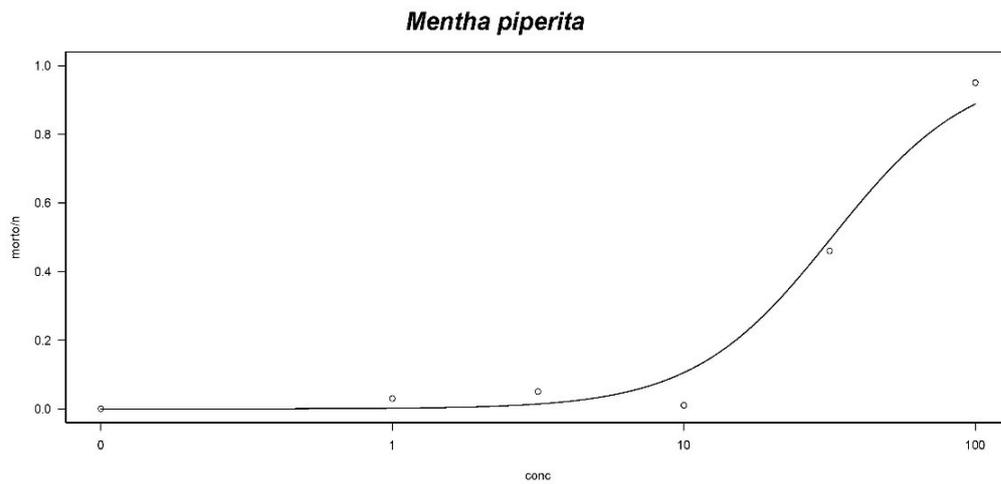
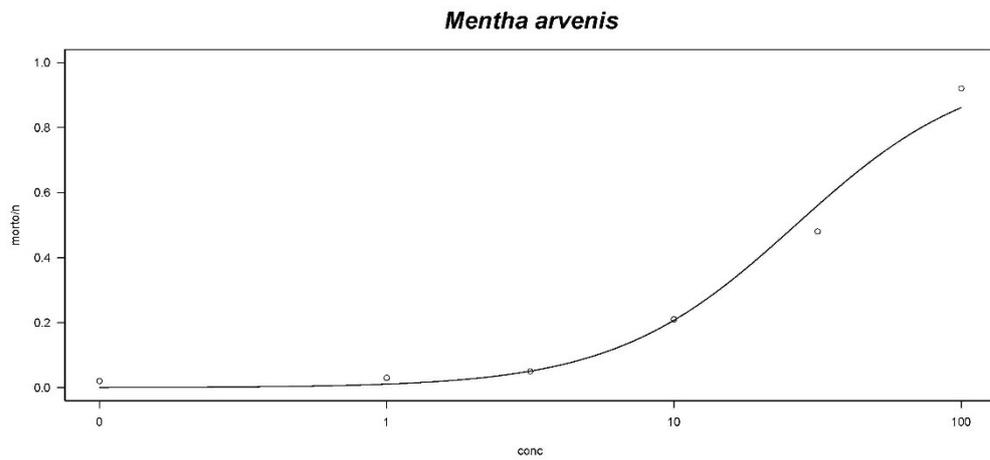
YANG, Xi *et al.* Industrial Crops & Products Fumigant toxicity and physiological effects of spearmint (*Mentha spicata* , Lamiaceae) essential oil and its major constituents against *Reticulitermes dabieshanensis*. *Industrial Crops & Products*, v. 171, n. July, p. 113894, 2021. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2021.113894>>.

YILDIRIM, E.; EMSEN, B.; KORDALI, S. Insecticidal Effects of Monoterpenes on *Sitophilus zeamais* Motschulsky (Coleoptera: Curculionidae). *Journal of Applied Botany and Food Quality*, v. 86, n. 1, p. 198–204, dez. 2013.

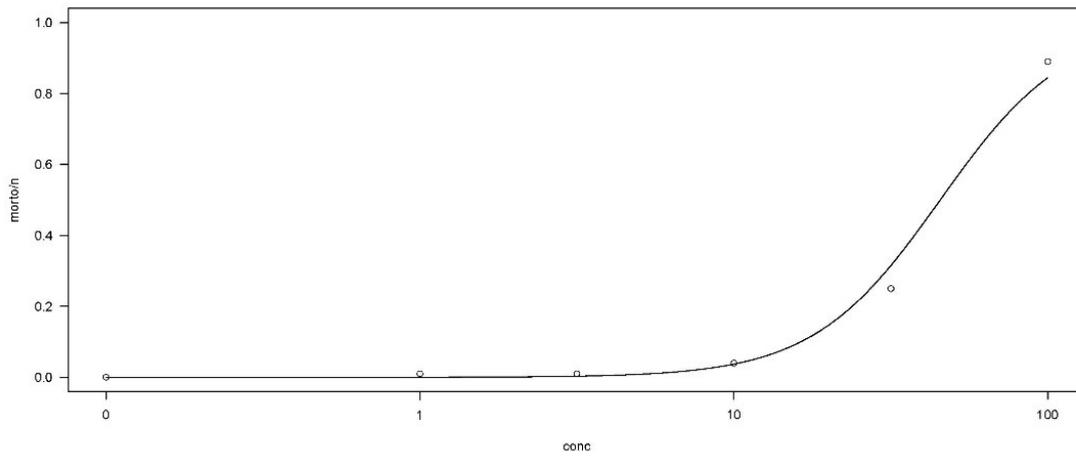
ZIMMERMANN, Rubens Candido e colab. Insecticide activity and toxicity of essential oils against two stored-product insects. *Crop Protection*, v. 144, p. 105575, 1 Jun 2021.

Anexos:

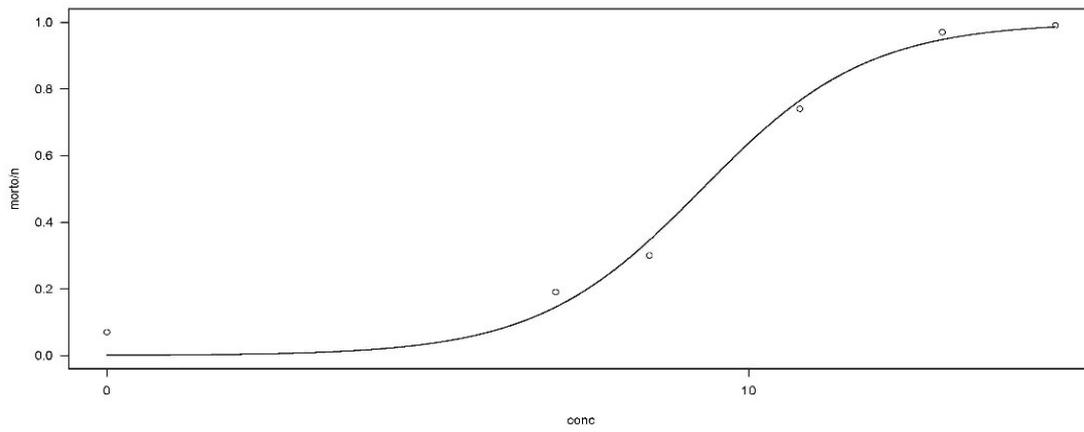
Material suplementar. Gráfico 1 – Resposta concentração versus mortalidade de *Alphitobius diaperinus* que receberam aplicação tópica de óleos essenciais de *Mentha* spp. e do controle positivo, óleo de neem.



Mentha spicata

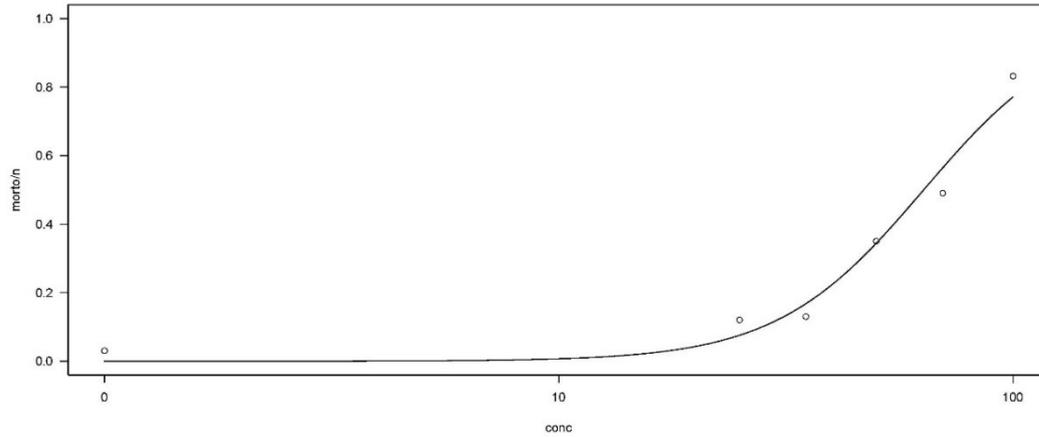


Óleo de neem

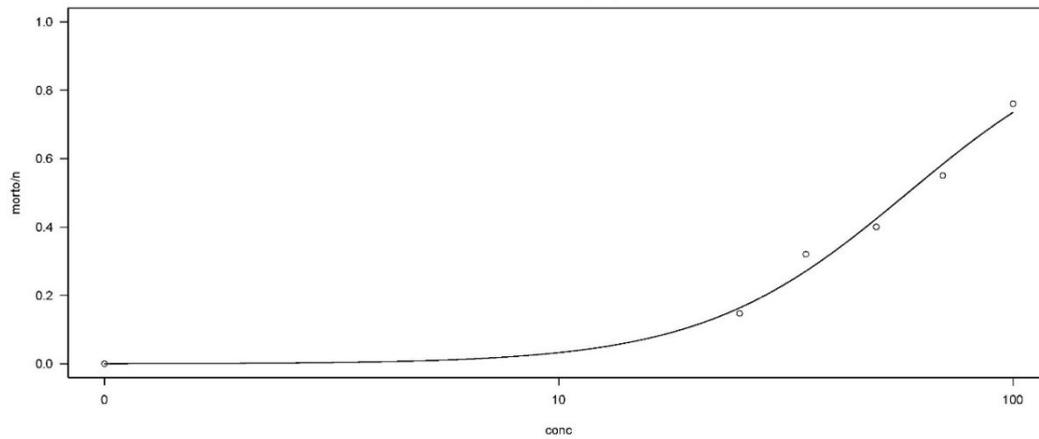


Material suplementar. Gráfico 2 – Resposta concentração versus mortalidade de *Alphitobius diaperinus* que receberam dieta contendo óleos essenciais de *Mentha* spp. e do controle positivo, óleo de neem.

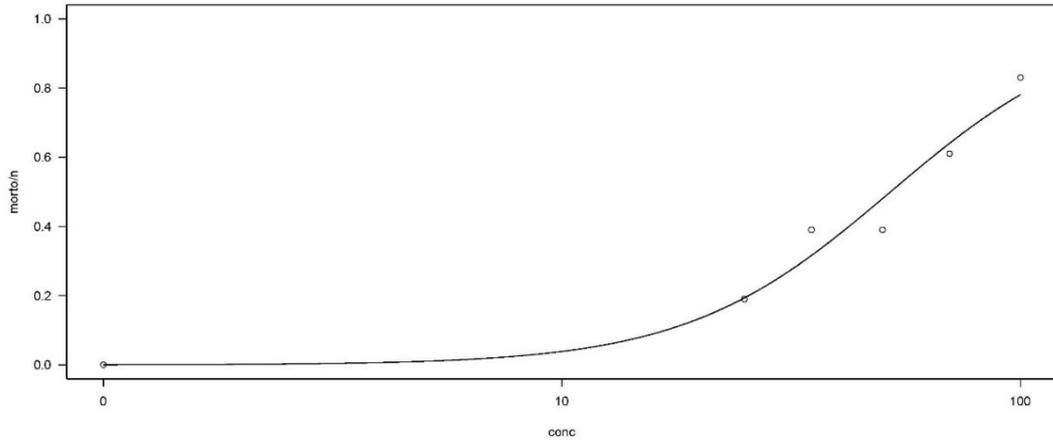
Mentha arvensis



Mentha piperita



Mentha spicata



Óleo de neem

