



**UNIVERSIDADE ESTADUAL DE FEIRA DE
SANTANA**
**PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM RECURSOS
GENÉTICOS VEGETAIS**



DAIANE RODRIGUES DOS SANTOS

**ATIVIDADE INSETICIDA DE EXTRATOS E ÓLEOS
ESSENCIAIS DE ESPÉCIES DO GÊNERO *Lippia* CONTRA
Callosobruchus maculatus (Fabricius, 1775) e *Nasutitermes corniger*
(Motschulsky, 1855)**

DAIANE RODRIGUES DOS SANTOS

**ATIVIDADE INSETICIDA DE EXTRATOS E ÓLEOS
ESSENCIAIS DE ESPÉCIES DO GÊNERO *Lippia* CONTRA
Callosobruchus maculatus (Fabricius, 1775) e *Nasutitermes corniger*
(Motschulsky, 1855)**

Disertação apresentada ao programa de Pós-Graduação em Recursos Genéticos Vegetais da Universidade Estadual de Feira de Santana como requisito parcial para a obtenção do título de mestre em Recursos Genéticos Vegetais.

Orientador: Prof. Dr. Lenaldo Muniz de Oliveira

Orientadores: Prof. Dra. Angélica Maria Lucchese

Prof. Dr. Jucelho Dantas da Cruz

Feira de Santana-BA
2017

Ficha Catalográfica – Biblioteca Central Julieta Carteado – UEFS

S234 Santos, Daiane Rodrigues dos
Atividade inseticida de extratos e óleos essenciais de espécies do Gênero *Lippia* contra *Callosobruchus maculatus* (Fabricius, 1775) e *Nasutitermes corniger* (Motschulsky, 1855) / Daiane Rodrigues dos Santos. – Feira de Santana, 2017.

105 f.: il.

Orientador : Lenaldo Muniz de Oliveira.

Coorientadores : Angélica Maria Lucchese, Jucelho Dantas da Cruz.

Dissertação (mestrado) – Universidade Estadual de Feira de Santana, Pós-Graduação em Recursos Genéticos Vegetais, 2017.

1. Óleos essenciais. 2. Extratos naturais. 3. Biopesticida. 4. Gênero *Lippia* – atividade inseticida. I. Oliveira, Lenaldo Muniz de, orient. II. Lucchese, Angélica Maria, coorient. III. Cruz, Jucelho Dantas da, coorient. IV. Universidade Estadual de Feira de Santana. V. Título.

CDU: 632.95

BANCA EXAMINADORA

Marilene Fancelli
Profa. Dra. Marilene Fancelli
(EMBRAPA)

Mariana B. Botura
Profa. Dra. Mariana Borges Botura
(Universidade Estadual de Feira de Santana - UEFS)

Lenaldo M. de Oliveira
Prof. Dr. Lenaldo Muniz de Oliveira
(Universidade Estadual de Feira de Santana - UEFS)
Orientador e Presidente da Banca

Dedico à minha amada vovó Vivi (In memoriam)

AGRADECIMENTOS

Acima de tudo a DEUS, por ter permitido que eu chegasse até aqui, mesmo diante das adversidades.

Acredito que ninguém chega a nenhum lugar sozinho, atribuo esta conquista a contribuição de muitas pessoas que compartilharam seus conhecimentos e disponibilizaram o tempo e espaço a mim e aos quais devo minha sincera gratidão...

À minha mãe minha fonte de inspiração. Suas palavras me incentivam diariamente a acreditar e lutar por meus objetivos.

Ao meu pai, Osmário e irmãos, Danilo, Diogo e Brenda por estarem sempre ao meu lado me apoiando em todos os momentos.

À minha princesa Melissa, por todo amor e aprendizado adquirido com sua vinda.

Aos amigos e professores do Programa de Pós-graduação em Recursos Genéticos Vegetais, em especial, Barbara Laís e Eliza Maiara.

À Juliana Paixão e Uiliane Soares, pelo apoio e incentivo no início de tudo e pela amizade construída nos últimos anos.

À Edna Dória Peralta do Laboratório de Produtos Naturais e Bioativos, LAPRON-UEFS, pelos ensinamentos com a parte experimental.

Ao Centro de abastecimento da cidade de Feira de Santana-BA, representados pelo Sr. Marcos e família.

Ao meu orientador, Lenaldo Muniz de Oliveira e aos meus Co-orientadores, Angélica Maria Lucchese e Jucelmo Dantas da Cruz, pelas orientações e conhecimentos compartilhados.

À FAPESB, pela concessão da Bolsa de auxílio a esta pesquisa.

A todas as pessoas do caminho, que me ofereceram um sorriso, um auxílio, uma palavra de incentivo, meus sinceros agradecimentos!

“... O homem é parte da natureza e sua guerra contra a natureza é inevitavelmente uma guerra contra si mesmo...” (Primavera Silenciosa-Rachel Carson).

RESUMO GERAL

O potencial de exploração de novas fontes de biopesticidas é bastante amplo no Brasil e no mundo. Nos últimos anos, a busca por esses produtos tem se intensificado em virtude dos graves problemas de saúde e ambientais advindos do uso de inseticidas sintéticos. Neste contexto, os óleos essenciais e extratos de espécies vegetais tem se mostrado uma boa alternativa para a agricultura. Deste modo, o objetivo deste trabalho foi testar o potencial inseticida de espécies pertencentes ao gênero *Lippia* (*Lippia insignis* Mondenk 1976, *Lippia lasiocalycina* Schauer, 1832 e *Lippia thymoides* Martius & Schauer, 1832 no controle de insetos-praga que provocam danos econômicos (*Callosobruchus maculatus* Fabricius, 1775 e *Nasutitermes corniger* Motschulsky, 1855). A coleta das plantas foi realizada na área experimental do Horto Florestal da UEFS e o material coletado, após a secagem, foi destinado a extração de óleos essenciais e preparo dos extratos. Foram realizados ensaios *in vitro* para verificação dos efeitos dos óleos essenciais e extratos contra *C. maculatus* e *N. corniger*. Para a determinação inicial da atividade inseticida dos extratos e óleos foi utilizada a metodologia de exposição à superfície contaminada, testando-se uma concentração inicial do extrato aquoso, extrato metanólico e óleos essenciais. A mortalidade foi verificada 24 e 48 hs após a aplicação dos tratamentos. O produto com maior potencial sobre a mortalidade dos insetos testados foi diluído em diferentes concentrações para determinação da concentração letal mediana (CL₅₀). A atividade repelente contra *C. maculatus* e *N. corniger* foi avaliada. Além disso, testes específicos com *C. maculatus* investigaram a eficiência do produto em dois métodos de aplicação, bem como a quantificação e identificação de constituintes químicos presentes nos óleos de espécies estudados utilizando técnicas GC/ FID e GC / MS. Os resultados demonstraram, a ocorrência destacada do β-mirceno e E-ocimenona nas amostras de *L. lasiocalycina*, em *L. insignis* destacaram-se, β-mirceno e limoneno. Para *L. thymoides* os constituintes principais foram: E-cariofileno e o óxido de cariofileno. Para *C. maculatus*, que o óleo essencial da espécie *L. insignis* destacou-se quanto à atividade inseticida com CL₅₀ de 3,11 µl/ml. Embora ambos os métodos de aplicação tenham se mostrado eficientes no controle deste inseto-praga, não foi verificada atividade repelente do óleo de *L. insignis* (5µl/ml). Para *N. corniger*, os óleos essenciais de todas as espécies testadas, além do extrato metanólico da espécie *L. insignis* mostraram-se promissores no controle a este inseto-praga. Foi verificado que a espécie *L. lasiocalycina* apresentou menor CL₅₀ (0,47 µl/ml) comparada a *L. insignis* (0,88 µl/ml) e *L. thymoides* (3,64 µl/ml), já o extrato metanólico de *L. insignis* obteve CL₅₀ de (27,84 mg/ml). Os óleos essenciais e extrato metanólico das espécies de *Lippia* estudadas demonstram atividade repelente a *N. corniger* nos ensaios *in vitro*.

Palavras chave: Óleos essenciais; Extratos; Insetos; Biopesticida.

GENERAL ABSTRACT

The exploitation potential of new biopesticides sources is very broad in Brazil and worldwide. In the past few years, the search for these products has been intensified due to serious health and environmental issues caused by the use of synthetic insecticides. In this context, essential oils and extracts of vegetal species have been considered as an alternative to agriculture. Thus, the aim of this work was to test the insecticidal potential of species belonging to the genus *Lippia* *Lippia insignis* Mondenk 1976, *Lippia lasiocalycina* Schauer, 1832 e *Lippia thymoides* Martius & Schauer, 1832 no controle de insetos-praga que provocam danos econômicos (*Callosobruchus maculatus* Fabricius, 1775 e *Nasutitermes corniger* Motschulsky, 1855) in the control of insect-pest responsible for economic damage (*Callosobruchus maculatus* and *Nasutitermes corniger*). The samples were collected in the experimental area in the Horto Florestal (UEFS) and after the material was dried, the essential oils were extracted and the extracts were prepared. *In vitro* trials were performed in order to verify the effects of essential oils and extracts against *C. maculatus* and *N. corniger*. The methodology of exposition to contaminated surface, testing an initial concentration of aqueous and methanolic extract and essential oils was adopted to determine the insecticidal activity of extracts and oils. The mortality was verified 24 and 48 hours after treatment application, and the product with major potential on the insect mortality was diluted in different concentrations to determine the medium lethal concentration (LC₅₀). The repellent activity against *C. maculatus* and *N. corniger* was evaluated. Moreover, specific tests with *C. maculatus* investigated the product efficiency in two methods of application, as well as the quantification and identification of chemical constituents present in the studied species oils using GC/FID and GC/MS techniques. The results obtained revealed, occurrence highlighted of β-mirceno and *E*-ocimenona in the sample of *L. lasiocalycina*, in *L. insignis* were prominent β-mirceno e o limoneno. For *L. thymoides* the main constituents were: *E*-cariofileno e o óxido de cariofileno. for *C. maculatus*, the essential oil of *L. insignis* stood out as insecticidal activity with CL₅₀ of 3,11 µl/ml. Although both methods of application showed efficiency in the control of this insect-pest, there was no repellent activity verified in the oil of *L. insignis* (5µl/ml). For *N. corniger*, the essential oils of all tested species, as well as the methanolic extract of *L. insignis* exhibited promising results in the control of this insect-pest. It was also verified that *L. lasiocalycina* possessed lower LC₅₀ (0,47 µl/ml) compared to *L. insignis* (0,88 µl/ml) and *L. thymoides* (3,64 µl/ml), while the LC₅₀ of *L. insignis* methanolic extract was 27,84 mg/ml. Furthermore, essential oils and methanolic extracts of *Lippia* studied species revealed repellent activity in the *N. corniger in vitro* trials.

Key words: Essential oils; Extracts; Insects; Biopesticide.

LISTA DE FIGURAS

INTRODUÇÃO	16
Figura 1: Destaque para as Folhas, e ramificação da espécie <i>L. lasiocalycina</i> (Cham, 1832), Feira de Santana, Bahia, Brasil. Foto: SANTOS, D.R.dos, 2017.	19
Figura 2: Inflorescência e Folhas da espécie <i>L. insignis</i> (Moldenk, 1976), Feira de Santana, Bahia, Brasil. Foto: SANTOS, D. R.dos, 2017.	20
Figura 3: Ramificação (Destaque para a forma arbustiva e inflorescência da espécie <i>Lippia thymoides</i> (Martius & Schauer 1847). Feira de Santana, Bahia, Brasil. Fonte: SANTOS, D.R.dos, 2017.	21
Figura 4: (A) Espécime de <i>Callosobruchus maculatus</i> , Fonte: Hungarian Natural History (FABR. 1775); (B) Grãos de Feijão-Caupi (<i>Vigna unguiculata</i>), Fonte: Eugênia Ribeiro/ EMBRAPA (Sfrago. uol.com. br).	27
Figura 5: A: Espécime de <i>Nasutitermes coniger</i> (Motschulsky, 1855), B: Colônia de <i>N. coniger</i> em madeira da espécie <i>Caesalpineia echinata.</i> , LAM. 1785 (Pau-Brasil), Feira de Santana, Bahia, Brasil. Foto: SANTOS, D.R.dos, 2017.	29
CAPÍTULO I	35
Figura 1: Etapas do Método Utilizado. Feira de Santana, Bahia, Brasil. Fotos: SANTOS, D.R.dos, 2017.	41
Figura 2: Perspectiva da arena utilizada para a avaliação do efeito repelente de <i>Callosobruchus maculatus</i> (Fabricius, 1775), em teste de preferência alimentar com chance de escolha. Feira de Santana, Bahia, Brasil. SANTOS, D.R.dos, 2017.	45
Figura 3: Concentração Letal Mediana (CL ₅₀) de <i>Callosobruchus maculatus</i> (Fabricius, 1775) submetidos às diferentes concentrações do óleo essencial de <i>L. insignis</i> , Moldenk 1976. Feira de Santana, Bahia, Brasil, 2017.	51
Figura 4: Toxicidade do óleo essencial de <i>L. insignis</i> (5 µl/ml) contra <i>Callosobruchus maculatus</i> (Fabr., 1775) em dois diferentes métodos de aplicação (A-Aplicação tópica e B Superfície contaminada) *Ade: água destilada; Tween: tensoativo. Feira de Santana, Bahia, Brasil 2017.	52

CAPÍTULO II

63

Figura 1: Fases do método experimental utilizado. Feira de Santana, Bahia, Brasil. 72
Fotos: SANTOS, D.R.dos, 2017.

Figura 2: Concentrações Letais Medianas (CL₅₀) dos óleos essenciais das espécies 76
Lippia insignis (Moldenk, 1976) *Lippia thymoides* (Martius & Schauer, 1847) e
Lippia lasiocalycina (Cham, 1832) contra *Nasutitermes corniger* (Motschulsky, 1855),
Feira de Santana, Bahia, Brasil, 2017.

Figura 3: Concentração Letal Mediana do extrato metanólico da espécie *Lippia* 77
insignis (Moldenk, 1976) contra *Nasutitermes corniger* (Motschulsky, 1855). Feira de
Santana, Bahia, Brasil, 2017.

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Mortalidade de *Callosobruchus maculatus* em teste de exposição a superfície contaminada com o extrato aquoso, metanólico e óleos essenciais das espécies *L. thymoides* (Martius & Schauer 1847), *L. lasiocalycina* (Cham,1832) e *L. insignis* (Moldenk, 1976), após 24 e 48 hs de exposição. Feira de Santana, Bahia, 2017. 48

Tabela 2. Efeito repelente do óleo de *L. insignis* (Moldenk, 1976) sobre *Callosobruchus maculatus* estimada a partir da porcentagem de insetos que se deslocaram para a área contendo o feijão não tratado (controle) ou com o feijão tratado (tratamento) com óleo essencial (5 µl/ml) durante 12, 24, 48 e 72 hs. 55

Tabela 3. Compostos majoritários presentes nos óleos essenciais extraídos das folhas espécies *Lippia insignis* (Moldenk, 1976) *Lippia thymoides* (Martius & Schauer,1847) e *Lippia lasiocalycina* (Cham,1832). Feira de Santana, Bahia, Brasil, 2017. 56

CAPÍTULO II 63

Tabela 1. Percentual de mortalidade de *Nasutitermes corniger* (Motschulsky, 1855) após 24 e 48 hs do início dos tratamentos com óleos essenciais, extrato metanólico e extrato aquoso de *Lippia thymoides* (Martius & Schauer,1847) e *Lippia lasiocalycina* (Cham,1832) e *insignis* (Moldenk, 1976). Feira de Santana, Bahia, Brasil, 2017. 74

Tabela 2. Efeito repelente de óleos essenciais das espécies *Lippia thymoides* (Martius & Schauer,1847), *Lippia lasiocalycina* (Cham,1832), *Lippia insignis* (Moldenk, 1976) e do extrato metanólico de *L. insignis* em cupins da espécie *Nasutitermes corniger* (Motschulsky, 1855). Feira de Santana, 2017. 79

Tabela 3. Compostos majoritários presentes nos óleos essenciais extraídos das folhas espécies *Lippia insignis* (Moldenk, 1976) *Lippia thymoides* (Martius & Schauer,1847) e *Lippia lasiocalycina* (Cham,1832). Feira de Santana, Bahia, Brasil, 2017. 81

LISTA DE SIGLAS, SÍMBOLOS E ABREVIATURAS

1. **µl/ml** -microlitros por mililitro
2. **mg/ml**- miligramas por mililitro
3. **TWEEN**- Tensoativo
4. **CG**- Cromatografia gasosa
5. **CG/DIC**-Cromatógrafo a gás acoplado a um Detector de Ionização em Chama
6. **CG/EM**-Cromatógrafo a gás acoplado a Espectrômetro de Massa
7. **UEFS**- Universidade Estadual de Feira de Santana
8. **CL₅₀**- Concentração letal mínima capaz de ocasionar 50% de mortalidade
9. **V/V**- Volume /Volume
10. **M/V**- Massa /Volume
11. **P/V**- Peso/ Volume
12. **PIB**- Produto Interno Bruto
13. **EA**-Extrato Aquoso
14. **EM**- Extrato Metanólico
15. **OE's**- Óleos Essenciais
16. **LAPRON**-Laboratório de Química de Produtos Naturais e Bioativos

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO GERAL	16
1.1	Riqueza e potencial das espécies vegetais do semiárido	16
1.2	Caracterização e importância do gênero <i>Lippia</i>	17
1.3	Espécies do gênero <i>Lippia</i> estudadas	18
1.3.1	<i>Lippia lasiocalycina</i> (Cham, 1832)	18
1.3.2	<i>Lippia insignis</i> (Moldenk, 1976)	19
1.3.3	<i>Lippia thymoides</i> (Martius & Schauer, 1847)	20
1.4	Metabólitos secundários de plantas	21
1.5	Utilizações de produtos naturais no controle biológico de insetos	22
1.6	Espécies de insetos-praga alvos do estudo	25
1.6.1	<i>Callosobruchus maculatus</i> . Coleoptera: Bruchidae (Fabricius, 1775)	26
1.6.2	<i>Nasutiterme corniger</i> . Isoptera: Termitidae (Motschulsky, 1855)	27
	REFERÊNCIAS	29
2	CAPÍTULO I- ATIVIDADE INSETICIDA <i>IN VITRO</i> DE EXTRATOS E ÓLEOS DE ESPÉCIES DO GÊNERO <i>Lippia</i> CONTRA <i>Callosobruchus maculatus</i> (FABR.,1775) (COLEOPTERA: BRUCHIDAE)	35
2.1	INTRODUÇÃO	38
2.2	MATERIAL E MÉTODOS	39
2.3	RESULTADOS E DISCUSSÃO	46
2.4	CONCLUSÕES	58
2.5	REFERÊNCIAS	58
3	CAPÍTULO II- ATIVIDADE INSETICIDA E REPELENTE DE EXTRATOS E ÓLEOS ESSENCIAIS DE ESPÉCIES DO GÊNERO <i>Lippia</i> CONTRA <i>Nasutitermes corniger</i>, MOTSCHULSKY, 1855 (ISOPTERA: TERMITIDAE)	63
3.1	INTRODUÇÃO	66
3.2	MATERIAL E MÉTODOS	67
3.3	RESULTADOS E DISCUSSÃO	73
3.4	CONCLUSÕES	82

3.5	REFERÊNCIAS	83
	APÊNDICES	86
	APÊNDICE A- Análise da composição química dos óleos essenciais obtidos de folhas de <i>Lippia thymoides</i> (Martius & Schauer, 1847), <i>Lippia lasiocalycina</i> (Cham, 1832) e <i>Lippia insignis</i> (Moldenk, 1976). Feira de Santana/BA, 2017.	87
	APÊNDICE B: Principais constituintes químicos encontrados nos óleos essenciais obtidos das folhas de <i>Lippia thymoides</i> (Martius & Schauer, 1847), <i>Lippia lasiocalycina</i> (Cham, 1832) e <i>Lippia insignis</i> (Moldenk, 1976). Feira de Santana/BA, 2017.	89
	APÊNDICE C- Resumo da análise estatística dos dados nos testes de concentração letal mediana (CL ₅₀) e comparação entre os métodos de aplicação dos óleos essenciais da espécie <i>Lippia insignis</i> (Moldenk, 1976) contra <i>Callosobruchus maculatus</i> (Fabr., 1775) UEFS, Feira de Santana/BA, 2017.	90
	APÊNDICE D: Comparação entre os métodos de aplicação dos óleos essenciais da espécie <i>L. insignis</i> (Moldenk, 1976) contra <i>Callosobruchus maculatus</i> (Fabr., 1775) UEFS, Feira de Santana/BA, 2017.	90
	APÊNDICE E: Resumo da análise estatística do pré-testes, dos extratos aquosos (EA), metanólicos (EM) e óleos essenciais (OE) das espécies <i>Lippia insignis</i> (Moldenk, 1976) <i>Lippia thymoides</i> (Martius & Schauer, 1847) e <i>Lippia lasiocalycina</i> (Cham, 1832), contra <i>Nasutitermes corniger</i> (Moldenk, 1976). UEFS, Feira de Santana/BA, 2017.	93
	APÊNDICE F (A): Mortalidade de <i>C. maculatus</i> em 24 e 48 horas de exposição à superfície contaminada com o extrato aquoso de <i>L. insignis</i> (Moldenk, 1976), <i>L. lasiocalycina</i> (Cham, 1832) e <i>L. thymoides</i> (Martius & Schauer, 1847).	100
	APÊNDICE F (B): Mortalidade de <i>C. maculatus</i> em 24 e 48 horas de exposição à superfície contaminada com o extrato metanólico de <i>L. insignis</i> (Moldenk, 1976), <i>L. lasiocalycina</i> (Cham, 1832) e <i>L. thymoides</i> (Martius & Schauer, 1847).	101
	APÊNDICE F (C): Mortalidade de <i>C. maculatus</i> em 24 e 48 horas expostos à superfície contaminada com os óleos essenciais de <i>L. insignis</i> (Moldenk, 1976), <i>L. lasiocalycina</i> (Cham, 1832) e <i>L. thymoides</i> (Martius & Schauer, 1847)	102
	APÊNDICE G (A): Mortalidade de <i>N. corniger</i> em 24 e 48 horas de exposição à superfície contaminada com o extrato aquoso de <i>L. insignis</i> (Moldenk, 1976), <i>L. lasiocalycina</i> (Cham, 1832) e <i>L. thymoides</i> (Martius & Schauer, 1847)	103

APÊNDICE G (B): Mortalidade de *N. corniger* em 24 e 48 horas de exposição à superfície contaminada com o extrato metanólico de *L. insignis* (Moldenk, 1976), *L. lasiocalycina* (Cham,1832) e *L. thymoides* (Martius & Schauer,1847) 104

APÊNDICE G (C): Mortalidade de *N. corniger* em 24 e 48 horas de exposição à superfície contaminada com os óleos essenciais de *L. insignis* (Moldenk, 1976), *L. lasiocalycina* (Cham,1832) e *L. thymoides* (Martius & Schauer,184) 105

1. INTRODUÇÃO

1.1. Riqueza e potencial das espécies vegetais do semiárido

O Brasil detém a maior diversidade genética vegetal do planeta, distribuída em biomas com características diversas de clima e solo, como a floresta Amazônica, Mata Atlântica, Cerrado, Pantanal e a Caatinga (SCARIOT et al., 2010).

O bioma caatinga ,em especial, possui cerca de 735.000km² e abrange grande parte da área com clima semiárido da região nordeste; é um mosaico de arbustos espinhosos e de florestas sazonalmente secas, com mais de 2.000 espécies de plantas vasculares, peixes, répteis, anfíbios, aves e mamíferos (LEAL et al., 2005). Quanto à cobertura vegetal mostra-se rico por abrigar uma grande variedade de espécies endêmicas, como plantas xerófilas de fisionomia e florística variada, importantes por apresentarem uma extensa utilização e diferentes potenciais para exploração econômica. Apesar da grande biodiversidade a Caatinga ainda é um dos biomas brasileiros menos conhecidos e valorizados (GIULIETTI et al., 2004).

Segundo Scariot et al. (2010) a caatinga é o terceiro bioma do Brasil com o maior número de espécies vegetais ameaçadas, ficando atrás somente da Mata Atlântica e do Cerrado. Conforme Leal et al. (2005) este cenário resulta dos processos de desertificação decorrente da transformação deste bioma ao longo do tempo, uma vez que cerca de 50% do solo da região de Caatinga foi modificado por atividades antrópicas, como a transformação das áreas em pastagens, terras agricultáveis e uso intensivo do solo. Esta proporção pode ser maior se forem consideradas outras atividades, a exemplo da construção de estradas, cidades e pequenos povoados.

Diante deste cenário observa-se o crescente número de pesquisas voltadas para o estudo das espécies vegetais de ocorrência no semiárido, quanto à identificação, caracterização, potencial biológico e conservação. Entretanto, este número ainda é incipiente diante da grande diversidade de plantas da caatinga, com a grande maioria ainda desconhecida do ponto de vista científico. Chechinel Filho e Yunes (1998) relataram que das 250 a 500 mil espécies de plantas existentes no planeta, somente cerca de 5% têm sido estudadas fitoquimicamente e uma porcentagem menor avaliada quanto aos aspectos biológicos, ressaltando a importância de estudos direcionados neste aspecto, sobretudo no bioma caatinga.

1.2. Caracterização e importância do gênero *Lippia*

Dentre a grande riqueza florística encontrada no bioma Caatinga pode-se citar o gênero *Lippia*, que é um dos mais importantes representantes da família Verbenaceae. Este gênero possui aproximadamente 200 espécies de ervas, arbustos e pequenas árvores; seus maiores centros de dispersão se encontram em países das Américas do Sul e Central, como também em territórios da África tropical. No Brasil, este gênero pode ser encontrado principalmente nos estados de Minas Gerais e Bahia, com a maioria das espécies distribuída nos biomas Cerrado e Caatinga (GOMES et al., 2011). Salimena et al. (2013) citam que 18 espécies do gênero *Lippia* de ocorrência no Brasil são consideradas raras ou ameaçadas, destas, nove estão fortemente ameaçadas de extinção devido a fatores como alterações do ambiente natural das espécies, expansão agrícola e urbanização

As espécies do gênero *Lippia* possuem grande potencial econômico, principalmente devido à utilização de seus óleos essenciais na indústria de alimentos, cosméticos e de medicamentos. Muitas de suas espécies apresentam amplo uso popular como plantas medicinais e condimentos, e possuem metabólitos secundários com ampla ação biológica (PASCUAL et al., 2001). Em levantamento bibliográfico feito por Pascual et al (2001) com estudos envolvendo o uso tradicional, composição bioquímica e atividade farmacológica de espécies do gênero *Lippia*, um total de 52 espécies oriundas das porções tropicais da América do Sul e Central e da África foram listadas. Os principais usos observados nestes locais referem-se a tratamentos de doenças respiratórias e gastrointestinais e como tempero, sendo as folhas ou parte aérea e as flores as principais partes das plantas utilizadas. Geralmente, as formas de uso são decocção ou infusão e administração oral. Oito espécies são mais utilizadas nos casos de problemas respiratórios, e nove em distúrbios gastrintestinais. Doenças hepáticas, cutâneas, dores na vesícula, ferimentos, queimação, úlceras, gonorréia, hipertensão arterial, cólica menstrual, dores, inflamação, febre e malária também apresentam tratamento popular à base de plantas deste gênero.

A maioria dos estudos bioquímicos levantados do gênero revela que os componentes mais frequentes dos óleos essenciais das espécies do gênero *Lippia* são limoneno, β -cariofileno, *p*-cimeno, cânfora, linalol, *a*-pineno e timol. As principais propriedades farmacológicas dos compostos destas plantas, comprovadas em estudos biológicos, são as ações antimicrobiana, antimalárica, espasmolítica, sedativa, hipotensiva, anti-inflamatória, antioxidante, antiparasitária, antifúngica e antibacteriana

(ALMEIDA et al., 2010; SOARES; TAVARES-DIAS, 2013; SOUZA et al., 2015).

Mais recentemente, extratos e óleos de espécies vegetais têm sido utilizados no controle de pragas e doenças de plantas, em virtude de sua baixa toxicidade contra os seres humanos, baixo custo e por serem biodegradáveis, o que reduz o impacto sobre o meio ambiente. Trabalhos envolvendo este gênero têm obtido sucesso ao testar sua atividade biológica no controle de patógenos (LORENZI; MATTOS, 2002; BOTELHO et al., 2004; FONTENELLE et al., 2007). Entretanto, a maioria das informações presentes na literatura concentram-se em poucas espécies, a exemplo de *L. gracillis* Schauer, *L. sidoides* Cham. e *L. alba* (Mill.) N.E.Br. Neste sentido, torna-se imprescindível o estudo da composição química e conhecimento das atividades biológicas de outras espécies do gênero *Lippia*.

Espécies nativas de *Lippia* de ocorrência no semiárido tem sido alvo de estudos do Grupo de Pesquisa em “Plantas medicinais e aromáticas do semiárido”, sob a liderança do Dr. Lenaldo Muniz de Oliveira e da Dra. Angélica Maria Lucchese, voltadas para a coleta, caracterização, domesticação, bioprospecção, conservação e uso de recursos de espécies nativas do semiárido. Entre os estudos realizados merece destaque o realizado por Oliveira (2014), que avaliou as características morfoanatômicas, composição química e atividade biológica de espécies nativas pertencentes ao gênero *Lippia*, com ênfase para *L. thymoides*, *L. lasiocalycina*, *L. insignis* e *L. bromleyana* Moldenke. Os dados obtidos ofereceram importante contribuição no incremento de informações a cerca do perfil fitoquímico e atividade biológica das espécies.

1.3. Espécies do gênero *Lippia* estudadas

1.3.1. *Lippia lasiocalycina* (Cham, 1832)

Lippia lasiocalycina é uma espécie sinônima de *Lippia subracemosa* com ocorrência descrita na Amazônia, Caatinga, Cerrado e Mata Atlântica. No Brasil ocorre nas regiões Nordeste, no Estado da Bahia; Centro-Oeste, no Estado do Mato Grosso; Sudeste, em Minas Gerais e São Paulo e Sul, no Estado do Paraná (SALIMENA et al., 2015). São escassas as informações a cerca do potencial bioativo desta espécie (Figura 1).



Figura 1: (A) Destaque para as folhas, (B) e ramificação da espécie *L. lasiocalycina* (Cham, 1832), Feira de Santana, Bahia, Brasil. Foto: SANTOS, D.R.dos, 2017.

1.3.2 *Lippia insignis* (Moldenk, 1976)

Lippia insignis é uma espécie nativa do Brasil, com endemismo no Estado da Bahia, região Nordeste, com ocorrência restrita aos campos rupestres da Chapada Diamantina (SALIMENA et al., 2015). Esta espécie caracteriza-se por apresentar arbusto com até 2 metros de altura, pouco ramificado, aromático; folhas ovado-deltóides, coriáceas, escabras, verde-escuras adaxialmente; inflorescências paucifloras; flores magenta, encontrada em junho (MOLDENKE, 1965) (Figura 2). Devido aos processos de fragmentação ocasionados pelas ações antrópicas relacionadas com a exploração irracional dos recursos naturais das áreas de ocorrência de *L. insignis*, esta aparece como espécie vulnerável à extinção, segundo o Centro Nacional de Conservação da Flora (CNC FLORA, 2012). Também são escassas as informações a cerca da utilização popular dessa espécie, bem como estudo do seu potencial biológico.



Figura 2: (A) inflorescência e (B) Folhas da espécie *L. insignis* (Moldenk 1976), Feira de Santana, Bahia, Brasil. Foto: SANTOS, D.R. dos, 2017.

1.3.3. *Lippia thymoides* (Martius & Schauer, 1847)

A espécie *L. thymoides*, conhecida popularmente como alecrim do mato ou alecrim do campo, caracteriza-se por apresentar forma arbustiva de 0,5 a 1,5 m de altura, ramos glabros e quadrangulares; folhas opostas nos ramos normais, fasciculadas nos braquiblastos, discolors, coriáceas, com 0,5 a 1 cm de comprimento; pecioladas; pecíolo com 0,5 a 0,8 mm de comprimento, membranácea, oblanceolada a espatulada, ápice arredondado, margem inteira, base atenuada; venação hifódroma; inflorescência até 6 mm de comprimento, axilares, solitárias, subglobosas, compactas (MELO et al., 2010) (Figura 3). O conhecimento etnobotânico a cerca das propriedades de *L. thymoides* demonstram sua utilização na medicina popular como importante agente no tratamento de infecções cutâneas, além da utilização em rituais religiosos (GUTIERREZ et al., 2010). SILVA et al. (2015) publicaram um importante trabalho sobre a atividade farmacológica e o uso tradicional de *L.thymoides*. Foram verificadas no estudo atividades antimicrobiana, antioxidante, antinoiceptiva e anti-inflamatória.



Figura 3: (A) Ramificação (destaque para a forma arbustiva), (B) inflorescência da espécie *L. thymoides* (Martius & Schauer 1847). Feira de Santana, Bahia, Brasil. Foto: SANTOS, D.R. dos, 2017.

1.4. Metabólitos secundários das plantas

As plantas produzem e armazenam uma variedade de compostos orgânicos que apesar de aparentemente não possuírem função direta no seu crescimento e desenvolvimento, são de essencial importância para a sua sobrevivência no ambiente. Tais compostos, denominados de metabólitos secundários, desempenham funções como proteção contra herbívoros e microrganismos patogênicos, ou atração de polinizadores e dispersores de estruturas reprodutivas (TAIZ e ZEIGER, 2006).

Os metabólitos secundários de plantas são constituídos de diversas classes de compostos voláteis ou fixos. Os compostos voláteis, também conhecidos como óleos essenciais; são misturas complexas de substâncias voláteis, lipofílicas, líquidas, incolores ou ligeiramente amareladas, que possuem como característica básica o cheiro e o sabor. Seus constituintes variam entre hidrocarbonetos terpênicos, aldeídos, cetonas, fenóis, lactonas, cumarinas, ácidos orgânicos entre outros e, na mistura, existe uma variação na concentração desses compostos, sendo um deles o composto majoritário. Localizam-se em estruturas secretoras especializadas, como pelos glandulares (tricomas),

células parenquimáticas diferenciadas, canais oleíferos ou ainda em bolsas lisígenas ou esquizolisígenas e podem ocorrer em apenas um órgão vegetal ou em toda a planta (CARDOSO et al., 2001).

Os óleos essenciais destacam-se entre os principais metabólitos secundários de significativo interesse encontrados nas plantas medicinais, podendo ser obtidos tanto de partes das plantas por meio de destilação por arraste com vapor d'água ou por esmagamento de pericarpos de frutos cítricos por exemplo. Os óleos essenciais apresentam funções biológicas extremamente importantes no reino vegetal, como a atração de agentes polinizadores, repelência de insetos e a proteção contra determinados fitopatógenos. Atualmente, o interesse pelos óleos essenciais decorre de seu intenso uso na indústria química, principalmente farmacêutica, alimentícia, cosmética e agroquímica (ROZWALKA et al., 2008; SILVA et al., 2015; MIRANDA et al., 2016).

Além dos óleos essenciais, as plantas produzem diversos compostos fixos que podem ser obtidos de diferentes formas. Os extratos de plantas, obtidos na forma de macerados de várias partes de vegetais, com a utilização de diferentes solventes, representam a forma preliminar de obtenção de compostos fixos. Consistem num excelente recurso que pode vir a ser utilizado, devido ao baixo custo, fácil emprego, por minimizar problemas ambientais e constituir importantes agentes no controle de pragas (SCHWAN-ESTRADA et al., 2000).

Os extratos de plantas podem ser fracionados com diferentes solventes e, desta maneira, podem ser carregados diversos metabólitos secundários a partir de solventes com diferentes polaridades. O extrato metanólico de plantas possui o maior número de metabólitos, gerando por exemplo, as frações hexânica; clorofórmica e acetato de etila, que carregam substâncias como esteroides e terpenos; lignanas flavonoides, triterpenos e cumarinas; flavonoides, taninos e saponinas, respectivamente (CECHINEL FILHO e YUNES, 1998). A obtenção e fracionamento de extratos, seguido da avaliação da atividade biológica representa uma forma lógica e eficiente para a prospecção de espécies de interesse farmacológico, utilizada na grande maioria dos trabalhos científicos.

1.5. Utilizações de produtos naturais no controle biológico de insetos

Das interações entre plantas e animais mais comuns na natureza, a interação inseto-planta é a que mais chama a atenção. Normalmente esta interação beneficiada pelo processo co-evolutivo decorre de uma série de alterações dinâmicas recíprocas em

ambos os organismos (RUPERT; BARNES, 1996).

De acordo com Gallo et al.(2002) o termo “inseto-praga” caracteriza-se quando há um aumento desordenado de uma determinada população de inseto, ocasionando danos em plantas ou produtos de plantas e está diretamente relacionado a perdas na produção e prejuízos econômicos. Atualmente, o uso indiscriminado de insumos químicos para o controle de “pragas” tem proporcionado um desequilíbrio no número de insetos benéficos, além de ocasionar uma pré-seleção dos insetos resistentes a estes compostos (MARANGONI et al., 2012).

O uso dos inseticidas químicos, durante muito tempo, foi à alternativa mais recorrente para o controle de pragas. Devido aos inúmeros problemas fitossanitários decorrentes do seu uso abusivo, a exemplo: do acúmulo residual sobre os alimentos , contaminação do solo e águas, além dos efeitos progressivos nocivos a saúde humana, abordados no livro “Primavera Silenciosa” da autora Rachel Carson (1962), atualmente, está proibido o uso de pesticidas sintéticos, como o DDT, clordano, aldrin e endrin (inseticidas do grupo dos organoclorados), além do malathion e parathion (organofosforados). No entanto, muitos compostos do grupo dos carbamatos, ditiocarbamatos, benzoil ureias, diacilhidrazinas, amidinos, hidrazonas, triazinaminas e piretroides ainda têm seus usos permitidos (PINTO-ZEVALLOS; ZARBIN, 2013). Comprovadamente, os efeitos residuais dos inseticidas sintéticos ao longo dos anos levam a sua acumulação em tecidos vegetais e na cadeia alimentar a curto e longo prazos, cujos efeitos negativos podem ser observados através da contaminação do solo e águas, intoxicação letal de indivíduos não alvo, além dos efeitos nocivos progressivos à saúde humana (D´AMATO et al., 2002).

Deste modo, o interesse no uso de óleos e extratos vegetais para o controle de pragas é a cada dia crescente, principalmente devido à popularização da agricultura sustentável, que tem por objetivo a produção de alimentos livre de resíduos de agrotóxicos, priorizando a manutenção da biodiversidade local, preservação e qualidade da água e dos solos. Diante da necessidade da redução do uso dos agrotóxicos, o número de estudos que utilizam a produção de insumos biológicos, principalmente extratos e óleos de espécies vegetais, para a validação do seu potencial biocida é crescente e têm oferecido informações valiosas sobre a composição e atuação dos produtos gerados por estes no combate às pragas (DIETRICH et al., 2011). Partindo deste princípio; a utilização de plantas como fonte de fitoinseticidas mostra-se uma alternativa com inúmeros benefícios para o meio ambiente como um todo, se comparado ao uso dos inseticidas sintéticos

(CAMPANHOLA; VALARINI, 2001).

Uma ampla variedade de plantas possuem ação inseticida cientificamente reconhecida. Dentre as famílias mais recorrentes na literatura destacam-se as famílias MELIACEAE, com ênfase para as espécies *Azadiractha indica* (nim) e *Melia azedarach* (cinamomo) (MIGLIORINI et al., 2010); LAMIACEAE, destacando-se as espécies *Mentha piperita*, *Mentha pulegium* e *Mentha spicata*, variedades de hortelã, que possuem ação repente contra pulgas, formigas, piolhos, mosquitos, carrapatos e mariposas (PAVELA et al., 2014), alecrim (*Rosmarinus officinalis*), manjeriço (*Ocimum basilicum*) (VELOSO et al., 2015), tomilho (*Thymus vulgaris*) com ação carrapaticida (LIMA e CARDOSO., 2007); PIPERACEAE: *Piper aduncum* (pimenta-de-macaco) (PITON et al., 2014); ASTERACEAE: *Artemisia vulgaris* (SCARIOT et al., 2016), *Chrysanthemum cinerariaefolium* e *Chrysanthemum cinereum*, que produzem nas sementes ou flores um composto denominado piretrina, que possuem ação inseticida contra pulgas, baratas, mosquitos, pulgões, tripses, moscas das frutas, gafanhotos, lagartas, cochonilhas, percevejos, besouros, pulgas, piolhos e ácaros (COX,2002); RUTACEAE: *Ruta graveolens* (arruda) (AURNHEIMER et al., 2012); SOLANACEAE: *Nicotiana tabacum* (Tabaco) (MORATORE et al., 2009); POACEAE: capim-limão (*Cymbopogon citratus*) (LIMA et al., 2008), citronela (*Cymbopogon winteriana*) com ação comprovada contra pernilongos (MAIA e PARENTE JÚNIOR, 2008); MYRTACEAE: cravo (*Eugenia caryophyllus*), Eucalipto: *Eucalyptus globulus*; *Eucalyptus citriodora* (CHAGAS et al., 2002; OOTANI et al., 2011); VERBENACEAE: *Lippia sidoides* e *Lippia gracillis* (MELO, 2014).

A produção de metabólitos secundários por plantas corresponde uma importante alternativa no controle de pragas e sua relevância pode ser atribuída à produção de compostos químicos com diferentes funções sobre diversos organismos. Tais funções podem ser utilizadas como estratégia ao manejo de insetos, atuando na repelência, inibição de oviposição, alimentação, além de alterações no sistema hormonal, causando distúrbios no desenvolvimento, deformações, infertilidade e mortalidade nas diversas fases dos insetos (PINO et al., 2013). Entre as principais e mais estudadas classes de compostos químicos de interesse para o manejo de insetos em agroecossistemas estão os terpenos, compostos nitrogenados e fenólicos; com destaque para substâncias como os alcaloides, aminas, glicósidos cianogênicos, glicosinolatos, monoterpenos, lactonas sesquiterpênicas, diterpenoides, saponinas, limonoides, cucurbitacinas, fenois e flavonoides (VIEGAS JUNIOR., 2003)

Os terpenos possuem uma importante função ecológica como defensivo de plantas

(VIEGAS JR, 2003). Estudos demonstram a ação inseticida de monoterpenos, a exemplo do limoneno, carvona, linalol, carvacrol, γ terpineno, *P* cimeno, geraniol β -cariofileno e neral, principais componentes dos óleos essenciais de representantes da família verbenaceae (TEIXEIRA et al., 2014; LIMA et al., 2016). Niculau et al. (2013) avaliando a atividade inseticida dos quimiotipos dos óleos essenciais de *Pelargonium graveolens* e *Lippia alba* (Mill N. E. Brown) sobre *Spodoptera frugiperda* (J. E. Smith) demonstraram o alto potencial inseticida de *L. alba*. Os autores atribuíram os resultados positivos devido a presença compostos majoritários encontrados nos óleos essenciais desta espécie, a exemplo de limoneno, carvona, geraniol, neral e linalol. Outros estudos relatam a produção de diferentes metabólitos por plantas, incluindo representantes da família Verbenaceae em resposta aos ataques de diferentes insetos-pragas, nos quais destaca-se a presença dos terpenos (ZANDI-SOHANI et al., 2012; PEIXOTO et al., 2015).

Um estudo realizado por Silva (2015) relatou que a produção de diferentes flavonoides nos folíolos das cultivares de soja, a exemplo de daidzina, rutina e quercetina, em resposta ao ataque de *Anticarsia gemmatalis* (Hübner, 1818) (Lepidoptera: Noctuidae); que torna a planta menos palatável. O autor concluiu que a produção destes metabólitos está diretamente relacionada à resistência da planta, uma vez que os cultivares que não apresentaram a produção dos flavonoides mostraram-se susceptíveis ao ataque do inseto. Outro exemplo da produção de flavonoides em plantas no combate às pragas é a rotenona, um isoflavonóide encontrado nas raízes e rizomas de algumas plantas tropicais do gênero *Derris* que tem mostrado eficiência no combate a coleopteros (ALECIO et al., 2010). Trindade et al. (2008) relataram a eficiência de compostos nitrogenados, como aspidrofractina, 15-demetoxipirifolina e 15-formilaspidofractin, obtidos do extrato da casca do caule de *Aspidosperma pyrifolium* sobre a mortalidade de larvas de *Plutella xylostella* (Linnaeus, 1758) (Lepidoptera: Plutelidae) em *Brassica oleracea* (Couve em Flor).

1.6 Espécies de insetos-praga alvos do estudo

Dentre as principais pragas que causam danos econômicos ao homem podemos citar os gorgulhos de grãos armazenados, especificamente *Callosobruchus maculatus* (Coleoptera: Bruchidae) (Fabricius, 1775) e *Nasutitermes corniger*. (Isoptera: Termitidae) (Motschulsky, 1855), conhecidos como cupins arborícolas ou de madeira seca, alvos desse estudo.

1.6.1. *Callosobruchus maculatus*. Coleoptera: Bruchidae (Fabricius, 1775)

Callosobruchus maculatus (Fabr., 1775) popularmente conhecido como caruncho do feijão é um besouro pertencente ao filo dos Arthropodes, classe, Insecta, ordem, Coleoptera, superfamília Chrysomelidae e subfamília Bruchinae, é o principal causador a feijões do gênero *Vigna* (CASTRO et al., 2010). O feijão *Vigna* é um dos alimentos mais importantes na alimentação nas regiões tropicais e neotropicais, principalmente nas Américas, onde corresponde a 47% da produção mundial. No Brasil, o comércio feijoeiro movimentava expressivamente o PIB nacional, com grande contribuição da região Nordeste, com registros entre os anos de 2003 a 2004 de 27% da produção total de feijão produzido no período (AGRIANUAL, 2006). Segundo dados cedidos pelo Conselho Nacional de Abastecimento (CONAB, 2016), o Nordeste destaca-se como a segunda maior região em produção do feijão-caupi (*Vigna unguiculata*), com 150,5 mil toneladas produzidas no período de 2015 a 2016.

Callosobruchus maculatus caracteriza-se pela presença de cabeça, tórax e abdômen com coloração escura, apresentando elitros estriados e pubescência no tórax, além de três listras escuras no élitro (Figura 4). Estes possuem longevidade média de sete a nove dias (GALLO et al., 2002). *C. maculatus* é considerado uma praga interna primária, e sua capacidade de penetração e alimentação das larvas no interior dos grãos se deve ao fato destes insetos possuírem um alto potencial biótico e plofifágico, além de realizarem, reprodução cruzada, o que ocasiona a rápida infestação dos grãos, provocando perda de peso, redução do poder germinativo das sementes, do valor nutritivo dos grãos e do grau de higiene do produto, pela presença de excrementos, ovos e insetos (ALMEIDA et al., 2006).



Figura 4: (A) Espécime de *Callosobruchus maculatus*, Fonte: Hungarian Natural History (FABR. 1775); (B) Grãos de Feijão-Caupi (*Vigna unguiculata*), Fonte: Eugênia Ribeiro/ EMBRAPA (Sfrago. uol.com. br).

Diante da necessidade de controle desta praga, a fim de evitar maiores danos à economia, estudos preliminares utilizando extratos e óleos de plantas têm demonstrado resultados positivos, a exemplo dos resultados obtidos por Almeida et al. (2006) e Santos et al. (2007) ao testarem extratos e óleos essenciais contra insetos-pragas de grãos armazenados verificaram grande potencial inseticida dos produtos testados. Do mesmo modo, Freire et al. (2016) utilizaram o pó vegetal das espécies *Solanum melongena L.* e *Capsicum annum L.* contra *C. maculatus* e obtiveram resultados satisfatórios, com mortalidade observada de 100% dos insetos.

1.6.2. *Nasutitermes corniger*. Isoptera: Termitidae (Motschulsky, 1855)

Os cupins são insetos eusociais que possuem ampla distribuição terrestre principalmente em regiões tropicais. Pertencem ordem Isoptera, a qual possui 2.900 espécies descritas, distribuídas em sete famílias de ocorrência principalmente em regiões neotropicais. No Brasil ocorrem cerca de 300 espécies, divididas em quatro famílias: Kalotermitidae, Rhinotermitidae, Serritermitidae e Termitidae (LIMA et al., 2007).

A família Termitidae é a mais representativa da ordem Isoptera em número de

espécies, sendo que, no Brasil, a maioria das espécies de cupins descritas pertence a esta família. Os Termitidae caracterizam-se por apresentarem diferenças nos padrões morfológico, fisiológico e funcional das castas que confere o alto nível de organização social destes indivíduos. De forma sumária, a estrutura de uma colônia é formada basicamente por reis e rainhas, responsáveis pela reprodução, operárias, responsáveis pela procura de alimento, cuidado à prole, alimentação das outras castas, construção ou reparação do cupinzeiro e Soldados, responsáveis pela defesa da colônia (CRUZ et al., 2014). Dentre os 62 gêneros que compõem a família Termitidae, o gênero *Nasutitermes* é o mais representativo, com 243 espécies, sendo 70 espécies de ocorrência em regiões neotropicais (CONSTANTINO, 2002).

Apesar do papel ecológico importante, participando da reciclagem de minerais e nutrientes no solo e atuando na recuperação de ambientes degradados, nos últimos anos o aumento do processo de urbanização reduziu a oferta natural de alimentos a esses animais, levando ao aparecimento de espécies sinantrópicas de cupins que acabaram se tornando potenciais pragas, capazes de infestar e alimentar-se de uma diversidade de materiais como: fios, couro, tecidos entre outros, além de causar danos as construções e residências, ocasionando prejuízos para a economia (CRUZ et al., 2012).

Nasutitermes corniger é uma das principais espécies de importância do gênero *Nasutitermes*, devido aos grandes danos que ocasiona, pois consomem as madeiras das edificações e mobiliários internos. Seu rápido estabelecimento deve-se à pouca seletividade quanto à madeira infestada (COSTA-LEONARDO, 2002) (Figura 5). Atualmente são utilizados vários métodos de controle de cupins, a exemplo da utilização de iscas, cupinícidas e mais comumente o uso de barreiras aos amadeiramentos a base de produtos de origem química, como os fosforados, carbamatos, piretroides, organoclorados e fenilpirazois (CRUZ et al., 2012). Entretanto, diante dos impactos negativos destes produtos, tanto para o homem como para o meio ambiente, é crescente a busca por novas alternativas no controle dos cupins-pragas. Mais recentemente, a utilização de produtos naturais de plantas tem se mostrado uma alternativa bastante eficaz e viável, se comparado ao uso de agroquímicos (MARANGONI et al., 2012).



Figura 5: A: Espécime de *Nasutitermes coniger* (Motschulsky, 1855) fonte: [http: muito mais verde.blogspot.com](http://muito.mais.verde.blogspot.com), B: Colônia de *N. coniger* em madeira da espécie *Caesalpineia echinata*, LAM. 1785 (Pau-Brasil), Feira de Santana, Bahia, Brasil. Fonte: SANTOS, D. R. dos, 2017.

Considerando a importância econômica dos insetos-praga *Callosobruchus maculatus* e *Nasutitermes corniger* e a necessidade de buscar formas de controle menos nocivas ao homem e ao meio ambiente, aliado à grande riqueza de plantas fornecedoras de óleos essenciais e extratos com ação inseticida o presente estudo teve como objetivo avaliar o potencial inseticida de espécies do gênero *Lippia* ssp contra *C. maculatus* e *N. corniger*.

REFERÊNCIAS

AGRIFANUAL 2006: **Anuário da agricultura Brasileira**. 504. p, São Paulo: FNP, 2005.

ALECIO, M. R. et al. Ação inseticida do extrato de *Derris amazonica* para *cerotoma arcuatus* olivier (Coleoptera: Chrysomelidae). **Acta amazonica**, v.40, n.4, p.719-728, 2010.

ALMEIDA, M. C. S. et al. Flavonoids and other substances from *Lippia sidoides* and their antioxidant activities. **Química Nova**, v. 33, n.10, p.1877-1881, 2010.

ALMEIDA, S. A. et al. Controle do caruncho *Callosobruchus maculatus* (Fabr., 1775) (Coleoptera: Bruchidae) utilizando extratos de *Piper nigrum* L. (Piperaceae) pelo método de vapor. **Ciência Agrotécnica**, v.30, n.4, p.793-797, 2006.

- AURNHEIMER, R. C. M. et al. Eficácia *in vitro* de *Ruta graveolens*, nas formas fitoterápica e homeopática, para o controle de carrapatos. **ars veterinaria**, Jaboticabal, SP, v.28, n.2, p. 122-127, 2012.
- BOTELHO, M. A. et al. **Manejo Ecológico de Pragas**. Fundação Agricultura e Meio Ambiente. Fundação Agricultura e meio ambiente, República dominicana, 1º ed , p.33, 2004.
- BRITO, D. I. V. et al. Análise fitoquímica e atividade antifúngica do óleo essencial de folhas de *Lippia sidoides* Cham. e do Timol contra cepas de *Candida* spp. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v.17, n.4, p.836 – 844, 2015.
- CAMPANHOLA, C.; VALARINI, P. J. A. Agricultura orgânica e seu potencial para o pequeno agricultor. **Cadernos de Ciência e Tecnologia**, v.18, n. 3, p. 69-101, 2001.
- CARDOSO, M. G. et al. A. **Fitoquímica e química de produtos naturais**. Lavras: UFLA/FAEPE, 67p, 2001.
- CARSON, Rachel, 1965. **Silent spring**. Houghton Mifflin Company, 133.p, 2002.
- CASTRO, M. J. P. et al. Efeito de pós vegetais sobre a oviposição de *Callosobruchus maculatus* (Fabr.) (Coleoptera: Bruchidae) em feijão-caupi. **Bioassay**, v.5, n.4, p.1-4. 2010.
- CECHINEL FILHO, V.; YUNES, R. A. Estratégias para a obtenção de compostos farmacologicamente ativos a partir de plantas medicinais. Conceitos sobre modificação estrutural para otimização da atividade. **Química nova**, v. 21, n.1, 1998.
- CHAGAS, A. C. S. et al. Efeito acaricida de óleos essenciais e concentrados emulsionáveis de *Eucalyptus* spp. em *Boophilus microplus*. **Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science**, v.39, p.247-253, 2002.
- CNC FLORA, **Centro Nacional de Conservação da Flora**, 2012. Disponível em: <www.cncflora.jbrj.gov.br> acesso em outubro de 2015 às 11:32.
- CONAB- **Companhia Nacional de Abastecimento**. Acompanhamento da Safra Brasileira de Grãos. SAFRA 2015/16 - n. 4. Brasília, v. 3 p. 1-154, Janeiro, 2016.
- COSTA-LEONARDO, A. M. **Cupins-Praga: morfologia, biologia e controle**. Rio Claro SP: Divisa, 1ª ed. 128 p, 2002.
- COX, C. Pyrethrins/Pyrethrum. **Journal of Pesticide Reform**, v. 22, p.14-20, 2002.
- CRUZ, C. S. A. et al. Uso de Partes Vegetativas em Forma de Pó Seco no Controle de Cupins *Nasutitermes* SP. (Insecta: Isoptera) Termitidae. **Revista Verde de Agroecologia e Desenvolvimento Sustentável**, Mossoró, v.7, n. 2, p.102- 105, 2012.
- CRUZ, M. N. S DE LA. et al. Terpenos em cupins do gênero *Nasutitermes* (Isoptera, Termitidae, Nasutitermitinae). **Química Nova**, v. 37, n. 1, p.95-103, 2014.
- CONSTANTINO, R. **The pest termites of South America: taxonomy, distribution and status**. Journal of Applied Entomology, n. 126, p. 355-365, 2002.
- D'AMATO, C. et al. DDT (Dicloro Difenil Tricloroetano): toxicidade e contaminação

ambiental - uma revisão. **Química Nova**, v.25, n.6, p.995-1002, 2002.

DIETRICH, F. et al. utilização de inseticidas botânicos na agricultura orgânica de arroio do meio/rs. **Revista brasileira de agrociência**, v.17, n.2-4, p.251-255, 2011.

FONTENELLE, R. O. S. et al. Chemical composition, toxicological aspects and antifungal activity of essential oil from *Lippia sidoides* Cham. **Journal of Antimicrobial Chemotherapy**, v.59, n.5, p. 934– 940, 2007.

FREIRE, G. F. et al. Bioatividade de *solanum melongena* e *capsicum annuum* sobre *Callosobruchus maculatus* (coleoptera: bruchidae). **Acta biol. Colomb**, v.21, n.1, p: 123-130, janeiro-abril, 2016.

GALLO, D. et al. **Entomologia Agrícola**. Piracicaba: FEALQ, 920 p. 2002

GIULIETTI, A. M., et al. Diagnóstico da vegetação nativa do bioma Caatinga. Biodiversidade da Caatinga: áreas e ações prioritárias para a conservação. **Ministério do Meio Ambiente**, Brasília; p.48-90, 2004.

GOMES, S. V. F., et al. Aspectos químicos e biológicos do gênero *Lippia* enfatizando *Lippia gracilis* Schauer. **Eclética Química**, v. 36, n. 1, p. 64-77, 2011.

GUTIERREZ, I. E. M. et al. **Plantas Medicinais no Semiárido: conhecimentos populares e acadêmicos**. Edufba, Bahia, 130.p, 1º ed, 2010.

LEAL, I. R. et al. Mudando o curso da conservação da biodiversidade na Caatinga do /Nordeste do Brasil. Megadiversidade. **Researchgat**. v.1, n.1, p.139-146, 2005.

LIMA, A. D. et al. Assessment of the repellent effect of *Lippia alba* essential oil and major monoterpenes on the cattle tick *Rhipicephalus microplus*. **Medical Vet Entomology**. v.30, p.73–77, 2016.

LIMA, J. T. et al. Recursos alimentares explorados pelos cupins (Insecta: Isoptera). **Biota Neotropical**. v.7, n.2. p. 244-250, 2007.

LIMA, R. K. et al. Composição dos óleos essenciais de Anis-estrelado *Illicium verum* L.e de capim-limão *Cymbopogon citratus* (DC.) Stapf; Avaliação do Efeito Repelente sobre *Brevicoryne brassicae* (L.) (Hemiptera: Aphidae). **Bioassay**. v.3, p.1-6, 2008.

LIMA, R. K.; CARDOSO, M. G. Família Lamiaceae: importantes óleos essenciais com ação biológica e antioxidante. **Fitos**, v. 3, p. 14–24, 2007.

LOVATTO, P. B. et al. A interação co-evolutiva entre insetos e plantas como estratégia ao manejo agroecológico em agroecossistemas sustentáveis. **Interciência**, v.37, n.9, p .657-663, 2012.

LORENZI, H.; MATOS, F. J. A. Plantas Medicinais do Brasil: Nativas e Exóticas. Nova Odessa, São Paulo: **Instituto Plantarum**, 512 p, 2002.

MAIA, S. C.; PARENTE JUNIOR, W. C. Citronela, aliada natural para repelir pernilongos **Norte Científico**, v.3, n.1, 7.p, 2008.

MARANGONI, C. et al. Utilização de óleos essenciais e extratos de plantas no controle de insetos. **Revista de Ciências Ambientais**, v.6, n.2, p.95-112, 2012.

MELO, J. I. M. et al. Verbenaceae *Sensu lato* em um trecho da Esec Raso da Catarina, Bahia, Brasil. **Revista Caatinga**, v. 23, n. 3, p. 41-47, 2010.

MELO, R. C. **Atividade inseticida de quimiotipos de *Lippia gracilis* sobre *Diaphania hyalinata* e *Cryptolestes ferrugineus***. Dissertação de mestrado apresentada ao programa de pós-graduação em agricultura e biodiversidade, Universidade Federal de Sergipe, São Cristóvão, 49. f, 2014.

MIGLIORINI, P. et al. Eficiência de extratos vegetais no controle de *Diabrotica speciose* (Germar, 1824) (Coleoptera: Chrysomelidae), em: laboratório. **Biotemas**, v.23, n.1, p.83-89, 2010.

MOLDENKE, H. N. Materials towards a monograph of the genus *Lippia*. **Phytologia**, v. 12, p. 252-312, 1965.

MIRANDA, C. A. S. F. et al. Óleos essenciais de folhas de diversas espécies: propriedades antioxidantes e antibacterianas no crescimento espécies patogênicas. **Revista Ciência Agrônômica**, v.47, n. 1, p. 213-220, 2016.

MORATORE, M. et al. Utilização de *Drosophila melanogaster* como bioindicador na avaliação da letalidade de extrato de *Nicotiana tabacum*. **Arq. Inst. Biol.**, São Paulo, v.76, n.3, p.471-474, 2009.

NICULAU, E. S. et al. Atividade inseticida de óleos essenciais de *pelargonium graveolens* e *lippia alba* (mill) n. e. brown sobre *Spodoptera frugiperda* (j. e. smith). **Química Nova**, v.36, n.9, p.1391-1394, 2013.

OLIVEIRA, A. R. M. F, de. **Morfoanatomia, composição química e atividade biológica do óleo essencial de espécies nativas de *Lippia***. Tese apresentada ao curso de pós-graduação em Recursos Genéticos Vegetais. Feira de Santana, 114.p, 2014.

OOTANI, M. A. et al. Toxicidade de Óleos Essenciais de Eucalipto e Citronela sobre *Sitophilus zeamais* Motschulsky (Coleoptera: Curculionidae). **Bioscience Journal**, v. 27, n. 4, p. 609-618, 2011.

PASCUAL, M. E., et al. *Lippia* traditional uses, chemistry and pharmacology: a review. **Journal of Ethnopharmacology**, v.76, p.201-214, 2001.

PAVELA, R., KAFFKOVÁ, K., KUMŠTA, M. Chemical composition and larvicidal activity of essential oils from different *Mentha* L. and *Pulegium* species against *Culex quinquefasciatus* Say (Diptera: Culicidae). **Plant Protect. Sci**, v.50, n. 1, p. 36–42, 2014.

PEIXOTO, M. G. et al. Toxicity and repellency of essential oils of *Lippia alba* chemotypes and their major monoterpenes against stored grain insects. **Industrial Crops and Products**, v.71, p.31-36, 2015.

PINO, O. et al. Plant secondary metabolites as alternatives in pest management. II: An overview of their potential in Cuba. **Revista Protección Vegetal**, v.28, n.2, p.95-108, 2013.

- PINTO-ZEVALLOS, D. M. et al. A química na agricultura: perspectivas para o desenvolvimento de tecnologias sustentáveis, **Química Nova**, v.36, n.10, p. 1509-1513, 2013.
- PITON, L. P. et al. Natural insecticida based-leaves extracts of *Piper aduncum* (Piperaceae) in the controlo of stink bug brown soybean. **Ciência rural**, v.44, n.11, p.1915-1920, 2014.
- ROZWALKA, L. C. et al. Extratos, de cactos e óleos essenciais de plantas medicinais e aromáticas na inibição de *Glomerella cingulata* e *Colletotrichum gloeosporioides* de frutos de goiaba. **Ciência Rural**, Santa Maria, v.38, n.2, p.301-307, 2008.
- RUPPERT, E. E; BARNES, D. R. **Zoologia dos invertebrados**. 6 ed. São Paulo: Rocca, 1029. P, 1996.
- SALIMENA, F. R.; MÚLGURA, M. E. **Notas sobre o gênero *Lippia* (verbenaceae) no brasil**, Departamento de Botânica, Instituto de Ciências Biológicas, Universidade Federal de Juiz de Fora, v. 33, n.1, p. 45-49, 2015.
- SALIMENA, F. R. G. et al. Verbenaceae. **Livro Vermelho da Flora do Brasil**. CNC FLORA. Instituto de Pesquisas Jardim Botânico do Rio de Janeiro.Rio de Janeiro, p.399-405. 2013.
- SANTOS, M. R. A. et al. Atividade inseticida do óleo essencial de *Schinus terebinthifolius* Raddi sobre *Acanthoscelides obtectus* Say e *Zabrotes subfasciatus* Boheman. Porto Velho, RO: **Embrapa (Boletim de Pesquisa e Desenvolvimento)**, v.48, 13 ed, n.1, 13.p. 2007.
- SCARIOT, A. **Panorama da Biodiversidade Brasileira**. Conservação da Biodiversidade: Legislação e Políticas Públicas. Brasília, Câmara dos Deputados. 130.p, 2010
- SCARIOT, M. A. et al. *Salvia officinalis* essential oil in bean weevil contro. **Pesquisa Agropecuária Tropical**, Goiânia, v. 46, n. 2, p. 177-182, 2016.
- SCHWAN-ESTRADA, K. R. F. et al. **Uso de extratos vegetariano controle de fungos fitopatogênicos**. Floresta, v.30, n.1 / 2, p.129-137, 2000.
- SILVA, F. S. et al. Chemical composition and pharmacological properties of the essential oils obtained seasonally from *Lippia thymoides*. **Pharm Biol**. v.54, n.1, 10. p, 2015.
- SILVA, L. C. et al. Delineamento de formulações cosméticas com óleo essencial de *Lippia gracilis* Schum (Alecrim deTabuleiro) de origem amazônica. **Revista Ciências Farmacêuticas Básica**, v.36, n.2, p .319-326, 2015.
- SILVA, P. L, da. **Resposta fitoquímica de soja ao ataque de *anticarsia gemmatalis* e desenvolvimento do inseto alimentado com cultivares resistentes e susceptíveis**. Tese de Doutorado apresentada ao programa de pós-graduação em Bioquímica agrícola, Universidade Federal de Viçosa. 68.f, 2015.
- SOARES, B. V.; TAVARES-DIAS, M. Espécies de *Lippia* (Verbenaceae), seu potencial bioativo e importância na medicina veterinária e aquicultura. **Biota amazônica**, v.3, n.1, p.109-123, 2013.
- SOUZA, D. S. et al. Atividade antimicrobiana do óleo essencial de *Lippia organoides* e *Lippia rotundifolia* frente a enterobactérias isoladas de aves. **Arquivo Brasileiro de**

Medicina Veterinária e Zootecnia, v.67, n.3, p. 940 – 944, 2015.

TAIZ, Lincoln; ZEIGER, Eduardo. Fisiologia Vegetal. **Artimed**, 3º ed., 722 p, 2006.

TEIXEIRA, M. L. Essential Oils from *Lippia origanoides* Kunth. and *Mentha spicata* L.: Chemical Composition, Insecticidal and Antioxidant Activities. **American Journal of Plant Science**, n°5, p. 1181-1190, 2014.

TRINDADE, R. C. P. et al. Mortality of *Plutella xylostella* larvae treated with *Aspidosperma pyrifolium* ethanol extracts. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.43, n.6, p.12,2008.

VELOSO, R. A. et al. óleos essenciais de manjeriçã e capim citronela no controle de larvas de *aedes aegypti*. **Revista verde de agroecologia e desenvolvimento sustentável**, v.10, n. 2, 2015.

VIEGAS JÚNIOR, C. Terpenos com atividade inseticida: uma alternativa para o controle químico de insetos. **Química Nova**, v. 26, n. 3, p. 390-400, 2003.

ZANDI-SOHANI, N. et al. Bioactivity of *Lantana camara* L. essential oil against *Callosobruchus maculatus* (Fabricius). **Chilean J. Agric. Res**, v. 72, n. 4, p. 502-506, 2012

CAPITULO I**DAIANE RODRIGUES DOS SANTOS****ATIVIDADE INSETICIDA *IN VITRO* DE EXTRATOS E ÓLEOS
ESSENCIAIS DE ESPÉCIES DO GÊNERO *Lippia* CONTRA
Callosobruchus maculatus (Fabr., 1775) (COLEOPTERA:
BRUCHIDAE)**

Feira de Santana-BA

2017

ATIVIDADE INSETICIDA *IN VITRO* DE EXTRATOS E ÓLEOS ESSENCIAIS DE ESPÉCIES DO GÊNERO *Lippia* CONTRA *Callosobruchus maculatus* (Fabr., 1775) (COLEOPTERA: BRUCHIDAE)

Daiane Rodrigues dos Santos¹, Lenaldo Muniz de Oliveira², Angélica Maria Lucchese³,
Jucelmo Dantas da Cruz⁴.

¹- Programa de Pós-graduação em Recursos Genéticos Vegetais da Universidade Estadual de Feira de Santana (UEFS). daibio@hotmail.com.br

²- Departamento de Ciências Biológicas da UEFS. E-mail: lenaldo.uefs@gmail.com

³- Departamento de Ciências Exatas da UEFS. E-mail: angelica.lucchese@gmail.com

⁴ Departamento de Ciências Biológicas da UEFS. E-mail: jucelmo@uefs.br

RESUMO *Callosobruchus maculatus* (Fabr., 1775) é considerada a principal praga que incide sobre os grãos armazenados do feijão *Vigna unguiculata* (L.) Walp. O controle desses insetos, usualmente, é feito com a utilização de inseticidas sintéticos, cujos efeitos residuais geram efeitos nocivos progressivos à saúde humana e do meio ambiente. Diante dos prejuízos econômicos ocasionados pela infestação deste inseto-praga e a necessidade de se buscar formas menos danosas de controle, o presente trabalho teve por objetivo avaliar o potencial inseticida de extratos e óleos essenciais (OE) das espécies *Lippia thymoides* (Martius & Schauer), *Lippia lasiocalycina* (Cham) e *Lippia insignis* (Moldenk) contra *C. maculatus*. Foram realizados testes preliminares *in vitro* para estabelecer intervalos com maior efetividade sobre a mortalidade do inseto, utilizando o método de exposição à superfície contaminada com os extratos aquosos (10%), metanólicos (50 mg/ml) e óleos essenciais (10 µl/ml), utilizando como controle negativo água destilada e solução de tween 20 (1%) e controle positivo, o agroquímico Lambda cialotrina. A mortalidade dos insetos foi contabilizada após 24 e 48 hs após a aplicação dos tratamentos. Os resultados encontrados demonstram que o OE da espécie *L. insignis* destacou-se como o tratamento mais eficiente no controle à *C. maculatus*, promovendo 92,5% de mortalidade em 48 hs. Deste modo, o óleo essencial de *L. insignis* foi diluído em cinco diferentes concentrações (10, 5, 2,5, 1,25, 0,625 µl /ml) e testado para determinação da concentração letal mediana (LC₅₀). A partir dos resultados obtidos selecionou-se a concentração de 5 µl/ml para a avaliação da eficácia do produto em duas diferentes vias de intoxicação, contato tópico e superfície contaminada e investigação da atividade subletal repelente em diferentes intervalos de tempo (12, 24, 48, 72 hs). Foi realizada também, a quantificação e identificação, através das técnicas de CG/DIC e CG/EM, dos constituintes químicos presentes nos OE's das espécies estudadas. Os resultados encontrados demonstram que a concentração do OE de *L. insinins* responsável pela mortalidade de 50% dos espécimes de *C. maculatus* foi de 3,11 µl/ml e que ambos os métodos de aplicação testados mostraram-se eficientes no controle deste inseto-praga, entretanto, não foi verificada atividade repelente do óleo essencial na concentração testada (5 µl/ml). Os principais constituintes presentes nos óleos de *L. lasiocalycina* foram o β-mirceno e *E*-ocimenona, em *L. insignis*, β-mirceno e limoneno. Para *L. thymoides*, *E*-cariofileno e o óxido de cariofileno.

Palavras chave: Verbenaceae, Gorgulho, Biopesticida.

ABSTRACT-*Callosobruchus maculatus* (Fabr.,1775) (Coleoptera: Bruchidae) affecting stored grains of the bean *Vigna unguiculata* (L.) Walp. Synthetic insecticides, whose residual effects generate progressive harmful effects on human and environmental health, usually make the control of these insects. Due to economic damage produced by the infestation of this insect-pest and the need of finding less harmful ways of control, the present work aimed to evaluate the insecticidal potential of essential oils (EO) and extracts of *Lippia thymoides* (Martius & Schauer), *Lippia lasiocalycina* (Cham) and *Lippia insignis* (Moldenk) against *C. maculatus*. Preliminary tests were conducted *in vitro* in order to establish intervals with major effectiveness on insect mortality by exposing the contaminated surface to aqueous extract (10%), methanolics (50 mg/ml) and essential oils (10µl/ml), using the distilled water Tween 20 (1%) solution as negative control, and the agrochemical Lambda- cyhalothrin as positive control. The insect mortality was quantified 24 and 48 hours after the treatment application. The results showed that the EO of *L. insignis* stood out as the most efficient in combating *C. maculatus*, promoting 92,5% of mortality in 48 hours. Therefore, the essential oil of *L. insignis* was diluted in five different concentrations (10, 5, 2,5, 1,25 and 0,625 µl/ml) and tested in order to determinate the median lethal concentration (LC₅₀). The results obtained led to the selection of the 5µl/ml concentration to evaluate the product efficacy in two different ways of intoxication, topic contact and contaminated surface, as well as to investigate the repellent sublethal activity in different periods (12, 24, 48, 72 hours). The quantification and identification, by GC/FID and GC/MS techniques, of the chemical constituents present in the studied species EO were also performed. The results revealed that 3,11 µl/ml was the concentration responsible for the mortality of 50% of *C. maculatus* specimens and both tested methods were efficient in controlling the insect-pest, however, no repellent activity in essential oils at the tested concentration (5µl/ml) have been found. The principal constituents present in oils of *L. lasiocalycina* were the β-mirceno e *E*-ocimenona, in *L. insignis*, β-myrcene and limonene. For *L. thymoides*, *E*-caryophyllene and caryophyllene oxide.

Key words: Verbenaceae, Weevil, Biopesticides

1-INTRODUÇÃO

O feijão *Vigna unguiculata*, popularmente conhecido como feijão caupi pertence à família Fabaceae e é um dos principais alimentos consumidos pela população brasileira, por ser uma excelente fonte de proteínas, carboidratos, vitaminas e minerais, além de possuir grande quantidade de fibras dietéticas e baixa quantidade de gordura (RIBEIRO et al., 2002). No Brasil, a região nordeste destaca-se, quanto ao tamanho de áreas de plantação e produtividade do feijão caupi, sendo a Bahia o estado de maior produtividade (CONAB, 2016). Entretanto, apesar da grande importância deste feijão, a utilização de práticas inadequadas de transporte e acondicionamento dos grãos leva à proliferação de pragas e consequente perda econômica (LORINI et al., 2015).

Callosobruchus maculatus (Fabr.1775) (Coleoptera, Crysomelidae: Bruchinae) é a principal espécie de insetos responsáveis pela perda da qualidade do feijão do tipo *Vigna* em estado de armazenamento. Os “brucos” ou “gorgulhos do feijão”, como são chamados os adultos de *Callosobruchus*, podem ser encontrados em sementes de várias famílias de plantas, principalmente das leguminosas, e são responsáveis pela diminuição do poder germinativo, perda da massa, redução da qualidade das sementes, além da desvalorização do produto devido à presença de indivíduos mortos e deposição de excrementos no interior dos grãos (BRITO, 2014).

Atualmente, diversos inseticidas químicos de diferentes classes toxicológicas têm sido utilizados para o controle de insetos-pragas, incluindo *C. maculatus*. Entretanto, estes nem sempre são capazes de exterminar as pragas ou evitar reinfestações. Os produtos mais utilizados atualmente comprovadamente acarretam diversos problemas para o homem e meio ambiente, como resíduos em alimentos, eliminação de inimigos naturais, intoxicação dos aplicadores, seleção de populações de pragas resistentes aos inseticidas, entre outros efeitos diretos e indiretos (PERES et al., 2005). No caso do gorgulho, mais especificamente, esse problema é ainda maior, pois a praga ataca a parte comestível e o seu controle normalmente é feito com produtos gasosos ou emulsionáveis da classe das piretrinas, pirtróides e organofosforados, altamente tóxicos, a exemplo do Fosfato de alumínio, deltametrina, bifenthrin; acetil lambda; Pirimifós-metílico e fenitrothion (LORINI et al., 2015).

Contudo, as plantas produzem e armazenam uma série de metabólitos especiais que não estão relacionados diretamente ao desenvolvimento da planta, mas a sua adaptação ao ambiente (TAIZ; ZEIGH, 2006). As diversas classes de compostos químicos que compõem

o metabolismo especial apresentam propriedades terapêuticas, medicinais e inseticidas comprovadas e mostram-se uma alternativa economicamente viável e de baixo impacto tanto para o homem quanto para o meio ambiente, se comparado a utilização de insumos químicos sintéticos (LIMA-MENDONÇA et al., 2013).

O gênero *Lippia* é composto por 200 espécies, com maior ocorrência na Cadeia do Espinhaço (MG, BA). Sua utilização vai desde medicina popular (SANTOS et al., 2014) à indústria de cosméticos (SILVA et al., 2015) e farmacêutica, com diversas propriedades comprovadas, com destaque para ação antibacteriana (LOBO et al., 2015), antifúngica (GIORDANI et al., 2015) e antimicrobiana (SOUZA et al., 2015). Entretanto, ainda são escassos estudos voltados para avaliação de espécies do gênero *Lippia* quanto ao seu potencial inseticida (SOON-IL et al., 2012). A maioria dos trabalhos disponíveis concentra-se no estudo de *L. gracillis* e *L. sidoides*, onde se tem observado a presença de compostos fitoativos promissores no controle a pragas (COITINHO, 2006; CASTRO, 2010).

Deste modo, o presente estudo objetivou ampliar os estudos do potencial bioinseticida de plantas, a partir do estudo de três espécies do gênero *Lippia* (*L. thymoides*, *L. lasiocalycina* e *L. insignis*) contra *Callosobruchus maculatus*.

2.2-MATERIAL E MÉTODOS

2.2.1 Coleta das espécies de *Lippia* utilizadas

O material vegetal das espécies *L. thymoides*, *L. lasiocalycina* e *L. insignis* foi coletado de plantas mantidas na Coleção de Plantas Medicinais e Aromáticas da Unidade Experimental do Horto Florestal, pertencente à Universidade Estadual de Feira de Santana – UEFS, Feira de Santana, Bahia. A coleta ocorreu no dia 15/06/2015 e as exsicatas encontram-se depositadas no Herbário da Universidade Estadual de Feira de Santana (HUEFS), disponíveis pelos respectivos vouchers: *Lippia thymoides*: 115371; *Lippia lasiocalycina*: 197676 e *L. insignis*: 197674.

2.2.2 Coleta e criação dos insetos

Os espécimes de *Callosobruchus maculatus* foram coletados em amostras do feijão

caupi, obtidas no centro de abastecimento da cidade de Feira de Santana e levados ao laboratório e acondicionados em potes plásticos fechados contendo feijão, no qual foram feitos furos na tampa para permitir a circulação do ar. Os potes foram mantidos em sala com temperatura ambiente e iluminação fluorescente. Constantemente realizou-se a troca dos insetos entre os potes, propiciando a manutenção de múltiplas gerações durante o experimento.

A identificação dos insetos ocorreu segundo literatura especializada de Athié e Paula (2002).

2.2.3 Obtenção e composição dos extratos e óleos essenciais

Para a obtenção do extrato aquoso (EA) o material vegetal (folhas), foi seco em temperatura ambiente e triturado em moinho até a obtenção do pó. O pó seco foi misturado a água destilada na proporção de 10g para 100 ml de água e mantidos em frascos fechados durante 24 hs. A seguir, as suspensões foram filtradas em um tecido fino (voil), obtendo-se os extratos aquosos, na concentração final de 10% (peso do pó/volume de água) (Figura 1-I).

Para a obtenção do extrato metanólico bruto (EM), as folhas após secas foram trituradas em moinhos de facas e o material vegetal (311,89 g) foi acondicionado em recipientes de vidro submetido à extração, por seis vezes consecutivas, por maceração com metanol, com troca do solvente a cada 72 hs (Figura 1-C). O EM foi concentrado em evaporador rotatório, sob pressão reduzida, em temperaturas de 40-42°C (Figura 1, D e E). Após a volatilização total do metanol em capela de exaustão, o material foi pesado, a fim de determinar o rendimento final do extrato através da equação $RET = \frac{Mf}{Mi} \times 100 =$ Rendimento de extrato total (%); Mf = massa final do extrato seco (g); Mi = massa inicial da amostra (g).

Para a extração dos óleos essenciais (OE's), 200g de folhas secas foram trituradas em liquidificador com água destilada e, em seguida, foram inseridas em balão de vidro e acrescentado água destilada em volume suficiente para cobertura total do material vegetal. O método de extração foi por hidrodestilação, utilizando-se o aparelho de Clevenger, acoplados em balões de vidro, que foram aquecidos por mantas térmicas elétricas com termostato (Figura 1-F) A extração foi conduzida durante 3 horas, contadas a partir da condensação da primeira gota, sendo verificado o volume de OE na coluna graduada do aparelho de Clevenger (Figura 1-G). Após a extração, foi adicionado ao óleo o sulfato de

sódio anidro para eliminação da água residual. Posteriormente, com o uso da pipeta do tipo Pasteur, o óleo foi coletado e acondicionado em frasco de cor âmbar e mantidos em freezer, até a realização das análises de atividade e análise química do óleo (Figura 1-H).



Figura. 1: Etapas do método utilizado: A: Folhas secas das três espécies de *Lippia* analisadas; B: pó vegetal obtido de folhas de *L. lasiocalycina*, *L. insignis* e *L. thymoides*; C: extrato metanólico obtido pós maceração; D: processo de rotaevaporação; E: Extrato bruto; F: Hidrodestilação por arraste à vapor; G: Coluna de óleo extraído da espécie *L. insignis*; H: óleos essenciais; I: obtenção do extrato aquoso; J: Arena para repelência; K: Método da superfície contaminada utilizada para a avaliação do potencial inseticida das espécies *Lippia thymoides*, *Lippia lasiocalycina* e *Lippia insignis* contra *Callosobruchus maculatus*. Feira de Santana, Bahia, Brasil. Fotos: SANTOS, D.R, dos.2017.

2.2.4 Avaliações do potencial inseticida *in vitro*

2.2.4.1 Testes preliminares

Inicialmente foram realizados testes para estabelecer uma concentração inicial capaz de ocasionar maior mortalidade dos insetos. Para o EA foi utilizado 10 gramas da massa vegetal moída diluída em 100 ml de água destilada, obtendo uma concentração final de 10%. Os EM's foram testados na concentração inicial de 50 mg/ml (m/v). Para os OE's, a concentração inicial testada foi de 1%, utilizando 500 µl de óleo para 50 ml de água destilada (v/v) equivalente a 10 µl de óleo para cada ml de água destilada. A diluição dos óleos e extratos metanólico bruto em água foi realizada com auxílio do tensoativo tween 20 na proporção 1%.

Para a realização dos testes preliminares foi utilizado o método de exposição à superfície contaminada. Placas de petri de 9,0 cm de diâmetro foram forradas com papel filtro e colocados dez grãos de feijão caupi sadios por placa. Com o auxílio de uma micropipeta, cada placa foi embebida com 1,5 ml das soluções contendo OE, EM ou EA e, em seguida foram colocados dez espécimes adultos não sexados de *Callosobruchus maculatus* por placa. As placas foram cobertas com tecido do tipo *voil* preso por um elástico, permitindo a circulação de ar. Foi realizada a contagem cumulativa dos insetos 24 e 48 horas após a aplicação dos tratamentos. Como controles foram utilizados água destilada e água destilada e tween 20 quando necessário, na mesma proporção utilizada na diluição dos óleos e extratos (controles negativos), além do agroquímico comercial, Lambda-Cialotrina (controle positivo). Para avaliação da mortalidade foram considerados vivos todos os insetos que moviam qualquer parte do corpo mesmo quando estimulados (SANTOS et al.,2007).

Em dias sequenciais foram realizados experimentos individuais para cada produto testado, extratos aquosos, metanólicos e óleos essenciais, sendo que cada experimento ocorreu de forma inteiramente casualizada, sendo 5 tratamentos com 4 repetições para os ensaios com o extrato aquoso, e 6 tratamentos com 4 repetições para os ensaios com óleo essenciais e o extrato metanólicos, devido ao controle adicional com água destilada e tween 20. Os dados foram analisados no programa estatístico R (R Core Team, 2015) versão 3.2.2. Por não obedecerem aos pressupostos de normalidade e homogeneidade, os dados foram analisados através do teste não paramétrico de Kruskal Wallis para o nível de 5% de probabilidade e comparados por Rank.

2.2.5 Determinação da Concentração Letal Mediana (CL₅₀)

Após o estabelecimento da faixa inicial nos testes preliminares, o óleo da espécie *Lippia insignis* (tratamento que promoveu maior atividade inseticida) foi diluído em cinco diferentes concentrações em progressão geométrica, 10, 5, 2,5, 1,25 e 0,625 µl/ml, para determinação da concentração capaz de ocasionar a mortalidade de pelo menos 50% dos indivíduos e, como controle experimental, utilizou-se solução de água destilada (ADE) e tween 20 (1%). Foram utilizadas 4 repetições por concentração, quantificando-se a mortalidade 48 horas após a aplicação dos tratamentos. Foram realizados testes para verificar os pressupostos estatísticos de normalidade e homogeneidade através dos testes de Shapiro-Wilk e Barlett, respectivamente. Uma vez atendidos os pressupostos, foi realizada análise de variância e regressão dos dados utilizando o modelo de regressão linear simples.

A concentração de 5µl/ml do óleo essencial de *L. insignis* foi selecionada, e avaliada quanto a toxicidade em dois diferentes métodos de aplicação (exposição à superfície contaminada e aplicação tópica), conforme metodologia adaptada de Santos et al. (2010). Além de testes de atividade repelente (PRÓCOPIO et al., 2003; BRITO et al., 2015).

2.2.6 Avaliações da toxicidade do óleo essencial de *L. insignis* (5µl/ml) em dois diferentes métodos de aplicação.

A) Exposição por aplicação tópica

Dez espécimes de *C. maculatus* foram colocados em placas de petri de 9,0cm de diâmetro, forradas com papel filtro e contendo dez grãos de feijão caupi sadios e cobertas com tecido *voil* e elástico. Posteriormente, foram borrifados 1,0 ml das soluções contendo o óleo essencial de *L. insignis* (5µl/ml) por placa de Petri. O experimento ocorreu de forma inteiramente casualizada com três tratamentos com quatro repetições, constituídas de uma placa com dez insetos. Como controles utilizou-se água destilada e solução de água destilada + tween 20. Foi avaliada a mortalidade após 48 horas a aplicação dos tratamentos. A avaliação da mortalidade foi feita conforme estabelecida por SANTOS et al.,2007, onde foram considerados vivos todos os insetos que moviam qualquer parte do corpo, mesmo aqueles que só se moviam quando estimulados.

B) Exposição à superfície contaminada

Foi utilizada a mesma solução do bioensaio com aplicação tópica. Com o auxílio de uma micropipeta placas de Petri forradas com papel filtro contendo dez grãos de feijão Caupi sadios, foram embebidos com 1,5ml da solução contendo o óleo essencial de *L. insiginis* (5µl/ml). Em seguida, dez insetos foram introduzidos e a abertura fechada com tecido tipo “voil” preso por um elástico. A mortalidade dos insetos foi avaliada conforme metodologia proposta no item anterior (SANTOS et al., 2007).

Para as análises individuais cada método foi composto por três tratamentos com 10 repetições cada em delineamento inteiramente casualizado. Por não atenderem os pressupostos de normalidade e homogeneidade, os dados foram analisados e comparados pelo teste não paramétrico de Kruskal Wallis. Para fins de comparação entre os grupos foi utilizado o método não paramétrico de *Mann Whitney* para amostras independentes através do programa estatístico R (R Core Team, 2015) versão 3.2.2.

2.2.7 Teste de repelência

Para a avaliação do efeito repelente foi utilizado o método de arena adaptado de Prócopio et al. (2003) (Figura 2). Foram confeccionadas arenas compostas por dois recipientes plásticos interligados simetricamente por um recipiente central. Os recipientes obtinham as seguintes dimensões: 7 cm de altura, largura: 8,5 cm de comprimento de abertura, 5,0 cm da base, equidistantes 4 cm por uma mangueira com de 2,3 cm de diametro. No recipiente central foram liberados 10 insetos adultos de *C. maculatus* não sexados e em cada recipiente periférico foram colocados 10 grãos de feijão, sendo um recipiente contendo feijões não tratados (testemunha), e o outro contendo feijões tratados com o óleo essencial de *L. insiginis* (5µl/ml). Foi contabilizado o número de indivíduos atraídos para cada tratamento em diferentes intervalos de tempo (12, 24, 48 e 72 horas). O experimento foi composto por 10 repetições/arena e ocorreu de forma inteiramente casualizada quanto as posições das arenas e rotações dos recipientes.

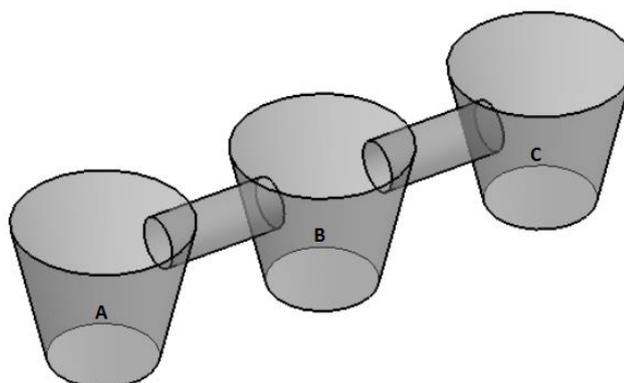


Figura 2: Perspectiva da arena utilizada para a avaliação do efeito repelente de *Callosobruchus maculatus*, em teste de preferência alimentar com chance de escolha. **A:** recipiente onde foram colocados grãos de feijão não tratado; **B:** local onde foram liberados os insetos; **C:** recipiente onde foram colocados grãos de Feijão tratado. Feira de Santana, Bahia, Brasil. SANTOS, D.R. dos, 2017.

Os Índices de Repelência (IR) verificados foram calculados conforme indicação de Brito et al. (2015), através da fórmula: $IR = 2G / (G + P)$, onde G = % de insetos atraídos no tratamento e P = % de insetos atraídos na testemunha. Os valores de IR variam entre zero e dois, sendo que IR = 1 indica repelência semelhante entre o tratamento e a testemunha (tratamento neutro), IR > 1 indica menor repelência do tratamento em relação à testemunha (tratamento atraente) e IR < 1 corresponde a maior repelência do tratamento em relação à testemunha (tratamento repelente).

O intervalo de segurança para considerar se o óleo é ou não repelente, foi obtido a partir das médias do IR (Índice de repelência) e do respectivo desvio padrão (DP), ou seja, se a média do IR for menor que 1-DP, o óleo é repelente; se a média for maior que 1+ DP, significa que o óleo é atraente, se a média do IR estiver entre 1-DP e 1+DP, significa que o óleo é neutro (BRITO et al., 2015).

2.2.8 Análise química dos óleos essenciais

Para a análise da composição química, os óleos essenciais (20 mg) foram previamente diluídos em 1 mL de diclorometano. A quantificação foi realizada por Cromatografia de Fase Gasosa acoplada a um Detector de Ionização em Chama (CG/DIC). Para a identificação dos constituintes foi utilizada a Cromatografia de Fase Gasosa acoplada a Espectrometria de Massas (CG/EM). Na análise por CG/DIC foi utilizado um Cromatógrafo Varian® CP-3380, equipado com DIC e coluna capilar Chrompack CP-SIL 5

(30 m x 0.5 mm), espessura do filme 0.25 μm , temperatura do injetor 220 $^{\circ}\text{C}$ e do detector 240 $^{\circ}\text{C}$, hélio como gás de arraste (1 mL.min⁻¹), com programa de temperatura do forno de: 60 a 240 $^{\circ}\text{C}$ (3 $^{\circ}\text{C}.\text{min}^{-1}$), e isoterma de 240 $^{\circ}\text{C}$ por 20 min.

As análises por CG/EM foram realizadas em Cromatógrafo Shimadzu® CG-2010 acoplado a Espectrômetro de Massas CG/MS-QP 2010 Shimadzu®, coluna capilar DB-5ms (30 m x 0.25 mm), espessura do filme 0.25 μm , temperatura do injetor 220 $^{\circ}\text{C}$, gás de arraste hélio (1 mL.min⁻¹), temperatura da interface e da fonte de ioniza o 240 $^{\circ}\text{C}$, energia de ioniza o 70 V, corrente de ioniza o 0.7 kV e programa de temperatura semelhante   descrita acima. A identifica o dos constituintes foi realizada através do cálculo dos índices de Kovats, obtidos pela co-inje o da amostra com uma série homóloga de n-alcenos (C₈ a C₂₄), da compara o dos espectros de massas com a biblioteca do equipamento e da consulta   literatura especializada. Já a quantifica o do percentual relativo dos constituintes identificados foi obtida com base nas áreas dos picos cromatográficos correspondentes, pelo método da normaliza o.

2.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

2.3.1 Análises do potencial inseticida das espécies

As análises preliminares *in vitro* demonstraram que os extratos aquosos e metanólicos não promoveram resultados satisfatórios estatisticamente sobre a taxa de mortalidade de *C. maculatus*. Entretanto, o óleo essencial da espécie *L. insignis* destacou-se, promovendo diferenças significativas no percentual de insetos mortos, comparado aos controles negativos e semelhantes aos obtidos com o agroquímico comercial Lambda- Cialotrina.

Após 24 hs de exposi o o extrato aquoso (EA) das espécies *L. thymoides*, *L. lasiocalycina* e *L. insignis* resultaram em índices de mortalidade de 20, 15 e 27,5%, respectivamente, não significativos quando comparados a água destilada (10%). O mesmo foi observado após 48 horas, em que o percentual acumulado de mortos verificados nas espécies *L. thymoides*, *L. lasiocalycina* e *L. insignis* não diferiram dos resultados obtidos com água destilada (Apêndice F-A).

As análises da atividade inseticida dos extratos metanólicos das espécies de *Lippia* analisadas revelaram, após 24 horas, que não foi possível observar diferenças significativas nos índices de mortalidade entre as espécies *L. thymoides* (27,5%), *L. lasiocalycina* (40 %) e *L. insignis* (50,0 %), embora, *L. lasiocalycina* e *L. insignis* tenham equiparado-se ao controle

positivo, neste mesmo intervalo de tempo. Após 48 horas, não observou-se diferenças estatísticas significativas entre os resultados obtidos com as espécies *L. lasiocalycina* (60,0%), *L. thymoides* (60,0%) e *L. insignis* (67,5%) em comparação aos controles negativos, ADE (35%) e Ade+tween₂₀ (40%). Contudo, em ambos os ensaios o inseto-praga mostrou-se mais susceptível ao agroquímico comercial, com 100% de mortalidade verificada nas primeiras 24 horas (Apêndice F-B).

A avaliação da atividade inseticida dos óleos essenciais das espécies de *Lippia* contra *C. maculatus* demonstrou, após 24 horas da exposição inicial, que os resultados obtidos com óleos de *L. thymoides* (25,0 %), *L. lasiocalycina* (60,0%) e *L. insignis* (67,5%) não diferiram entre si, mas também não apresentaram diferenças estatísticas em relação à mortalidade observada com água destilada. Os óleos das espécies *L. insignis* e *L. lasiocalycina* promoveram taxas de mortalidade similares entre si, 60,0 e 67,5 % respectivamente, não diferindo do agroquímico comercial neste intervalo de tempo.

Após 48 horas, o óleo essencial de *L. thymoides* (45,0%) não demonstrou eficiência sobre a mortalidade de *C. maculatus*. *L. insignis* destacou-se por promover a maior taxa de mortalidade acumulada dos insetos (100%), diferindo tanto da água destilada (10%) como do Ade + Tween (45%), apresentando resultados equivalentes estatisticamente ao observado com o controle positivo, agroquímico comercial Lambda-Cialotrina, na concentração indicada pelo fabricante (Tabela 1-Apêndice F-C).

Tabela 1: Mortalidade mediana de *Callosobruchus maculatus* em teste de exposição a superfície contaminada com o extrato aquoso, metanólico e óleos essenciais das espécies *L. thymoides* (Martius & Schauer 1847), *L. lasiocalycina* (Cham 1832) e *L. insignis* (Moldenk 1976) após 24 e 48 hs de exposição. Feira de Santana, Bahia, 2017.

EXTRATO AQUOSO		
TRATAMENTOS	MORTALIDADE MEDIANA	
	24 hs	48 hs
<i>L. thymoides</i>	20,0b	35,0bc
<i>L. lasiocalycina</i>	15,0b	40,0bc
<i>L. insignis</i>	25,0bc	50,0ab
Ade	10,0b	20,0c
Lambda-Cialotrina (c+)	100,0a	100,0a
EXTRATO METANÓLICO		
TRATAMENTOS	MORTALIDADE MEDIANA	
	24 hs	48 hs
<i>L. thymoides</i>	30,0bc	60,0ab
<i>L. lasiocalycina</i>	35,0abc	60,0ab
<i>L. insignis</i>	55,0ab	70,0ab
Ade + tween 20 (1%)	20,0c	40,0b
Ade	20,0bc	35,0b
Lambda-Cialotrina (c+)	100,0a	100,0a
ÓLEOS ESSENCIAIS		
TRATAMENTOS	MORTALIDADE MEDIANA	
	24 hs	48 hs
<i>L. thymoides</i>	15,0bcd	40,0bc
<i>L. lasiocalycina</i>	60,0abc	75,0ab
<i>L. insignis</i>	67,5ab	100,0a
Ade+ tween 20 (1%)	25,0cd	45,0bc
Ade	5,00d	10,0c
Lambda-Cialotrina (c+)	100,0a	100,0a

*Os dados foram submetidos a análises não paramétrica de Kruskal Wallis e, posteriormente, comparados por rank. *Médianas seguidas pela mesma letra minúscula na coluna, não diferem entre si.

Diferentes resultados ao observado neste estudo, foram relatados por Trindade et al. (2015) ao relataram o potencial inseticida dos extratos aquosos (0 à 20 %) do inhame (*Dioscorea cayennensis* L.) e mastruz (*Chenopodium ambrosioides* L.) levando a alterações no desenvolvimento da lagarta do cartucho do milho, *Spodoptera frugiperda* (Smith) tanto nas fases larval como pupal. Torres et al. (2001) ao investigarem o efeito tóxico dos extratos aquosos de diferentes espécies vegetais sobre o desenvolvimento de *Plutella xylostella* L. (Lepidoptera: Plutellidae) obtiveram respostas satisfatórias apenas para *Aspidosperma pyriforme* Mart., *Azadirachta indica* A. Juss, com mortalidade total das larvas.

As análises para os tratamentos contendo o extrato metanólico, foram inferiores aos observados por Trindade et al. (2000) ao investigarem a atividade tóxica dos extratos metanólicos da amêndoa da semente de nim sobre a mortalidade de lagartas *Tuta absoluta* (Lepidoptera: Gelechiidae). Os autores obtiveram níveis de mortalidade próximo à 100% após 4 dias a aplicação dos tratamentos. Entretanto, não diferiram de Savaris et al. (2012) ao observarem grande diferença entre os resultados obtidos para o extrato aquoso, extrato bruto, fração hexânica e óleos essenciais de *Cunila angustifolia* Benth, 1834 (Lamiaceae) contra *Acanthoscelides obtectus* (Say, 1831) (Coleoptera: Bruchidae), no intervalo de 120 horas. Os óleos essenciais destacaram-se com 100% de mortalidade de *A. obtectus* em 24 horas. Por outro lado, quando testados os extratos aquoso, bruto e hexânico essa eficiência não foi superior a 69,0% em 120 horas.

Os resultados obtidos neste estudo nos ensaios para a análise dos óleos essenciais corroboram Coitinho et al. (2006) ao testarem o óleo de andiroba (*Carapa guianensis* Aubl.), copaíba (*Copaifera* sp.), eucalipto (*Eucalyptus globulus* Labill. e *Eucalyptus citriodora* Hook.), nim (*Azadirachta indica* A. Juss), pequi (*Caryocar brasiliense* Camb.), alecrim (*Lippia gracilllis* HBK.) e cedro (*Cedrela fissilis* Vell.) contra *S. zeamais* Mots. (Coleoptera: Curculionidae). Constatou-se no estudo mortalidade de até 100% dos indivíduos, com destaque para *Lippia gracilllis*, com efeitos significativos verificados tanto na atividade letal quanto na atividade repelente. Em outro estudo, Pereira et al. (2008) relataram a eficiência dos óleos essenciais de *Lippia gracilllis* contra *C. maculatus*, com resultados expressivos obtidos tanto na mortalidade dos insetos como na redução do número de ovos viáveis, demonstrando a atividade inseticida dos óleos extraídos de espécies gênero *Lippia* contra Bruchídeos.

Os terpenos abrangem uma série de substâncias vegetais cuja atividade como defensivos de plantas está bem estabelecida. Os monoterpenos que compõem os óleos essenciais já foram reportados nos estudos com *Lippia* spp. Estes exercem função comprovada

de proteção às plantas que os produzem. Sua ação inseticida ocorre devido à inibição da acetilcolinesterase nos insetos, podendo ocasionar retardo de crescimento, danos na maturação, redução da capacidade reprodutiva e supressão de apetite, levando os insetos predadores à morte por inanição ou toxicidade direta (VIEGAS JÚNIOR, 2003). Outros efeitos verificados dos OE's é a inibição do neuromodulador octopamina, levando a hiperpolarização dos canais de cálcio modulados por GABA (ácido g-aminobutírico). A octopamina age como neurohormônio e neurotransmissor, responsáveis pela regulação do batimento cardíaco, comportamento e metabolismo dos insetos (COITINHO et al., 2011). Os óleos essenciais de algumas espécies botânicas também possuem a capacidade de inibir o sistema endócrino dos insetos, levando à deficiência na produção dos hormônios responsáveis pela etapa de ecdise (ecdisona e 20-hidróxi-ecdisona) ocasionando retardos na maturação e reprodução do animal (MARANGONI et al., 2012).

Os resultados obtidos nos pré-testes indicam a possibilidade de utilização do óleo essencial de *L. insignis* para o controle biológico de *C. maculatus*. Deste modo, o estudo da concentração letal mediana (CL₅₀), vias de intoxicação em diferentes métodos de aplicação e atividade subletal repelente tornam-se necessários para melhor suporte dos dados.

2.3.2 Determinação da Concentração Letal Mediana (CL₅₀)

A determinação da CL₅₀ visa determinar a toxicidade de um determinado produto, responsável por ocasionar a mortalidade de 50% dos indivíduos de um grupo de espécie em um determinado intervalo de tempo. A análise de regressão para estimar a CL₅₀ a partir de diferentes concentrações do óleo essencial de *L. insignis* sobre a mortalidade de *C. maculatus* demonstrou um comportamento ascendente linear sobre o percentual de insetos mortos, com coeficiente de determinação (R²) igual a 0,90, indicando um ajuste adequado dos dados ao modelo de regressão linear simples (Figura.3-Apêndice C).

A partir da equação da reta foi possível estimar, dentro do intervalo testado, a concentração de 3,11 µl/ml como a menor concentração responsável pela mortalidade de 50% dos indivíduos (CL₅₀). Contudo, é possível inferir que melhores respostas na mortalidade de *C. maculatus* podem ser verificadas em concentrações maiores, podendo-se chegar a 72,5% de mortalidade na concentração, considerando-se o intervalo testado.

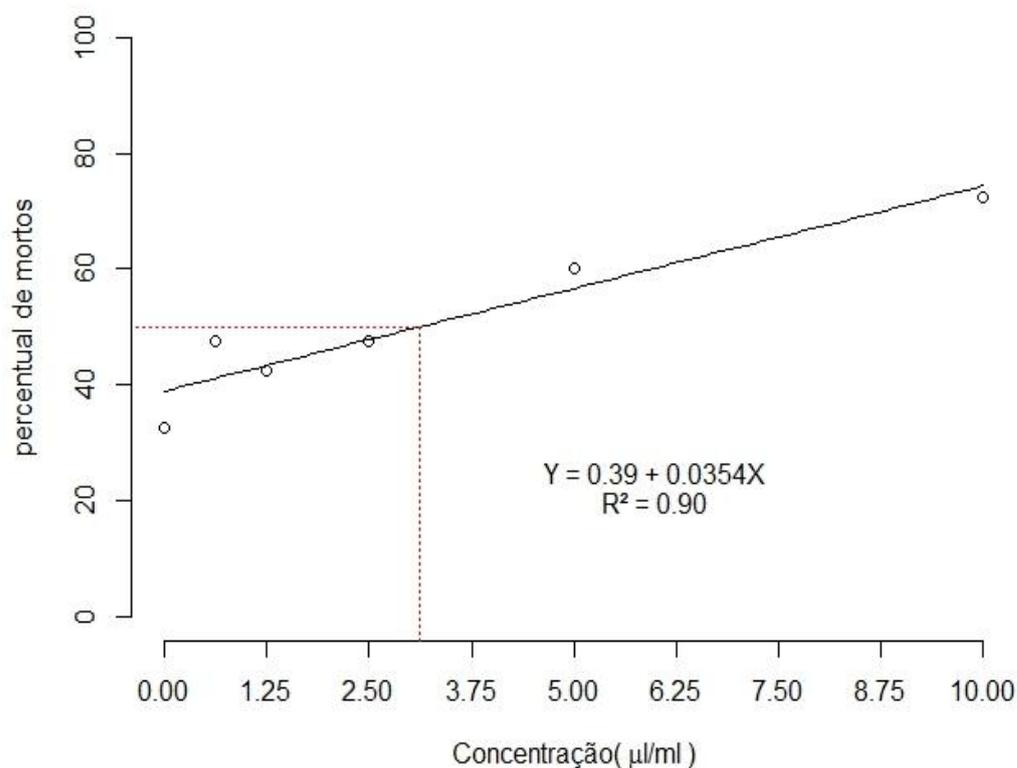


Figura 3: Concentração Letal Mediana (CL₅₀) do óleo essencial de *L. insignis*, Moldenk 1976, sobre a taxa de mortalidade de *Callosobruchus maculatus* (Fabricius.1775) Feira de Santana, Bahia, Brasil, 2017.

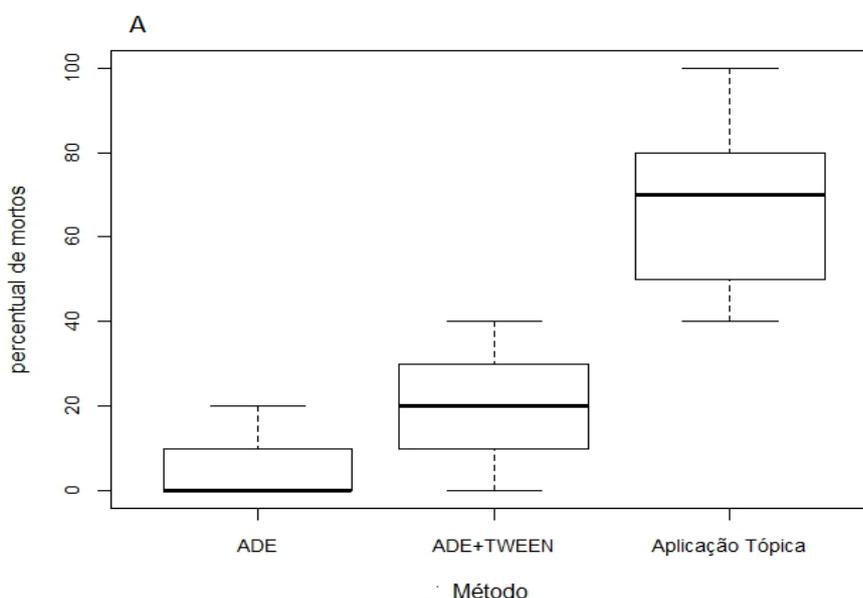
A concentração letal mediana do óleo de *L. insignis* para o controle de *C. maculatus*, obtida nesse trabalho, é menor que as observadas por Peixoto et al. (2015) ao testarem diferentes quimiotipos de *Lippia alba* no combate a *Sitophilus zeamais* e *Tribolium castaneum*. Para *S. zeamais*, as concentrações letais medianas estabelecidas foram de 15,2 µl/ml e 16,7 µl/ml e para *T. castaneum* 28,7 µl/ml e 19,7 µl/ml. Furtado et al. (2005) avaliaram atividade larvicida de óleos essenciais de várias espécies botânicas (5µl/g) contra *Aedes aegypti* L. (Diptera: Culicidae), e constataram maior eficácia dos óleos das espécies *Vanillosmopsis arborea* e *Lippia sidoides* Cham.com CL₅₀ de 15,91 mg/ml e 45,49 mg/ml, respectivamente. Em outro estudo, a eficácia dos óleos essenciais das espécies *Syzygium aromaticum* (L.) Merrill & Perry (Myrtaceae) no controle de *Sitophilus zeamais* Mots., 1855 e *Acanthocelides obtectus* Say, foram avaliadas por Jairoce et al. (2016). Os autores observaram 100% de mortalidade para ambas as espécies após 48 horas, com CL₅₀ de 9,45 µl g⁻¹ para *A. obtectus* e 10,15 µl g⁻¹ para *S. zeamais*. Resultados semelhantes foram

verificados por Jumbo (2013) ao testar os OE's do cravo e canela contra *A. obtectus* (Say) em grãos de *Phaseolus vulgaris* L. O autor constatou para o cravo uma dose letal mediana de 8,88 $\mu\text{l g}^{-1}$ e para a canela 9,70 $\mu\text{l g}^{-1}$, respectivamente. Contudo, ressalta-se que os valores de CL_{50} são dependentes da resistência ou susceptibilidade da espécie de inseto-praga testada ao produto natural testado.

2.3.3 Avaliações da toxicidade do óleo essencial de *Lippia insignis* (5 $\mu\text{l/ml}$) em dois diferentes métodos de aplicação.

A toxicidade dos óleos essenciais de *Lippia insignis* aplicados pelos métodos de superfície contaminada e aplicação tópica individualmente foram significativamente superiores em relação ao observado nos controles, sendo, portanto, eficazes (Apêndice B). O método da aplicação tópica promoveu percentual de mortalidade mediana de 70% em relação aos controles água destilada (0%) e ADE+ tween (20%), enquanto que o método de exposição à superfície contaminada promoveu 65% de mortalidade mediana em relação aos controles ADE (0%) e ADE e Tween (30%) após 48 horas (Figura 4, A-B).

Através da análise comparativa entre os dois métodos, utilizando o teste de *Mean Whitney*, constatou-se que não houve diferenças estatísticas significativas na mortalidade de *C. maculatus*, indicando que ambos os métodos possam ser utilizados com eficiência similar sobre a mortalidade dos insetos (Figura 4-C).



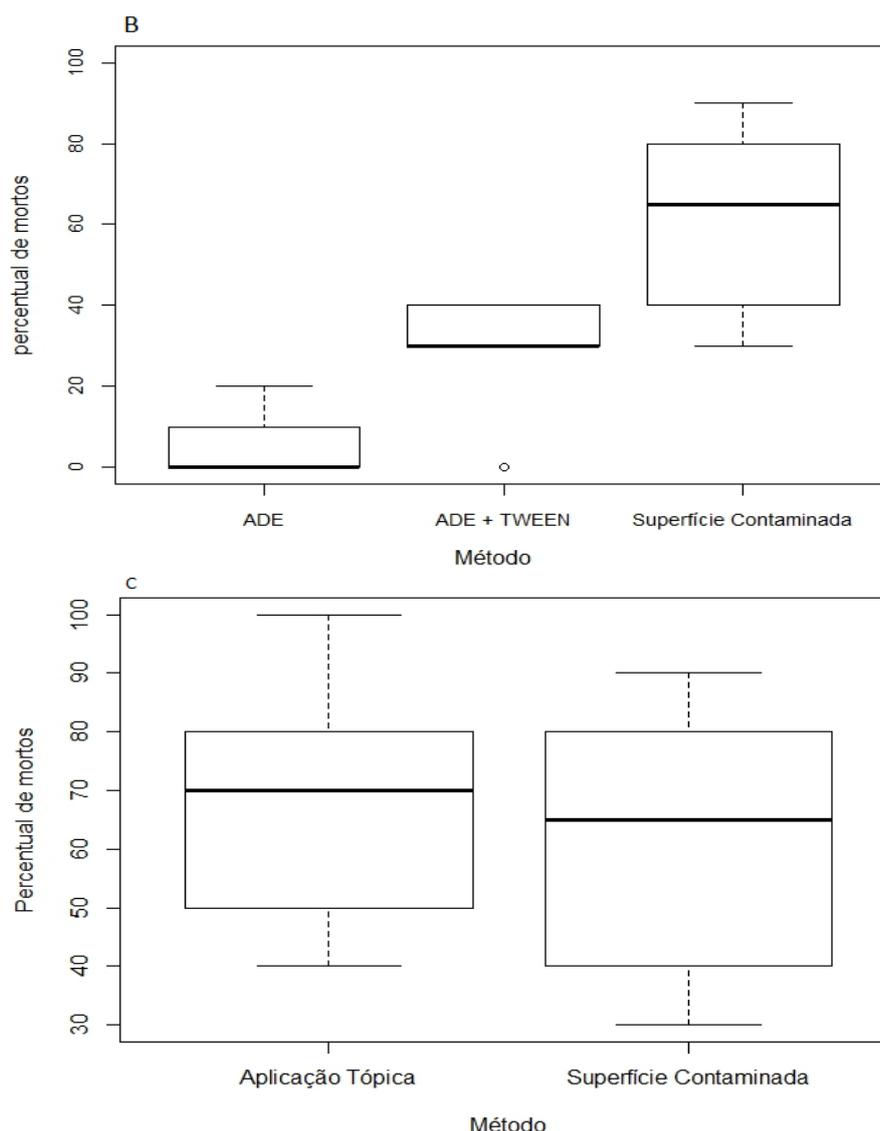


Figura 4: Toxicidade do óleo essencial de *L. insignis* (5 µl/ml) contra *Callosobruchus maculatus* (Fabr., 1775) em dois diferentes métodos de aplicação (A- Aplicação tópica e B- Superfície contaminada) *Ade: água destilada; Tween: tensoativo. Feira de Santana, Bahia, Brasil 2017.

Para Barbosa (2015) a efetividade de um produto depende diretamente de três fatores: o composto testado e sua respectiva composição química, o modelo biológico avaliado e a forma de aplicação, podendo este ser inalado, ingerido ou absorvido pelo tegumento dos insetos. Os resultados obtidos neste estudo foram superiores aos relatados por Estrela et al. (2006), os autores testaram os óleos essenciais (5% a 30%) de *Piper aduncum* L. e *Piper hispidinervum* C. D.C (Piperaceae) quanto ao efeito inseticida sobre *Sitophilus zeamais* Motsch, principal praga do milho armazenado, em três diferentes métodos, contato, fumigação e tópica. Foi constatado que os óleos de ambas as espécies possuem eficiência contra *S. zeamais* a depender da forma de aplicação: *P. hispidinervum* mostrou-se mais

eficiente nos ensaios de intoxicação por contato com mortalidade de 90 a 100% dos indivíduos em maiores concentrações. Diferente ao observado neste estudo, não foi verificada mortalidade significativa no método de exposição por contato em concentrações abaixo de 5%. Por outro lado, *P. aduncum* foi mais eficaz quando as vias de intoxicação utilizadas foram, fumigação ou aplicação tópica. Sendo a aplicação tópica com mortalidade observada acima de 70% dos indivíduos nas concentrações de 10 a 20 % do óleo essencial de *P. aduncum*. O presente estudo, demonstra mortalidade mediana de 70% dos indivíduos utilizando o mesmo método de aplicação na concentração de 0,5% do OE de *L. insignis*.

Da mesma forma, Fazolin et al. (2007) avaliaram o óleo essencial extraído de folhas frescas de *Tanaecium nocturnum* (Barb. Rodr.) Bur. & K. Shum quanto à toxicidade a *S. zeamais* Motsch através das vias de contato (papel-filtro), fumigação e aplicação tópica. Os autores concluíram que a via de intoxicação por contato (papel-filtro) e fumigação foram as mais eficazes no controle do inseto, com porcentagens de mortalidade próximas a 100%. Santos et al. (2013) ressaltaram a relevância na velocidade do método da aplicação tópica no controle de insetos, sobretudo em condições de campo, uma vez que nestas condições o contato dos insetos com os óleos pode ser relativamente rápido. Os ensaios de exposição à superfície contaminada ao induzir o contato prolongado dos insetos com o produto propiciam a mortalidade gradual tanto por toxicidade direta quanto por inalação.

Com base nesses estudos, verificou-se que mesmo obtendo um valor de CL₅₀ relativamente baixa, verifica-se a necessidade de se buscar o desenvolvimento de formulações que possibilitem aumentar a toxicidade, aumentar a vida útil, estabilidade do óleo essencial, bem como melhorar a aderência do produto ao inseto, com vista ao desenvolvimento de um produto comercial eficiente.

2.3.4 Teste de repelência

A mortalidade dos insetos é apenas um dos efeitos a serem atingidos no controle de pragas com plantas inseticidas. Por outro lado, a finalidade principal no controle alternativo com plantas inseticidas é que estas causem efeitos secundários como reduzir a oviposição, a alimentação e a reprodução dos insetos-praga estes efeitos podem ser verificados em testes de repelência (VENDRAMIM & CASTIGLIONE, 2000 *apud* BRITO et al ,2015).

A partir dos bioensaios de repelência *in vitro* utilizando a concentração de 5 µl /ml do óleo essencial de *L. insignis* em ensaios de preferência alimentar com chance de escolha, não foi verificado efeito repelente nos intervalos de tempo testados (12, 24, 48, 72 hs),

resultando em índices de repelência (IR) de 1,00 à 1,38, respectivamente. Considerando o intervalo de segurança, os índices de repelência encontrados demonstraram atividade atraente somente em 24 horas e neutro nos demais tempos observados, 12, 48 e 72 horas, indicando de um modo geral, preferência de *C. maculatus* tanto pela região contendo o feijão tratado como para a região onde havia o feijão não tratado com o OE de *L. insignis*. Contudo, foi observado uma diminuição no percentual de migração dos insetos após 24 horas do feijão tratado para o feijão não tratado (Tabela 2).

Tabela 2: Efeito repelente do óleo de *L. insignis* (Moldenk, 1976) sobre *Callosobruchus maculatus* estimado a partir da porcentagem de insetos que se deslocaram para a área contendo o feijão não tratado (controle) ou com o feijão tratado (tratamento) com óleo essencial (5 µl/ml) durante 12, 24, 48 e 72 hs.

TEMPO (Horas)	FEIJÃO TRATADO	FEIJÃO NÃO TRATADO	IR M± DP	CLASSIFICAÇÃO IS ²
	Percentual de migração			
12	60,00	40,00	1,20 ± 0,40	N
24	68,90	31,10	1,38± 0,35	A
48	50,00	50,00	1,00 ± 0,31	N
72	50,00	50,00	1,00± 0,40	N

Índice de Repelência (IR) = $2G / (G+P)$, onde G = % de insetos atraídos no tratamento e P = % de insetos atraídos na testemunha; DP = desvio Padrão. 2. Classificação: R = repelente (IR<1); A = atraente (IR>1); N = neutro (IR=1). IS: intervalo de segurança.

Pauliquevis & Favero (2015), ao avaliarem a atividade repelente de *Pothomorphe umbellata* (L.) sobre *S. zeamais* Motsch em ensaios com e sem chance de escolha não constataram atividade repelente do OE na concentração de 0,23 µL g⁻¹, em todos os intervalos de tempo avaliados. Já nos ensaios com chance de escolha, verificou-se a atividade repelente logo na primeira hora de exposição. Entretanto, nas horas posteriores, de 3 a 24 h não foi verificada atividade repelente. Resultados contrários foram obtidos por Campos et al. (2014) ao avaliarem a preferência de *A. obtectus* (say) a feijões tratados com os óleos essenciais de *Baccharis articulata* (Lam.) constaram, que independente do tempo de exposição e das dosagens dos OE's, todos os tratamentos testados induziram a repelência ao caruncho do feijão.

Olivero-Verbel et al. (2009) avaliaram a atividade repelente do óleo essencial de *Lippia organoides* (Kunth), *Citrus Sinensis* (L.) e *Cymbopogon nardus* (L.) contra *Tribolium castaneum* Herbst, em intervalos de 2 a 4 horas, constatando, que as três espécies testadas, apresentaram percentuais de repelência similares ao produto comercial testado, chegando a 94% e 96% de migração para o lado não tratado da arena, respectivamente, após 2 horas. Entretanto, de acordo com a tendência observada neste estudo, os autores verificaram um comportamento peculiar para o óleo essencial da espécie *L. organoides*, observado pelo aumento da repelência em função do aumento do tempo (4hs). Essa constatação, aliada ao observado no teste de repelência com o óleo essencial da espécie *L. insignis* (5 µl/ml) sugere a necessidade de testes com outros intervalos de concentração além de se ampliar as avaliações para um período superior a 72 hs.

2.3.5 Caracterização química dos óleos essenciais

As análises dos cromatogramas dos óleos essenciais da espécie *L. thymoides*, *L. lasiocalycina*, *L. insignis* resultaram na identificação de 83,80, 96,30 95,40 (%) compostos químicos, respectivamente (Apêndice-A). Os compostos majoritários encontrados nos óleos essenciais de *L. thymoides* foram: *E*-cariofileno (29,55 %), óxido de cariofileno (8,17%), germacreno D (6,59 %) e *cis*-calameneno (5,59%). Para *L. lasiocalycina* os compostos predominantes foram: β-mirceno (31,17%), *E*-ocimenona (24,10%), p-cimeno (7,17%) e para *L. insignis*, os constituintes de maior ocorrência na amostra foram: *E*-ocimenona (26,11%), limoneno (14,73%), β-mirceno (12,43%) e p-cimeno (7,24%) (Tabela 3).

Tabela 3. Compostos majoritários presentes nos óleos essenciais extraídos das folhas espécies *Lippia insignis* LI (Moldenk, 1976), *Lippia thymoides* LT (Martius & Schauer, 1847) e *Lippia lasiocalycina* LL (Cham, 1832). Feira de Santana, Bahia, Brasil, 2017.

Compostos	IKlit	IKcalc	LT (%)	LL (%)	LI (%)
β-mirceno	990	989-91	-	31,17 ± 1,16	12,48 ± 0,1
p-cimeno	1026	1024	-	7,17 ± 0,62	7,24 ± 0,83
limoneno	1029	1029	-	-	14,73 ± 0,60
Z- ocimenona	1226	1241	-	6,51 ± 0,13	-
<i>E</i> - cariofileno	1226	1426	29,55 ± 0,47	-	-
<i>E</i> -ocimenona	1238	1240-41	-	24,10 ± 0,80	26,11 ± 1,05
germacreno D	1485	1588	6,59 ± 2,98	-	-
<i>cis</i> -calameneno	1485	1485	5,59 ± 0,99	-	-
óxido de cariofileno	1529	1034	8,17 ± 3,40	-	-

*Klit= índice de Kovats da literatura; Kcalc = índice de Kovats calculado. LT: *Lippia thymoides*, LL: *Lippia lasiocalycina*, LI: *Lippia insignis*.

Oliveira (2014) realizou a análise da composição química do óleo das espécies *L. insignis*, *L. lasiocalycina* e *L. thymoides*, verificando nas amostras de *L. insignis* e *L. lasiocalycina* a predominância de monoterpenos. Para *L. insignis* a autora verificou, contribuição destacada do timol (63,3%). Para *L. lasiocalycina*, os constituintes em maior proporção foram: *E*- ocimenona (29,90%), mircenona (15,64%) e mirceno (12,78%). Em *L. thymoides*, foi detectada a constituição majoritária do β -cariofileno (28,50%) e germacreno D (14,75%). Os resultados encontrados neste estudo, corroboram Oliveira (2014), ao constatar a constituição predominante de monoterpenos nas amostras das espécies *L. insignis* e *L. lasiocalycina* e concordam com Silva et al. (2012) ao relatarem a contribuição destacada de sesquiterpenos nas amostras dos OE's de *L. thymoides*.

Costa et al. (2005) investigaram a ação dos óleos das espécies *Syzygium aromaticum* (L.) Merr. & Perry, *Lippia sidoides* Cham. e *Hyptis martiusii* Benth frente a larvas de *Aedes aegypti* e *Culex quinquefasciatus* (Diptera: Culicidae). Estes autores, observaram efeitos significativos dos óleos testados, principalmente de *S. aromaticum* e *L. sidoides* por ocasionarem mortalidade de até 100% das larvas testadas. Os principais componentes encontrados nos OE's destas espécies foram o eugenol, timol e 1,8-cineol. Lima et al. (2015), ao analisarem a composição química do OE de *Lippia sidoides* contra *Tenebrio molitor* L. (Coleoptera: Tenebrionidae) verificaram a presença destacada de monoterpenos como o carvacrol, *p*-cimeno, 1-8 cineol e γ -terpineno. Alves et al. (2015) relataram a predominância do geranial (43,3%) e neral (32,5%) nas amostras dos OE de *Lippia alba* também contra *C. maculatus*. Segundo os autores, moléculas de baixo peso molecular como os monoterpenos possuem maior lipofilicidade e, portanto, maior facilidade de penetração no tegumento dos insetos. Além de ocasionar efeitos neurotóxicos supracitados, comprometendo a fisiologia destes animais.

Uma hipótese para a atividade biológica destacada de *L. insignis* contra *C. maculatus*, verificada neste trabalho, deve-se a presença majoritária dos compostos *E* - ocimenona, o β -mirceno e principalmente o limoneno verificado de forma isolada somente nas amostras desta espécie, entretanto, tornam-se necessários estudos para a verificar a ação isolada destes compostos, ou mesmo sua interação sinérgica com outros constituintes presentes nas amostras.

2.4 CONCLUSÃO

Os resultados obtidos *in vitro* demonstraram que o OE de *L. insignis* é eficiente no controle de *Callosobruchus maculatus*, promovendo taxas de mortalidade equivalentes ao obtido com o agroquímico comercial. A concentração letal mediana (CL₅₀) do OE de *L. insignis* foi de 3,11 µl/ml. Os métodos de aplicação tópica e exposição à superfície contaminada mostraram-se *in vitro*, eficazes sobre a mortalidade de *C. maculatus*. Não foi verificada atividade repelente do OE's de *L. insignis* na concentração de 5 µl/ml durante 72 hs de observação. Os componentes majoritários encontrados nas amostras dos óleos essenciais de *L. insignis* foram *E*-ocimeno, limoneno e β-mirceno. Novos estudos são necessários para elucidar se ação biológica verificada, deve-se a ação isolada ou sinérgica destes compostos, a fim de buscar o desenvolvimento de formulações estáveis a partir do óleo essencial desta espécie.

2.5 REFERÊNCIAS:

ALVES 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, 2015.

ATHIÉ, I.; DE PAULA, D.C. **Insetos de Grãos Armazenados: Aspectos Biológicos e Identificação**. 2 ed. São Paulo: Livraria Varela; 2002. 244 p.

BARBOSA, E. A. S. **Efeitos de extratos de *Casearia javitensis* kunth (salicaceae) sobre *Sitophilus zeamais* Motschulsky (Coleoptera: Curculionidae)**. 2015,54 p. Dissertação de mestrado apresentada ao curso de Pós-graduação em Entomologia-Manaus, Amazonas, Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia (INPA). Disponível em <<http://bdt.d.inpa.gov.br>> acesso 20: 59. 15/11/ 2016.

BRITO, S. S. S. da. **Manejo de coleópteros-pragas de Feijão armazenados com óleos essenciais**. 2014,99 p. Dissertação apresentada ao curso de Pós-graduação em Produção Agrícola- Garanhuns. Universidade Federal Rural do Pernambuco. 2014. Disponível em: <<http://www.ppgpa.ufrpe.br>> acesso dia 11/10/2016.

BRITO, S. S. S. et al. Bioatividade de óleos essenciais sobre *Zabrotes subfasciatus* Boh. (Coleoptera: Chrysomelidae) em feijão-comum armazenado. **Revista Brasileira de Ciências Agrárias**. v.10, n.2, p.243-248, 2015.

CAMPOS, A. C. T. de. et al. Atividade repelente e inseticida do óleo essencial de carqueja doce sobre o caruncho do feijão. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, v.18, n.8, p.861–865, 2014.

CASTRO, M. J. P. et al. Efeito de pós vegetais sobre a oviposição de *Callosobruchus maculatus* (Fabr.) (Coleoptera: Bruchidae) em feijão-caupi. **Bioassay**, v.5, n.4, p.1-4. 2010.

COITINHO, R. L. B. de. C. et al. Atividade inseticida de óleos vegetais sobre *Sitophilus zeamais* Mots (Coleoptera: Curculionidae) em milho armazenado. **Revista Caatinga**, v.19, n.2, p.176-182, 2006.

COITINHO, R. L. B. de. C. et al. Toxicidade por fumigação, contato e ingestão de óleos essenciais para *Sitophilus zeamais* Motschulsky, 1885 (Coleoptera: Curculionidae). **Ciência e Agrotecnologia**, v.35, n.1, p.172-178, 2011.

CONAB. **Acompanhamento da safra Brasileira de grãos**. v. 4- Safra 2015/16 - Quarto levantamento, Brasília, p. 1-154, 2016.

COSTA, J. G. M. et al. Chemical-biological study of the essential oils of *Hyptis martiusii*, *Lippia sidoides* and *Syzigium aromaticum* against larvae of *Aedes aegypti* and *Culex quinquefasciatus*. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v.15, p. 304-309, 2005.

ESTRELA, J. L. V. et al. Toxicidade de óleos essenciais de *Piper aduncum* e *Piper hispidinervum* em *Sitophilus zeamais*. **Pesquisa. Agropecuaria. Brasileira**, v.41, n.2, p.217-222, 2006.

FAZOLIN, M. et al. Atividade inseticida do óleo essencial de *Tanaecium nocturnum* (Barb. Rodr.) Bur. & K. Shum. (Bignoneaceae) sobre *Sitophilus zeamais* Motsch. (Coleoptera: Curculionidae). **Acta amazônica**, v.37, n°4, p.599-603, 2007.

FURTADO, R. F. Atividade larvicida de óleos Essenciais Contra *Aedes aegypti* L. (Diptera: Culicidae). **Neotropical Entomology**, v.34, n.5, p.843-847, 2005.

GIORDANI, C.; SANTIN, R.; CLEFF, M. B. Levantamento de extratos vegetais com ação anti-Candida no período de 2005-2013, **Revista. Brasileira de Plantas. Medicinai**s, Campinas, v.17, n.1, p.175-185, 2015.

GOMES, S. V. F.; NOGUEIRA, P. C. L. N.; MORAES, V. R. S Aspectos químicos e biológicos do gênero *Lippia* enfatizando *Lippia gracilis* Schauer; **Eclética Química**, São Paulo, v.36. n.5. p.64-67, 2011.

JAIROCE, C. F. et al. Insecticide activity of clove essential oil on bean weevil and maize weevil. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola Ambiental**, v.20, n.1, p.72-77, 2016.

JUMBO, L. O. V. **Atividade inseticida e de repelência de óleos essenciais de cravo e canela sobre o caruncho *Acanthoscelides obtectus* (Say)**. 2013,44. p. Dissertação de mestrado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Entomologia-Viçosa, 2013. Universidade Federal de Viçosa. Disponível em < www.locus.ufv.br > acesso 11/ 10/2016.

LIMA-MENDONÇA, A. et al. Efeito de pós vegetais sobre *Sitophilus zeamais* (Mots.,1855) (Coleoptera: Curculionidae). **Arquivos do Instituto Biológico**, v.80, n.1, p.91-97, 2013.

LIMA, R. K. et al. Chemical composition and fumigant effect of essential oil of *Lippia sidoides* Cham. and monoterpenes against *Tenebrio molitor* (L.) (Coleoptera: Tenebrionidae). **Ciência. Agrotécnica**, v.35, n.4, pp.664-671, 2011.

LOBO, P. L. D, de. Atividade farmacológica do óleo essencial de *Lippia sidoides* em odontologia: uma revisão de literatura. **Revista Saúde e Pesquisa**, v. 8, n. 2, p. 373-378, 2015.

LORINI, I. et al. **Manejo Integrado de pragas de grãos e sementes armazenados**, Embrapa Soja, Brasília, v.1. 1º ed, 84.p, 2015.

MARANGONI, C. et al. Utilização de óleos essenciais e extratos de plantas no controle de insetos. **Revista de Ciências Ambientais**, Canoas, v.6, n.2, p.95-112, 2012.

OLIVEIRA, T. A. de. et al. Evaluation of the Acute Effects of Organic Solvents on Adults of *Sitophilus zeamais* Motschulsky, 1855 (Coleoptera, Curculionidae). **Journal of the Brazilian Society of Ecotoxicology**, v. 6, n. 1, p.9-13, 2011.

OLIVEIRA, A. R. M. F, de. **Morfoanatomia, composição química e atividade biológica do óleo essencial de espécies nativas de Lippia.**, 2014, 114.p. Tese apresentada ao curso de Pós-graduação em Recursos Genéticos Vegetais. Feira de Santana. Universidade Estadual de Feira de Santana. Disponível em <<http://tede2.uefs.br:8080/handle/tede/219>> acesso em 15/11/2016.

OLIVERO-VERBEL, J. et al. Actividad repelente de los aceites esenciales de *Lippia organoides*, *Citrus sinensis* y *Cymbopogon nardus* cultivadas en Colombia frente a *Tribolium castaneum*, Herbst. **Revista de la Universidad Industrial de Santander Salud**, v.41, n.3, p.244-250, 2009.

PAULIQUEVIS, C. F.; FAVERO, S. Insectistatic activity of essential oil *pothomorphe umbellata* on *Sitophilus zeamais*. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, v.19, n.12, p.1192–1196, 2015.

PROCÓPIO, S. de. O, et al. Bioatividade de diversos pós de origem vegetal em relação à *Sitophilus zeamais* Mots. (Coleoptera: Curculionidae). **Ciência e Agrotecnologia**, v.27, n.6, p.1231-1236, 2003.

PEIXOTO, M.G.et al toxicity and repellency of essential oils of *Lippia alba* chemotypes and their major monoterpenos against store grain insect. **Industrial Crops and Products**, v.71, p.31-36,2015.

PEREIRA, A. C. R. L. et al. Atividade inseticida de óleos essenciais e fixos sobre *Callosobruchus maculatus* (FABR, 1775) (Coleóptera: Bruchidae) em grãos de Feijão caupi *Vigna unguiculata* (L.) WALP. **Ciência Agrotecnica**, v. 32, n. 3, p. 717-724, 2008.

PERES, F. et al. Desafios ao estudo da contaminação humana e ambiental por agrotóxicos. **Ciências Saúde Coletiva**, v. 10, p. 27-37, 2005.

RIBEIRO, V. Q. et al. Sistemas de produção. **EMBRAPA MEIO-NORTE SISTEMAS DE PRODUÇÃO**. (Versão Eletrônica-2003). Disponível em: <www.infoteca.cnptia.embrapa.br> acesso, 11/ 10/ 2016.

SANTOS, M. R. A. et al. Atividade inseticida do óleo essencial de *Schinus terebinthifolius* Raddi sobre *Acanthoscelides obtectus* Say e *Zabrotes subfasciatus* Boheman. **Embrapa (Boletim de Pesquisa e Desenvolvimento)**, v.48, 13 p. 2007.

SANTOS, M. R. A. et al. Atividade inseticida do extrato das folhas de *Piper hispidum* Piperaceae sobre a broca do café *Hypothenemus hampei* **Revista Brasileira de Botânica**, v.2, n.33, p.319-324, 2010.

SANTOS, M. R. A. et al. Composição química e atividade inseticida do extrato acetônico de *Piper alatabaccum* Trel & Yuncker (Piperaceae) sobre *Hypothenemus hampei* Ferrari. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**. v.15, n.3, pp.332-336, 2013.

SANTOS, A. C. B. P. et al. Uso popular de espécies medicinais da família verbenaceae no Brasil. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, Campinas, v.17, n.4, p. 980-991, 2014.

SALIMENA, F. R. et al. **Notas sobre o gênero *Lippia* (verbenaceae) no brasil**, Departamento de Botânica, Instituto de Ciências Biológicas, Universidade Federal de Juiz de Fora, v. 33, p. 45-49, 2015.

SAVARIS, M. et al. Atividade inseticida de *Cunila angustifolia* sobre adultos de *Acanthoscelides obtectus* em laboratório. **Ciência y Tecnología**, v.5, n.1, p.1-5, 2012.

SILVA, F. S. **Estudo fotoquímico e farmacológico de *Lippia thymoides* mart. & schauer (verbenaceae)**. 2012, 143.p. Tese de Doutorado apresentado ao Programa de Pós-Graduação em Biotecnologia- Feira de Santana. Universidade Estadual de Feira de Santana. 2012. Disponível em < <http://www2.uefs.br/ppgbiotec/>> acesso 17/11/2016.

SILVA, L. C. et al. Delineamento de formulações cosméticas com óleo essencial de *Lippia gracilis* Schum (Alecrim-de Tabuleiro) de origem amazônica. **Revista de Ciências Farmácias Básica e aplicada**, v.36, n.2, p. 319-32, 2015.

SOARES, B. V.; TAVARES-DIAS, M. Espécies de *Lippia* (Verbenaceae), seu potencial bioativo e importância na medicina veterinária e aquicultura. **Biota Amazônia**; v.3, n.1, p. 109-123, 2013

SOON-IL, K.; YOUNG-JOON. A.; HYUNG-WOOK, K. Toxicity of Aromatic Plants and Their Constituents against Coleopteran Stored Products Insect Pests, New Perspectives in Plant Protection. **Intech**, 243.p, 2012.

SOUZA, D. S. Atividade antimicrobiana do óleo essencial de *Lippia origanoides* e *Lippia rotundifolia* frente à enterobactérias isoladas de aves. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v.67, n.3, p.940-944, 2015.

TAIZ, L& ZEIGER, E. **Fisiologia Vegetal**, Artimed, 3.ed., 722p, 2006.

TORRES, A. L.; BARROS, R; OLIVEIRA, J. V. Efeito de plantas no desenvolvimento de *plutella xylostella* (Lepidoptera: Plutellidae). **Neotropical entomology**, v.30, n.1, p.151-156, 2001.

TRINDADE, R. C. P. et al. Extrato metanólico da amêndoa da semente de nim e a mortalidade de ovos e lagartas datraça-do tomateiro, **Scientia agricola**, v.57, n.3, p.407-413, 2000.

TRINDADE, R. C. P. et al. Extratos aquosos de inhame (*Dioscorea rotundata* Poirr.) e de mastruz (*Chenopodium ambrosioides* L.) no desenvolvimento da lagarta-do-cartucho-do-

milho *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith, 1797). **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v. 17, n.2, p. 291-296, 2015.

VIEGAS JR, C. Terpenes with insecticidal activity: an alternative to chemical control of insects. **Química Nova**, v.26, n.3, p. 390-400, 2003.

CAPÍTULO II

**ATIVIDADE INSETICIDA E REPELENTE DE EXTRATOS E ÓLEOS
ESSENCIAIS DE ESPÉCIES DO GÊNERO *Lippia* CONTRA *Nasutitermes corniger*,
MOTSCHULSKY, 1855 (ISOPTERA: TERMITIDAE)**

**ATIVIDADE INSETICIDA E REPELENTE DE EXTRATOS E ÓLEOS
ESSENCIAIS DE ESPÉCIES DO GÊNERO *Lippia* CONTRA *Nasutitermes corniger*,
MOTSCHULSKY, 1855 (ISOPTERA: TERMITIDAE)**

Daiane Rodrigues dos Santos ^{1*}, Lenaldo Muniz de Oliveira ², Maria Angélica Luchesse ³,
Jucelho Dantas da Cruz ⁴

¹.Programa de Pós-graduação em Recurso Genético Vegetais da Universidade Estadual de Feira de Santana (UEFS). *daibio@hotmail.com.br

²- Departamento de Ciências Biológicas da UEFS. E-mail: lenaldo.uefs@gmail.com

³-Departamento de Ciências Exatas da UEFS. E-mail angelica.luchese@gmail.com

⁴Departamento de Ciências Biológicas da UEFS. E-mail: jucelho@uefs.br

RESUMO-O gênero *Lippia* é um dos principais gêneros da família Verbenaceae, com 200 espécies descritas. Apesar da grande riqueza em moléculas bioativas, com diversas aplicações comprovadas cientificamente, apresenta um número escasso de informações referentes ao potencial biológico das suas espécies. O presente estudo teve por objetivo avaliar o potencial inseticida e repelente do extrato aquoso, metanólico e óleos essenciais das espécies *Lippia thymoides* Martius & Schauer; *Lippia lasiocalycina* Cham. e *Lippia insignis* Moldenk contra *Nasutitermes corniger* Motschulsky (Isoptera-Termitidae). Inicialmente foram realizados testes preliminares *in vitro* para identificar dentre as espécies analisadas a que apresentava maior potencial inseticida e estabelecer intervalos de concentração com maior eficiência sobre a mortalidade dos insetos. Nessa primeira etapa verificou-se que os óleos essenciais de todas as espécies e os extratos metanólico da espécie *L. insignis*, demonstram-se altamente eficazes no controle de *N. corniger*. Posteriormente, a partir da concentração pré-estabelecida, foram realizadas diferentes diluições para a determinação da menor concentração capaz de ocasionar a mortalidade de até 50% dos indivíduos (CL₅₀). Os óleos essenciais foram testados nas concentrações de 0, 0,625, 1,25, 2,5, 5,0 e 10 µl/ml e o extrato metanólico nas concentrações de 0, 6,25, 12,5, 25,0, 50,0 e 100 mg/ml. Essas mesmas concentrações foram utilizadas para a avaliação da atividade repelente dos óleos e extratos das espécies estudadas. Foi realizado também análise da composição química das espécies estudadas através das técnicas de CG/DIC e CG/EM. Para os óleos essenciais os dados encontrados demonstraram que a espécie *L. lasiocalycina* apresentou menor concentração letal (0,47 µl/ml). O extrato metanólico da espécie *L. insignis* apresentou valores de CL₅₀ equivalentes a 24,84 mg/ml. Foi constatado atividade repelente dos óleos essenciais e extratos metanólicos das espécies de *Lippia* testadas. Os constituintes químicos em maior abundância nos óleos de *L. lasiocalycina* foram o β-mirceno e *E*-ocimeno, em *L. insignis*, β-mirceno e limoneno. Para *L. thymoides*, *E*-cariofileno e o óxido de cariofileno.

Palavras chaves: Espécies medicinais nativas, Verbenaceae, Biopesticida.

ABSTRACT-*Lippia* is one of the most important genus of Verbenaceae, including 200 described species. Despite the enormous richness in bioactive molecules, with diverse scientifically proven applications, it possess a scarce number of information about its species biological potential. The present study aimed to evaluate the insecticidal and repellent potential of aqueous and methanolic extract as well as essential oils of *Lippia thymoides*, Martius & Schauer; *Lippia lasiocalycina* Cham and *Lippia insignis*, Moldenk against *Nasutitermes corniger* Motschulsky (Isoptera-Termitidae). Initially, preliminary tests *in vitro* were conducted in order to identify natural product type with a greater insectidal potential among the studied species and establish intervals of concentration with a major potential in the insect mortality. In this first step, it was verified that essential oils of all species and methanolic extracts of *L. insignis*, stood up as efficient in controlling *N. corniger*. Posteriorly, different dilutions were tested from pre-established concentration, to determine the lower concentration capable of causing the death of up to 50% of the individuals (LC₅₀). Essential oils were tested at 0, 0,625, 1,25, 2,5, 5,0 and 10 µl/ml concentrations and methanolic extracts at 0, 6,25, 12,5, 25,0, 50,0 and 100 mg/ml concentrations. Similar concentrations were used to evaluate the repellent activities of studied species oils and extracts. Analyse of chemical composition were also performed by using GC/FID and GC/MS techniques. Data from essential oils demonstrated that *L. lasiocalycina* has lower medium lethal concentration (0,47 µl/ml). methanolic extract of *L. insignis* exhibited LC₅₀ values equivalent to 24,84 mg/ml. An expressive repellent activity of essential oils and methanolic extracts of tested *Lippia* species was also verified. The chemicals compounds in greater abundance in oils of *L. lasiocalycina* were the β-myrcene and E-ocimenona, in *L. insignis*, β-myrcene and limonene. For *L. thymoides*, E-caryophyllene and caryophyllene oxide.

Keywords: Native medicinal species, Verbenaceae, Biopesticide.

3.1 INTRODUÇÃO

Os isópteros (Termitidae) constituem uma ordem que inclui os insetos de hábito social com cerca de 2.900 espécies descritas e ampla ocorrência em todo mundo, com predomínio em regiões neotropicais (CONSTANTINO, 2002). Os isópteros são conhecidos por serem organismos que diferem dos demais insetos sociais por apresentarem divisão social em castas morfológicamente distintas, com divisão de trabalho e funções biológicas delimitadas, com ambos os sexos diploides e desenvolvimento hemimetábolo (GALLO et al., 2002).

Os termitídeos possuem um importante papel ecológico devido à capacidade das espécies deste grupo de atuarem como dispersores naturais e consumidores primários, promovendo a reciclagem de nutrientes por meio da trituração, decomposição, humificação e mineralização de uma variedade de recursos celulósicos, além de exercerem papel fundamental no funcionamento de vários ecossistemas, pois favorecem a disseminação de bactérias e fungos, além de servirem de alimentos para uma grande variedade de animais (COSTA-LEONARDO, 2002; LIMA et al., 2007). Entretanto, a destruição dos habitats naturais das espécies, tem levado à formação de espécies sinantrópicas, com potencial como pragas devido a grande diversidade alimentar e por possuírem a capacidade de infestar uma série de materiais orgânicos, a exemplo de madeira seca e em diferentes estágios de decomposição, além de gramíneas, plantas herbáceas, serapilheira, fungos e ninho de outras espécies de cupins, além de causar danos a construções e residências, ocasionando prejuízos para a economia (LIMA et al., 2007; CASTILHOS-FORTE et al., 2009; CRUZ et al., 2012).

O gênero *Nasutitermes* é o maior em número de espécies no mundo, além de possuir grande diversidade em regiões neotropicais; no Brasil possuem ocorrência em regiões de matas tropicais, cerrado e caatinga. As espécies que compõem o gênero *Nasutitermes* são consideradas potenciais pragas por ocasionar prejuízos econômicos, principalmente para as indústrias da construção civil e moveleira, com ênfase para a espécie *Nasutitermes coniger*, Motschulsky, 1855 (CONSTANTINO, 1999).

Atualmente, a utilização de inseticidas organosintéticos, a exemplo do Bifentrin, cipermetrina, chlorfenapy, fipronil, imidacloprid e permetrina são os métodos mais utilizados mundialmente no combate a *Nasutitermes* spp, entretanto, devido à ação nociva dos componentes destes produtos, tanto para o homem quanto para o meio ambiente, a busca por novas alternativas no combate a isópteros tem se tornado crescente. Neste sentido, a utilização de produtos naturais provenientes de plantas tem se mostrado altamente eficazes

no controle aos cupins, além corresponder uma alternativa economicamente viável e de baixo impacto (CRUZ et al., 2012).

O gênero *Lippia* é um dos mais importantes representantes da família verbenaceae, com 200 espécies descritas, com grande distribuição nos neotrópicos, sendo o Brasil o maior centro de endemismo, com 81 espécies descritas aceitas (FLORA DO BRASIL, 2017). As espécies de *Lippia* apresentam diversas atividades biológicas já comprovadas cientificamente, a exemplo da ação antibacteriana, antifúngica, anti-inflamatória, antinocepitiva, sedativa e relaxante. Os resultados obtidos nos estudos Costa et al. (2005) e Coitinho et al. (2006) relataram alta eficiência de *Lippia gracilis* e *Lippia sidoides* no controle a *Sitophilus zeamais* (Coleoptera: Bruchidae) e *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae), indicando atividade inseticida dos representantes deste gênero.

Devido à carência de informações nessa área observa-se um crescente esforço por parte dos pesquisadores na busca por soluções para o combate aos cupins-pragas. Deste modo, torna-se necessário o estudo do potencial inseticida de produtos bioativos oriundos de plantas, abrindo novas perspectivas no controle à isópteros. Assim, o presente trabalho objetivou avaliar o potencial inseticida de extratos e óleos essenciais das espécies *Lippia lasiocalycina*, *Lippia insignis* e *Lippia thymoides* contra *Nasutitermes corniger*.

3.2- MATERIAIS E MÉTODOS

3.2.1 Coletas das espécies vegetais:

As espécies vegetais utilizadas nos experimentos foram coletadas na coleção de Plantas Medicinais e Aromáticas da Unidade Experimentais Horto Florestal, pertencente à Universidade Estadual de Feira de Santana (HORTO/UEFS), Feira de Santana, Bahia. A coleta ocorreu no dia 15/06/2015 e as exsiccatas das espécies coletadas encontram-se depositadas no Herbário da Universidade Estadual de Feira de Santana (HUEFS), disponíveis pelos respectivos vouchers: *Lippia thymoides* 115371; *Lippia lasiocalycina* 197676 e *Lippia insignis* 197674.

3.2.2 Coleta e criação dos insetos

Fragmentos de colônias de cupins da espécie *Nasutitermes corniger* foram coletados no Horto florestal pertencete a Universidade Estadual de Feira de Santana (Figura 1.G-H). Os cupins coletados foram levados ao laboratório, onde foram mantidos em potes plásticos com capacidade para 500 ml, transparentes, cobertos com o tecido do tipo voil preso por um

elástico. Os potes plásticos foram mantidos durante os experimentos em bandejas plásticas com água.

A espécie foi identificada pela Bióloga Dra Ana Cerilsa Santana Melo, professora da Universidade Estadual de Feira de Santana (UEFS).

3.2.3 Obtenções dos extratos metanólico, aquoso e óleos Essenciais (OE's)

As folhas de *L. thymoides*, *L. lasiocalycina* e *L. insignis* foram coletadas no período de junho á agosto de 2015, em pleno florescimento. As folhas foram secas em temperatura ambiente e ao abrigo da luz durante 10 dias.

Para a obtenção do extrato aquoso (EA) o material vegetal (folhas) (Figura 1-F), foi seco em temperatura ambiente e triturado em moinho até a obtenção do pó. O pó seco foi misturado a água destilada na proporção de 10g para 100 ml de água e mantidas em frascos fechados durante 24 hs. A seguir, as suspensões foram filtradas em um tecido fino (voil), obtendo-se os extratos aquosos, na concentração final de 10% (peso do pó/volume de água).

Para a obtenção dos extratos metanólicos brutos (EM) as folhas secas foram trituradas em moinhos de facas. Posteriormente, o material triturado foi submetido à extração, por 6 vezes consecutivas, com metanol (3,5 Litros) e acondicionando-se em recipientes de vidro. Os extratos brutos foram concentrados em evaporador rotatório, sob pressão reduzida, em temperaturas de 40-42°C (Figura 1 A- C). Após a volatilização total do Metanol o material foi pesado, a fim de se quantificar o rendimento final de cada extrato, através da equação $RET = \frac{Mf}{Mi} \times 100$, onde: RET = Rendimento de extrato total (%); Mf = massa final do extrato seco (g); Mi= massa inicial da amostra (g).

Para a extração dos óleos essenciais (OE's), 200g de folhas secas foram trituradas em liquidificador com água destilada e, em seguida, adicionadas em balão de vidro contendo água destilada em volume suficiente para cobertura total do material vegetal. O método de extração foi por hidrodestilação, utilizando-se o aparelho de Clevenger, acoplados em balões de vidro, que foram aquecidos por mantas térmicas elétricas com termostato. A extração foi conduzida durante 3 horas, contadas a partir da condensação da primeira gota, sendo verificado o volume de óleo extraído na coluna graduada do aparelho de Clevenger (Figura 1. D-E). Após a extração foi adicionado ao óleo o sulfato de sódio anidro para eliminação da água residual (Figura 1- D). Posteriormente, com o uso da pipeta do tipo Pasteur, o óleo foi coletado e acondicionado em frasco de cor âmbar e mantidos em freezer, até a realização nas análises de atividade e análise química do óleo.

3.2.4 Análise do potencial inseticida das espécies

Inicialmente foram realizados testes preliminares, utilizando-se o método de exposição à superfície contaminada, buscando-se estabelecer uma faixa capaz de ocasionar maior mortalidade dos insetos. Para o extrato aquoso foi testada inicialmente a concentração de 10% (P/V); para o extrato metanólico testou-se a concentração inicial de 100 (mg/ml) (M/V) e para os óleos essenciais a concentração de 1% (V/V).

Para a realização dos testes preliminares foram colocados 10 espécimes dos cupins *Nasutitermes corniger* em potes plásticos (7,5 x 6,5), com capacidade para 140 ml e forrados com papel filtro embebidos com 1,5 ml das soluções contendo óleo, extrato metanólico ou aquoso. Foram colocados nos potes raspas de madeira obtida da própria árvore de onde foram coletados os insetos (*Caesalpinia echinata* Lam.) popularmente conhecida como Pau Brasil, além de fragmentos do próprio ninho. Os potes foram vedados com tecido do tipo “voil” preso por um elástico e mantidos em sala com temperatura ambiente e mantidos cobertos durante todo o experimento por tecido preto para evitar a incidência de luminosidade (Figura 1. J- K). A mortalidade dos insetos foi avaliada 24 e 48 horas após a aplicação dos tratamentos. Para avaliação da mortalidade foram considerados vivos todos os insetos que moviam qualquer parte do corpo mesmo quando estimulados (SANTOS et al., 2007). Cada experimento ocorreu de forma inteiramente casualizada, sendo, 5 tratamentos com 4 repetições para o extrato aquoso, e 6 tratamentos com 4 repetições para os ensaios com óleo essenciais e o extrato metanólicos devido ao controle adicional ade+tween₂₀. Os dados obtidos foram analisados no programa estatístico R Core Team, 2015 e submetidos a análises não paramétrica de Kruskal Wallis para 5 % de probabilidade e, posteriormente, comparados por Rank.

3.2.5 Determinação da concentração letal mediana (CL₅₀)

Após a realização dos testes preliminares a (s) espécie (s) e o (s) produto (s) testado (s) (extrato aquoso, metanólico e/ou óleo essencial) que se mostraram mais eficientes no combate à *Nasutitermes corniger*, foram diluídos em seis diferentes concentrações, em progressão geométrica, para determinação da concentração letal capaz de ocasionar a mortalidade de 50% dos indivíduos (CL₅₀). Os óleos essenciais foram diluídos nas concentrações de 0, 0,625, 1,25, 2,5, 5, 10 µl/ml e os extratos metanólicos nas concentrações de 0, 6,25, 12,5, 25,0, 50,0 e 100 mg/ml (Figura 1. I). Cada concentração correspondeu a um

tratamento com 4 repetições cada e, como controle experimental, foi utilizado a solução de tween 20. Foi realizada a contagem de mortalidade dos indivíduos 48 horas após a aplicação dos tratamentos. Os dados foram ajustados ao modelo linear generalizado, com função de ligação Logit.

$$\text{logit}(\pi_i) = \ln\left(\frac{\pi_i}{1 - \pi_i}\right) = \beta_1 + \beta_2 c_i$$

Os modelos foram obtidos através das estimativas dos parâmetros separadamente para cada espécie. Neste caso os parâmetros são estimados através dos métodos da virosimilhança. Com os valores estimados, foram obtidas as concentrações letais que causam 50% da morte dos indivíduos. A determinação CL_{50} foi obtida fazendo $-\frac{\beta_1}{\beta_2}$. Os resultados foram obtidos através do programa estatístico R Core Team, 2015.

3.2.6 Teste de repelência

Para os ensaios de repelência Placas de Petri de 15 cm de diâmetro forradas com papel de filtro foram demarcadas com uma linha central, sendo colocados de um lado da placa fragmentos da madeira seca de onde foram coletados os cupins, além de pedaços do próprio ninho, embebidos com auxílio de uma micropipeta com 1,5 ml da solução (tratamento) e do outro lado raspa de madeira e pedaços do ninho sem tratamento (testemunha). Na região central da placa foram inseridos 10 insetos, avaliando-se o número de insetos que se deslocarem para cada um dos lados da placa, após 15 minutos da aplicação dos tratamentos (Figura 1. L). O delineamento foi inteiramente casualizado com 10 repetições/ concentração, sendo cada repetição constituída de uma placa com dez insetos. (Adaptada de SANTOS et al., 2013).

Os Índices de Repelência (IR) verificados foram calculados conforme Brito et al. (2015) através da fórmula: $IR = 2G / (G + P)$, onde G = % de insetos atraídos no tratamento e P = % de insetos atraídos na testemunha. Os valores de IR variam entre zero e dois, sendo que IR = 1 indica repelência semelhante entre o tratamento e a testemunha (tratamento neutro), IR > 1 indica menor repelência do tratamento em relação à testemunha (tratamento atraente) e IR < 1 corresponde à maior repelência do tratamento em relação à testemunha (tratamento repelente).

O intervalo de segurança para considerar se o óleo é ou não repelente, foi obtido a

partir das médias do IR (Índice de repelência) e do respectivo desvio padrão (DP), ou seja, se a média do IR for menor que $1 - DP$, o óleo é repelente; se a média for maior que $1 + DP$, significa que o óleo é atraente, se a média do IR estiver entre $1 - DP$ e $1 + DP$, significa que o óleo é neutro (BRITO et al., 2015).

3.2.7 Análise química dos óleos essenciais

Para a análise da composição química, os óleos essenciais (20 mg) foram previamente diluídos em 1 mL de diclorometano. A quantificação foi realizada por Cromatografia de Fase Gasosa acoplada a um Detector de Ionização em Chama (CG/DIC). Para a identificação dos constituintes foi utilizada a Cromatografia de Fase Gasosa acoplada a Espectrometria de Massas (CG/EM).

Na análise por CG/DIC foi utilizado um Cromatógrafo Varian® CP-3380, equipado com DIC e coluna capilar Chrompack CP-SIL 5 (30 m x 0.5 mm), espessura do filme 0.25 μm , temperatura do injetor 220 °C e do detector 240 °C, hélio como gás de arraste (1 mL.min⁻¹), com programa de temperatura do forno de: 60 a 240 °C (3 °C.min⁻¹), e isoterma de 240 °C por 20 min.

As análises por CG/EM foram realizadas em Cromatógrafo Shimadzu® CG-2010 acoplado a Espectrômetro de Massas CG/MS-QP 2010 Shimadzu®, coluna capilar DB-5ms (30 m x 0.25 mm), espessura do filme 0.25 μm , temperatura do injetor 220 °C, gás de arraste hélio (1 mL.min⁻¹), temperatura da interface e da fonte de ionização 240 °C, energia de ionização 70 V, corrente de ionização 0.7 kV e programa de temperatura semelhante à descrita acima (Figura 1. M).

A identificação dos constituintes foi realizada através do cálculo dos índices de Kovats, obtidos pela co-injeção da amostra com uma série homóloga de n-alcenos (C₈ a C₂₄), da comparação dos espectros de massas com a biblioteca do equipamento e da consulta à literatura especializada. Já a quantificação do percentual relativo dos constituintes identificados foi obtida com base nas áreas dos picos cromatográficos correspondentes, pelo método da normalização.



Figura 1: Fases do método experimental utilizado: A) Folhas secas em temperatura ambiente B) Maceração dos extratos (72hs) através do metanol, para a obtenção do extrato metanólico; C) Concentração do extrato em evaporador rotatório (rota evaporador); D) Armazenamento dos óleos essenciais em frascos de vidro; E) coluna de óleo obtida por arraste á vapor no aparelho de clevenger; F) Obetnção dos extratos aquosos G) Coleta dos cupins da espécie *N. corniger* em ambiente natural da cidade de Feira de Santana; H) Armazenamento em potes plásticos de fragmentos da colônia; H) Diluição dos óleos essências em diferentes concentrações; I) Procedimento experimental para a avaliação inseticida; J) Aplicação dos OE's contra *Nasutitermes corniger*; K) Deliniamento experimental ultlizado para a avaliação inseticida; L) experimento para a avaliação da atividade repelente; M) CG-MS , ultlizado para a avaliação qualitativa da composição química dos óleos essências, Feira de Santana , Bahia , Brasil. Fotos: SANTOS, D.R. dos, 2017

3.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.3.1 Análise do potencial inseticida das espécies

Os testes preliminares demonstraram, exceto para o extrato aquoso, atividade inseticida estatisticamente significativa sobre a espécie *N. corniger*. As análises dos resultados apontam que o EA das espécies *L. thymoides* (32,5%), *L. lasiocalycina* (22,5%) diferiram do controle, somente o tratamento com o OE de *L. insignis* (10,0%) não diferiu significativamente das médias de mortalidade de *N. corniger* tratadas com água destilada (0%) em 24 horas. De modo semelhante, após 48 horas, *L. thymoides* (40,0%), *L. lasiocalycina* (42,5%) e *L. insignis* (12,5%) não diferiram significativamente das médias cumulativas de mortalidade de *N. corniger* tratadas com ADE (12,5%). Já o agroquímico comercial utilizado promoveu 100 % de mortalidade após 24 horas (Apêndice G-A).

Por outro lado, após 48h da aplicação dos tratamentos, os resultados obtidos com o extrato metanólico da espécie *L. insignis* (100%) foi significativamente superior aos resultados obtidos com os tratamentos controles, Ade (37,5%), Ade e Tween₂₀ (42,5%) e similar ao agroquímico comercial (100%). A espécie *Lippia insignis* destacou-se, promovendo 97,5% de mortalidade 24h após a aplicação dos tratamentos, equiparando-se ao controle positivo após 48 horas. Já o EM das espécies *L. thymoides* (42,5%) e *L. lasiocalycina* (30,0%) não se mostraram eficazes para controle de cupins da espécie *N. corniger* no período de 24 e 48 horas (Apêndice G-B).

Os óleos essenciais das três espécies apresentaram alta eficiência no combate a *Nasutitermes corniger*, promovendo mortalidade total dos insetos. Em todos os tratamentos foram verificadas diferenças estatísticas significativas entre a mortalidade dos cupins em comparação aos tratamentos controles, água destilada (37,5%) e água destilada + tween (40,0 %) em 48 hs, sendo as espécies *Lippia thymoides* e *Lippia lasiocalycina* as que mais se destacaram por promover 100% de mortalidade dos insetos em menor intervalo de tempo (24 hs), equiparando-se agroquímico comercial, no qual foi constatado 100 % de mortalidade (Tabela 1- Apêndices E e G-C).

Tabela 1: Mortalidade mediana de *Nasutitermes corniger* (Motschulsky, 1855) após 24 e 48 hs do início dos tratamentos com óleos essenciais, extrato metanólico e extrato aquoso de *Lippia thymoides* (Martius & Schauer, 1847), *Lippia lasiocalycina* (Cham, 1832) e *insignis* (Moldenk, 1976). Feira de Santana, Bahia, Brasil, 2017.

EXTRATO AQUOSO		
TRATAMENTOS	MORTALIDADE MEDIANA	
	24 hs	48 hs
<i>L. thymoides</i>	35,0 ab	40,0 ab
<i>L. lasiocalycina</i>	20,0 b	40,0 ab
<i>L. insignis</i>	10,0 bc	12,5 b
Ade	0,0 c	10,0 b
Fipronil (c+)	100,0 a	100,0 a
EXTRATO METANÓLICO		
TRATAMENTOS	MORTALIDADE MEDIANA	
	24 hs	48 hs
<i>L. thymoides</i>	35,0 bc	60,0 ab
<i>L. lasiocalycina</i>	30,0 bc	30,0 b
<i>L. insignis</i>	100,0ab	100,0 a
Ade e tween ₂₀ (1%)	25,0 c	40,0 b
Ade	10,0 c	35,0 b
Fipronil (c+)	100,0 a	100,0 a
ÓLEOS ESSENCIAIS		
TRATAMENTOS	MORTALIDADE MEDIANA	
	24 hs	48 hs
<i>L. thymoides</i>	100,0a	100,0 a
<i>L. lasiocalycina</i>	100,0a	100,0a
<i>L. insignis</i>	95,0a	100,0a
Ade e tween ₂₀ (1%)	20,0b	35,0b
Ade	25,0b	40,0b
Fipronil (c+)	100,0a	100,0a

*Os dados foram submetidos a análises não paramétricas de Kruskal Wallis e, posteriormente, comparados por Rank. Medianas seguidas pela mesma letra minúscula na coluna, não diferem entre si.

Resultados contrários aos obtidos nesse trabalho foram relatados por Shiberu et al. (2014), ao testarem a toxicidade dos extratos aquosos (5%) de diferentes espécies botânicas: *tabacco* (*Nicotiana tabacum*), *Birbira* (*Militia ferruginea*) e endod (*Phytolacca dodecandra*) contra cupins do gênero *Macrotermes* spp., constatando alta eficiência em todos os tratamentos testados após cinco dias, com médias de 95 à 100% de mortalidade. Santos et al. (2009) testarem o efeito do extrato aquoso (10%) de seis espécies botânicas: cinamomo (*Melia azedarach* L.), teak (*Tectona grandis* Lf.), andiroba (*Carapa guianensis* Aubl.), peroba (*Aspidosperma polyneuron* Müll. Arg.), aroeira (*Myracrodruon urundeuva* (Allem) e leucaena (*Leucaena leucocephala* (Lam. de Wit) no controle de *Coptotermes gestroi* (Wasmann) (Isoptera: Rhinotermitidae), e verificaram a eficiência de todas as espécies estudadas, com destaque para *M. azedarach*, *M. urundeuva* e *T. grandis*, com 95,38 a 100% de mortalidade, respectivamente.

Outros estudos também avaliaram o efeito do extrato metanólico de outras espécies botânicas contra espécies de cupins. Corroborando os resultados encontrados no presente estudo, Inácio e Carvalho et al. (2012) testaram os extratos diclorometanos e metanólicos de *Azadirachta indica* (A. JUSS), *Melia azedarach* (L.) e *Carapa guianenses* (aubl.) (Meliaceae) contra cupim subterrâneos da espécie *Coptotermes gestroi* (wasmann) (Isoptera, Rhinotermitidae). *A. indica* destacou-se por reduzir o tempo de sobrevivência de *C. gestroi*, apresentando mortalidade acima de 70% em 17 dias. Contrariamente, este estudo demonstrou a mortalidade total dos indivíduos de *N. corniger* expostos ao extrato metanólico de *L. insignis* em 24 horas. Para Oliveira et al. (2012) extratos lipofílicos, como o metanólico, teriam maior efetividade em penetrar nas camadas mais profundas da pele dos insetos, devido à parte mais superficial da cutícula ou epicutícula também terem características lipofílicas. Para esses autores diferentes tipos de extratos, a exemplo dos extratos metanólicos, carregam diferentes classes de substâncias químicas que podem estar ou não relacionadas com a atividade biológica de interesse.

A análise da literatura revela, contudo, diferenças significativas no potencial inseticida de extratos botânicos, muitas vezes oriundos de uma mesma espécie e contra uma mesma ordem de insetos. Essas diferenças ocorrem devido a variações na produção de metabólitos secundários, influenciados por diferentes fatores ambientais, época de colheita e utilização de diferentes partes vegetativas de uma mesma planta (folhas, frutos e sementes), além das diferentes formas de preparos dos extratos e tipos de extrativos (GLOBBO-NETO; LOPES; 2000.; CRUZ et al., 2012.; KASSENEY et al., 2016). Outro fator relevante deve-se ao fato de que a susceptibilidade dos insetos pode ser diferente entre espécies diferentes ou

entre indivíduos de uma mesma espécie, de modo que a variação nas respostas depende do produto testado.

Lima et al. (2013) relataram a atividade dos óleos essenciais das espécies *Coryba citridora*, *Croton sordertran*, *Cybaporgon martini*, *Lippia alba*, *Lippia gracilis* e *Lippia thymoides* no controle de *Nasutitermes corniger*. Os resultados obtidos revelaram potencial das espécies estudadas, com destaque para *L. sidoides*. Alavijeh et al. (2014) ao investigarem o potencial biológico dos óleos essenciais da espécie *Eucalyptus camaldulensis* Dehneh. (Myrtaceae) contra *Microcerotermes diversus* (Silvestri) (Isoptera: Termitidae), também relataram a elevada atividade inseticida, sobretudo na concentração de 1,6%, com mortalidade total dos indivíduos após quatro dias. Entretanto, este estudo demonstrou uma maior efetividade dos óleos essenciais das espécies *L. lasiocalycina*, *L. insignis* e *L. thymoides*, na concentração 1% em 48 hs.

3.3.2 Determinação da Concentração letal mediana (CL₅₀)

Através do ajuste individual dos modelos foi possível estimar a concentração letal mediana (CL₅₀) do extrato metanólico (100mg/ml) e óleos essenciais (1%) com resultados significativos nos pré-testes. Para os óleos essenciais, a espécie *L. lasiocalycina* destacou-se por promover índice de 50% de mortalidade de *N. corniger* em menor concentração (0,46 µl/ml) seguida por *L. insignis* (0,88 µl/ml) e *L. thymoides* (3,64 µl/ml) (Figura 2).

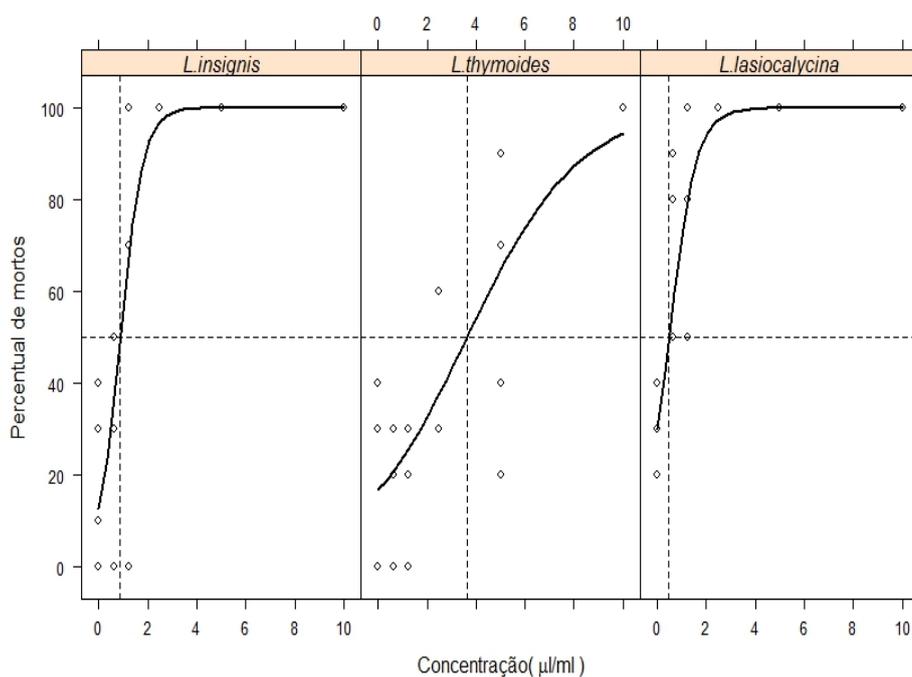


Figura 2: Concentrações Letais (CL_{50}) dos óleos essenciais das espécies *Lippia insignis* (Moldenk, 1976) *Lippia thymoides* (Martius & Schauer, 1847) e *Lippia lasiocalycina* (Cham, 1832) contra *Nasutitermes corniger* (Motschulsky, 1855), Feira de Santana, Bahia, Brasil, 2017.

O extrato metanólico de *L. insignis*, de acordo com a equação ajustada da reta, promoveu mortalidade de 50% dos indivíduos na concentração estimada de 27,84 mg/ml (Figura 3).

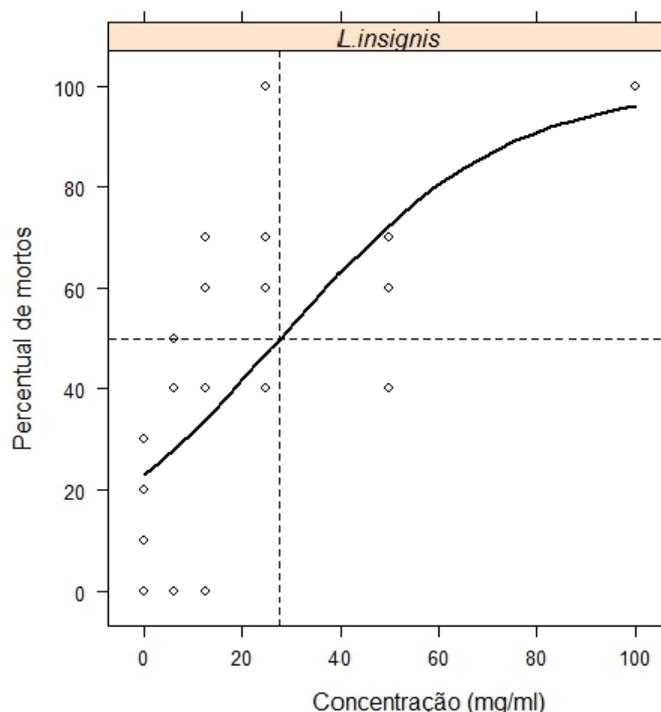


Figura 3: Concentração Letal do extrato metanólico da espécie *Lippia insignis* (Moldenk, 1976) contra *Nasutitermes corniger* (Motschulsky, 1855). Feira de Santana, Bahia, Brasil, 2017.

Furtado et al. (2005) avaliou a atividade larvicida dos óleos essenciais de dez espécies botânicas, incluindo *Lippia sidoides*, contra *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae). Os resultados mostraram que todos os óleos essenciais testados apresentaram atividade larvicida contra *A. Aegypti* L, sendo que *Vanillosmopsis arborea* Baker popularmente conhecida como candeeiro foi a espécie que induziu a maior atividade larvicida mediana, com CL_{50} de 15,9 mg/ml, enquanto o óleo de *Ocimum gratissimum* L. apresentou a menor atividade com CL_{50} de 95,80 mg/ml. Silva et al. (2007) investigou a atividade inseticida dos extratos das folhas e raízes de *Piper aduncum* L. (Piperaceae) sobre *Aetalion reticulatum* sp (cigarrinha dos pomares). (Hemiptera: Aetalionidae). Os autores constataram que *P. aduncum* apresentou maior toxicidade nas folhas, com CL_{50} de 20,9 mg ml⁻¹, em relação ao extrato das raízes,

com CL_{50} de 20,2 mg ml⁻¹.

Santana et al. (2010) avaliaram a atividade antitermíticas de diferentes extratos obtidos de três madeiras brasileiras, conhecidos por sua alta resistência à biodegradação, *Bowdichia virgilioides* Kunth, *Anadenanthera colubrina* var. *cebil* e *Hymenaea stigonocarpa* Mart, contra cupins *Nasutitermes corniger*. Os dados obtidos demonstraram que todos os extratos testados possuem ação antitermíticas contra *N.corniger*, sendo que o extrato alcaloidal do cerne de *B. virgilioides* exibiu a atividade mais elevada, com a CL_{50} de 7,2 mg ml⁻¹, seguido pelos extratos ciclo-hexânicos da mesma espécie (12,2 mg ml⁻¹) e *H. Stigonocarpa*, com CL_{50} de 11,9 mg ml⁻¹, além do extrato acetato de etila de *Anadenanthera colubrina*, com concentração letal mediana de 17,3 mg ml⁻¹. Contudo, nesse trabalho a eficiência dos extratos foi verificada após 4 dias. Comparativamente, a concentração letal mediana do extrato metanólico da espécie *Lippia insignis* obtida no presente trabalho, demonstrou CL_{50} maior que os obtidos no trabalho supracitado, porém efetiva em menor intervalo de tempo (48 hs).

3.3.3 Atividade repelente

Os óleos essenciais e extrato metanólico de todas as espécies de *Lippia* testadas demonstram atividade repelente nos ensaios *in vitro*, ocorrendo, de um modo geral, independente das concentrações testadas. Para os óleos de *L. lasiocalycina*, *L. insignis* e *L. thymoides* os índices de repelência variaram de 0,42 a 1,26, no extrato metanólico da espécie *L. insignis* os índices foram de 0,62 a 1,1 µl. Quando avaliado a atividade repelente dos óleos essenciais, a espécie *L. thymoides* apresentou atividade repelente nas concentrações de 2,5 e 5,0 µl, as demais doses, 0,625, 1,25 e 10 µl apresentaram comportamento neutro. *L. lasiocalycina* obteve maior resposta repelente sendo que apenas as concentrações 1,25 e 2,5 µl não apresentaram atividade repelente sobre *Nasutitermes corniger*, entretanto, o óleo de *L. insignis* esse efeito foi verificado apenas na concentração de 1,25 µl, o mesmo foi observado para o extrato metanólico da mesma espécie (Tabela 2).

A atividade repelente é o efeito mais comum em óleos essenciais obtidos de plantas tal efeito, deve-se a presença de compostos terpenoides responsáveis por alterações no sistema nervoso devido a inibição da acetilcolinesterase ocasionando a falência do sistema respiratório, alterações fisiológicas e física dos insetos (BRITO et al, 2015).

Tabela 2. Efeito repelente de óleos essenciais das espécies *Lippia thymoides* (Martius & Schauer, 1847), *Lippia lasiocalycina* (Cham, 1832), *Lippia insignis* (Moldenk, 1976) e do extrato metanólico de *L. insignis* (Moldenk, 1976) em cupins da espécie *Nasutitermes corniger* (Motschulsky, 1855). Feira de Santana, Bahia, Brasil, 2017.

Óleos essenciais	Concentração (µl/ml)	IR (M ±DP)	Classificação
<i>Lippia thymoides</i>	0,625	1,26 ± 0,34	Neutro
	1,25	0,74 ± 0,42	Neutro
	2,5	0,50 ± 0,25	Repelente
	5,0	0,42 ± 0,27	Repelente
	10	0,80 ± 2,00	Neutro
<i>Lippia lasiocalycina</i>	0,625	0,62 ± 0,35	Repelente
	1,25	1,06 ± 0,49	Neutro
	2,5	0,71 ± 0,50	Neutro
	5,0	0,42 ± 0,33	Repelente
	10	0,66 ± 0,31	Repelente
<i>Lippia insignis</i>	0,625	0,65 ± 0,36	Neutro
	1,25	0,48 ± 0,21	Repelente
	2,5	0,58 ± 0,27	Neutro
	5,0	0,76 ± 0,40	Neutro
	10	0,98 ± 0,31	Neutro
Extrato Metanólico (mg/ml)			
<i>Lippia insignis</i>	6,25	0,98 ± 0,61	Neutro
	12,5	0,62 ± 0,23	Repelente
	25	0,90 ± 0,28	Neutro
	50	1,10 ± 0,28	Neutro
	100	0,68 ± 0,34	Neutro

Índice de Repelência = $2G / (G+P)$, onde G = % de insetos atraídos no tratamento e P = % de insetos atraídos na testemunha; DP = Desvio Padrão. 2. Classificação: R = repelente (IR<1); A = atraente (IR>1); N = neutro (IR=1).

Paes et al. (2010) relataram resultados diferente ao observados neste estudo, ao avaliarem a eficiência dos óleos de nim (*Azadirachta indica* A. Juss) e de mamona (*Ricinus communis* L.) na resistência da madeira de sumaúma (*Ceiba pentandra*. (L.) Gaerth) à *Nasutitermes corniger* através do método de alimentação forçada. Os resultados demonstraram que os óleos de nim e de mamona não apresentaram atividade repelente e

portanto, não contribuíram para a melhoria da resistência da madeira de sumaúma ao ataque de cupins xilófagos. Peres Filho et al.(2006) testaram os efeitos de diferentes extrativos de espécies arbóreas (Cedrinho - *Erisma uncinatum* Warm., Jatobá - *Hymenaea courbaril* L.; Peroba-mica – *Aspidosperma populifolium* A. DC ; Tatajuba - *Bagassa guianensis* Aubl e Embaúba – *Cecropia* sp) no controle de cupins do gênero *Nasutitermes* spp. Foi constatado que *Bagassa guianensis* (tatajuba) e de *Erisma uncinatum* (cedrinho) apresentaram melhores resultados, causando menores índices de consumo a madeira tratada com os extratos destas espécies e maiores índices de mortalidade.

Considerando que um dos principais problemas enfrentados no combate a isopteros deve-se ao comportamento social destes animais, o uso tópico de inseticidas sintéticos leva a reincidência da praga na maioria dos casos. Deste modo, os efeitos indiretos da atividade repelente de plantas, sobretudo das espécies de *Lippia* estudadas, funcionam como uma importante alternativa para futuros estudos em campo que visem o controle químico deste inseto-praga.

3.3.4 Rendimentos e Caracterização química dos óleos essenciais

Os EM's das folhas das espécies de *Lippia* estudadas apresentaram rendimentos de 9,5% para *L. lasiocalycina*, 8,44 % para *L. thymoides* e 0,59% para *L. insignis*. Os teores dos OE's foram de 0,77% para *L. lasiocalycina*, 1,4% para *L. thymoides* e 1,6% para *L. insignis*.

As análises dos cromatogramas dos OE's das espécies estudadas resultaram na identificação de 83,80 %, 96,30 % e 95,40 (%) dos compostos químicos, respectivamente. Os compostos marjoritários encontrados nos óleos essenciais de *L. thymoides* foram: *E* - cariofileno (29,55), óxido de cariofileno (8,17), germacreno-D (6,59) e *cis*-calameneno (5,59%). Para *L. lasiocalycina* os compostos predominantes foram: β -mirceno (31,17%), *E* - ocimenona (24,10%), *p*-cimeno (7,17 %) e *Z* -ocimenona (6,51%). Para *L. insignis*, os constituintes de maior ocorrência nas amostras foram: *E*-ocimenona (26,11 %), limoneno (14,73%), *B*-mirceno (12,48 %) e *p*- cimeno (7,24%) (Tabela 3).

Tabela 3. Compostos majoritários presentes nos óleos essenciais extraídos das folhas espécies *Lippia insignis* (Moldenk, 1976) *Lippia thymoides* (Martius & Schauer, 1847) e *Lippia lasiocalycina* (Cham, 1832). Feira de Santana, Bahia, Brasil, 2017.

Compostos	IKlit	IKcalc	LT (%)	LL (%)	LI (%)
β -mirreno	990	989-91	-	31,17 \pm 1,16	12,48 \pm 0,1
p-cimeno	1026	1024	-	7,17 \pm 0,62	7,24 \pm 0,83
Limoneno	1029	1029	-	-	14,73 \pm 0,60
Z- ocimenona	1226	1241	-	6,51 \pm 0,13	-
E- cariofileno	1226	1426	29,55 \pm 0,47	-	-
E -ocimenona	1238	1240-41	-	24,10 \pm 0,80	26,11 \pm 1,05
germacreno D	1485	1588	6,59 \pm 2,98	-	-
cis -calameneno	1485	1485	5,59 \pm 0,99	-	-
óxido de cariofileno	1529	1034	8,17 \pm 3,40	-	-

*Klit= índice de Kovats da literatura; Kcalc = índice de Kovats calculado; (-) ausência do composto na amostra. LT: *Lippia thymoides*, LL: *Lippia lasiocalycina*, LI: *Lippia insignis*.

Oliveira (2014) realizou a análise da composição química do óleo das espécies *L. insignis*, *L. lasiocalycina* e *L. thymoides*, verificando nas amostras de *L. insignis* e *L. lasiocalycina* a predominância de monoterpenos seguidos por sesquiterpenos. Para *L. insignis* a autora verificou, contribuição destacada do timol (63,3%). Entretanto no presente estudo os compostos mais ocorrentes para esta espécie foram: E- ocimenona (26,11%) e limoneno (14,73 %), p-cimeno (7,24%). Curiosamente, Cruz et al. (2014) relataram a produção de limoneno e p-cimeno nas glândulas salivares de soldados do gênero *Nasutitermes* spp, como forma sinalização e defesa contra organismos invasores.

Oliveira (2014) constatou ainda, a presença de E- ocimenona (29,90%), mircenona (15,64%) e mirreno (12,78%) nas amostras da espécie *L. lasiocalycina*. Em *L. thymoides* foi detectado a constituição majoritária do β -cariofileno (28,50%) e germacreno D (14,75%). Apesar de haver variações na composição e quantificação dos principais componentes do OE de *L. thymoides*. Os resultados encontrados neste estudo, corroboram Oliveira (2014) e Silva et al. (2012), ao verificarem na composição química dos OE's desta espécie, a contribuição destacada de sesquiterpenos.

Baseado na quimiotaxonomia das espécies de *Lippia*, uma hipótese sugere que a alta eficiência dos óleos essenciais decorre da sua constituição majoritária de monoterpenos e sesquiterpenos, a exemplo do timol, carvacrol, mircenona, *E*-ocimeno, β cariofileno e o germacreno. Vários estudos já reportaram a ação inseticida desses compostos contra vários grupos de insetos, a exemplo do timol e do β cariofileno, principais compostos encontrados na espécie *Lippia sidoides*, que possuem ação comprovada contra o *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae) (COSTA et al., 2005); limoneno e carvona, encontrados em *Lippia alba*, com ação contra *Spodoptera frugiperda* (J. E. Smith) (NICULAU et al., 2013); além do carvacrol, encontrado na espécie *Lippia origanoides*, eficaz no controle de *Myzus persicae* Sulzer (Hemiptera: Aphididae) (TEXEIRA et al., 2014).

Gomes et al. (2011), em revisão sobre os aspectos químicos e biológicos do gênero *Lippia*, listaram a ocorrência do β -cariofileno, limoneno, *P*-cimeno, cânfora, linalol, α -pineno e timol, como principais constituintes relatados nos estudos publicados. Além dos compostos voláteis, como o carvacrol e o timol, outras substâncias não voláteis, tais como alcaloides, taninos, flavonoides, iridóides e naftoquinonas foram encontrados nos extratos das espécies de *Lippia* spp. Algumas espécies de *Lippia*, a exemplo de *L. alba*, *L. sidoides*, *L. gracilis* e *L. origanoides* foram estudadas quanto ao potencial bioativo e importância na medicina veterinária e aquicultura. Os constituintes majoritários dessas plantas encontrados no estudo foram timol, carvacrol, geranial, linalol, *p*-cimeno, carvona, neral, limoneno, β -cariofileno, óxido cariofileno, mircenona e γ -terpineno. Tais constituintes possuem comprovadamente atividades anti-inflamatória, antibactericida, antifúngica, antiparasitária e antioiceptiva oferecendo a possibilidade de redução dos quimioterápicos utilizados no manejo e cultivo de animais (SOARES; TAVARES-DIAS, 2013).

3.4 CONCLUSÕES

Conclui-se que os óleos essenciais das espécies *L. thymoides*, *L. insignis* e *L. lasiocalycina* e extratos metanólicos de *L. insignis* constituem uma alternativa promissora para o controle de cupins das espécies *Nasutitermes corniger* com mortalidade total dos indivíduos após 48 horas. As concentrações letais medianas observadas, foram de 0,47 μ l/ml para *L. lasiocalycina*; 0,88 para *L. insignis* e 3,64 para *L. thymoides*. Para o EM de *L. insignis* a CL₅₀ foi de 27,84 mg/ml. Os óleos essenciais testados promoveram atividade repelente contra *N. corniger*. Os dados reforçam os estudos sobre potencialidades das plantas encontradas no semiárido e oferecem subsídios para futuras pesquisas que visem à

identificação e isolamento dos princípios ativos de produtos naturais, sobretudo das espécies estudadas, que possam ser utilizados no controle químico de *N. corniger*.

3.5 REFÊRENCIAS

ALAVIJEH, E. S. et al. Bioactivity of *Eucalyptus camaldulensis* essential oil against *Microcerotermes diversus* (Isoptera: Termitidae), **Journal Crop Protection**, v. 3, n.1, p. 1-11, 2014.

BRITO, S. S. S. et al. Bioatividade de óleos essenciais sobre *Zabrotes subfasciatus* Boh. (Coleoptera: Chrysomelidae) em feijão-comum armazenado. **Revista Brasileira de Ciências Agrárias**. v.10, n.2, p.243-248, 2015

CASTILHOS-FORTES, R. et al. Toxicologia de *Bacillus thuringiensis* aos insetos sociais. **Biotecnologia ciência e Desenvolvimento**, v.38, p.40-43.2009.

CONSTANTINO, R. **Chave ilustrada para identificação dos gêneros de cupins (Insecta: Isoptera) que ocorrem no Brasil**. Papéis Avulsos de Zoologia, v.40, n.25, p: 387-448 1999.

CONSTANTINO, R. The pest termites of South America: taxonomy, distribution and status. **Journal of Applied Entomology**, n. 126, p. 355-365, 2002.

COSTA, J. G. M. et al. Chemical-biological study of the essential oils of *Hyptis martiusii*, *Lippia sidoides* and *Syzigium aromaticum* against larvae of *Aedes aegypti* and *Culex quinquefasciatus*. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v.15, n.4, p. 304-309, 2005.

COITINHO, R. L. B. de. C. et al. Atividade inseticida de óleos vegetais sobre *Sitophilus zeamais* Mots (Coleoptera: Curculionidae) em milho armazenado. **Revista Caatinga**, v.19, n.2, p.176-182, 2006.

COSTA-LEONARDO, A. M. **Cupins-Praga: morfologia, biologia e controle**. Rio Claro: DIVISA. 128 p. 2002.

CRUZ, C. S. DE. A. et al. Uso de Partes Vegetativas em Forma de Pó Seco no Controle de Cupins *Nasutitermes* sp. (Insecta: Isoptera) Termitidae **Revista Verde de Agroecologia e Desenvolvimento Sustentável**, v. 7, n. 2, p.102-105, 2012.

CRUZ, M. N. S DE LA. et al. Terpenos em cupins do gênero *Nasutitermes* (Isoptera, Termitidae, Nasutitermitinae). **Química. Nova**, v. 37, n. 1, p.95-103, 2014.

PERES FILHO, O. et al. Efeito de extratos de madeiras de quatro espécies florestais em cupins *Nasutitermes* sp. (Isoptera, Termitidae). **Scientia Forestalis**, n. 71, p. 51-54, 2006.

FURTADO, R. F. et al. Larvicidal activity of essential oils against *Aedes aegypti* L (Diptera: Culicidae). **Neotropical Entomology**, v. 34, n.5, p.843-847, 2005.

GALLO, D. et al. **Entomologia Agrícola**. FEALQ, Piracicaba – SP, p. 791-797, 2002.

GLOBBO-NETO, L.; LOPES, N. P. Plantas medicinais: fatores de influência no conteúdo de metabólitos secundários. **Química Nova**, v.30, n.2, p: 374-381,2007.

GOMES, S. V. F.; NOGUEIRA, P. C. L.; MORAES, V. R. S. Aspectos químicos e biológicos do gênero *Lippia* enfatizando *Lippia gracilis* Schauer. **Eclética Química**, v. 36, n.1, p. 64-77, 2011.

INACIO, M. F.; CARVALHO M.G, de. Atividade inseticida de extratos diclorometano e metanólico de *Azadirachta indica* (A. JUSS), *Melia azedarach* (L.) e *Carapa guianenses* (AUBL.) (Meliaceae) sobre cupim subterrâneo *Coptotermes gestroi* (WASMANN) (Isoptera, Rhinotermitidae). **Bioscience Journal**, v. 28, n. 5, p. 676-683, 2012.

KASSENEY, B. D. et al. Termiticidal activities of few plant extracts against *Macrotermes subhyalinus* smeathman and *Trinervitermes geminatus* wasmann (Isoptera: Termitidae) survival. **African Journal of Agricultural**, v. 11, n.28, pp. 2475 -2480, 2016.

LIMA, J. K. A.; ALBUQUERQUE, E. L. D.; SANTOS, A. C. C. Biototoxicity of some plant essential oils against the termite *Nasutitermes corniger* (Isoptera: Termitidae). **Industrial Crops and products**, v.46, p.246-241, 2013.

LIMA, J. T.; COSTA-LEONARDO, A. M. Recursos alimentares explorados pelos cupins (Insecta: Isoptera). **Biota Neotropical**, v.7, n.2, p.243-250, 2007.

Lippia in **Flora do Brasil 2020 em construção**. Jardim Botânico do Rio de Janeiro. Disponível em: <<http://floradobrasil.jbrj.gov.br/reflora/floradobrasil/FB15170>>. Acesso em: 13 mar. 2017.

NICULAU, E. S. dos. et al. Atividade inseticida de óleos essenciais de *pelargonium graveolens* l'herit e *lippia alba* (mill) n. e. brown sobre *Spodoptera frugiperda* (J. E. Smith). **Química Nova**, v. 36, n. 9, p. 1391-1394, 2013.

OLIVEIRA, A. R. M. F, de. **Morfoanatomia, composição química e atividade biológica do óleo essencial de espécies nativas de *Lippia***. Tese de doutorado Feira de Santana, Ba, 114.f, 2014.

OLIVEIRA, T. A. et al. Insecticidalç activity of *Vitex cymosa* (Lamiaceae) and *Eschweilera pedicellata* (Lecythidaceae) extracts against *Sitophilus zeamais* adults (Curculionidae). Emir. **J. Food Agric**, v.24, n.1, p. 49-56, 2012.

PAES, J. B.; SOUZA, A. D, de.; LIMA C. R, de.; NETO, P.N. de, M. Eficiência dos óleos de nim e mamona contra cupins xilófagos em ensaio de alimentação forçada. **Cerne**, Lavras, v. 16, n. 1, p. 105-113, 2010.

R CORE TEAM (2015). R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. URL <https://www.R-project.org/>. Acesso em :21/11/2016.

SANTANA, A. L. B. D. et al. Antitermitic activity of extractives from three Brazilian hardwoods against *Nasutitermes corniger*. **International Biodeterioration &**

Biodegradation, v.64, n.1, p. 7-12, 2010.

SANTOS, M. R. A. et al. Atividade inseticida do óleo essencial de *Schinus terebinthifolius* Raddi sobre *Acanthoscelides obtectus* Say e *Zabrotes subfasciatus* Boheman. **Embrapa (Boletim de Pesquisa e Desenvolvimento)**, v.48, 13 p. 2007.

SANTOS, M. N. et al. Potential Insecticidal Effects of Aqueous Tree Leaf Extracts Against the Subterranean Termite *Coptotermes gestroi* (Isoptera: Rhinotermitidae). **Sociobiology**, v. 53, n. 3, p.719-728, 2009.

SANTOS, M. R. A. et al. Composição química e atividade inseticida do extrato acetônico de *Piper alatabaccum* Trel & Yuncker (Piperaceae) sobre *Hypothenemus hampei* Ferrari. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**. v.15, n.3, pp.332-336, 2013.

SHIBERU, T.; HABTAMU, A.; NEGERI, M. Effect of some botanicals against termites, *Macrotermes* spp. (isoptera: termitidae) under laboratory conditions. **International journal of sustainable agricultural Research**, v.1, n.2, p. 52-57, 2014.

SILVA, F. S. Estudo fotoquímico e farmacológico de *Lippia thymoides* mart. & schauer (verbenaceae). **Tese de Doutorado**. Programa de Pós-Graduação em Biotecnologia. Feira de Santana, BA, 143.p, 2012.

SOARES, B. V.; TAVARES-DIAS, M. Espécies de *Lippia* (Verbenaceae), seu potencial bioativo e importância na medicina veterinária e aquicultura. **Biota Amazônia**; v. 3, n. 1, p. 109-123, 2013.

TEIXEIRA, M. L. et al. Essential Oils from *Lippia origanoides* Kunth. and *Mentha spicata* L.: Chemical Composition, Insecticidal and Antioxidant Activities. **American Journal of Plant Sciences**, v. 5, n. 5, p. 3551-3557, 2014.

VIEGAS JÚNIOR, C. Terpenos com atividade inseticida: uma alternativa para o controle químico de insetos. **Química Nova**, v. 26, n. 3, p. 390-400, 2003.

4 AGRADECIMENTOS

À Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de Bahia (FAPESB) e ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) pelo apoio financeiro à realização do projeto. A Universidade Estadual de Feira de Santana (UEFS) e ao Programa de Pós-Graduação em Recursos Genéticos Vegetais / UEFS.

APÊNDICES

APÊNDICE A: Análise da composição química dos óleos essenciais obtidos de folhas de *Lippia thymoides* (Martius & Schauer, 1847), *Lippia lasiocalycina* (Cham, 1832) e *Lippia insignis* (Moldenk, 1976). Feira de Santana/BA, 2017.

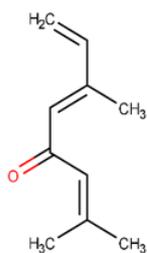
Composto	IK _{lit}	IK _{calc}	LL (%) ± DP	LI (%) ± DP	LT (%)± DP
α-tujeno	930	927-28	T	0,24±0,02	T
α-pineno	939	939	T	t	1,62±0,04
Canfeno	954	951	-	-	0,19±0,00
Sabineno	975	973-75	1,23±0,07	0,16±0,00	1,83±0,55
β-pineno	977	977-79	-	t	0,88±0,04
β-mirceno	990	989-91	31,17±1,16	12,43±0,02	0,38±0,06
α-felandreno	1002	1004	-	-	T
α-terpineno	1017	1016-17	-	1,17±0,03	T
p-cimeno	1026	1024-26	7,17±0,62	7,24±0,84	0,78±0,51
Limoneno	1029	1029-31	0,31±0,00	14,73±0,60	2,75±0,16
1,8-cineol	1031	1034	-	-	5,17±0,47
Z-β-ocimeno	1037	1038	T	-	-
E-β-ocimeno	1050	1049	1,67±0,06	-	-
E-β-ocimeno	1050	1048	-	1,78±0,04	T
γ-terpineno	1059	1059-61	2,29±0,02	6,99±0,14	0,48±0,14
hidrato de cis-sabineno	1070	1068	-	t	-
Terpinoleno	1088	1089	-	0,19±0,01	-
Linalol	1096	1096-98	1,29±0,09	2,80±0,79	-
Crisanthenona	1127	1125	T	-	-
trans-pinocarveol	1139	1140	-	-	0,18±0,00
trans-verbenol	1144	1142	-	-	T
Ipsdienol	1145	1144-46	0,43±0,05	0,85±0,12	0,20±0,00
Mircenona	1149	1151-53	4,05±0,35	6,37±1,14	-
Borneol	1169	1163-66	1,34±0,05	-	0,43±0,02
terpinen-4-ol	1177	1177-79	-	t	0,56±0,16
α-terpineol	1188	1188-90	T	0,55±0,06	-
α-terpineol	1188	1189	-	-	T
Mirtenol	1195	1195	-	-	T
Z-ocimenona	1229	1231	6,51±0,13	5,29±0,49	-
timol, éter metílico	1235	1237	-	T	-
E-ocimenona	1238	1240-41	24,10±0,80	26,11±1,05	-
Geraniol	1252	1255	0,34±0,02	-	-
Geraniale	1267	1271	0,66±0,08	-	-
Timol	1290	1290-92	T	t	-
Carvacrol	1298	1297-98	-	0,21±0,01	T
δ-elemeno	1338	1339	-	-	0,25±0,10
α-cubebeno	1348	1352	-	-	0,79±0,09
óxido de piperitenona	1368	1368	-	-	-
α-copaeno	1377	1379	-	-	3,49±0,60
β-bourboneno	1388	1387	-	-	0,42±0,11

β -cubebeno	1388	1391	-	-	0,31 \pm 0,07
β -elemeno	1388	1392	-	-	0,39 \pm 0,05
β -elemeno	1390	1393	0,50 \pm 0,05	-	-
α -gurjuneno	1409	1411	0,39 \pm 0,02	-	-
E-cariofileno	1419	1420-26	4,00 \pm 0,35	1,90 \pm 0,43	29,55 \pm 0,47
γ -elemeno	1436	1435	-	-	0,22 \pm 0,01
α -guaieno	1439	1442	2,51 \pm 0,27	-	-
trans-muurola-3,5-dieno	1453	1453	-	-	0,55 \pm 0,15
α -humuleno	1454	1455-57	1,43 \pm 0,14	0,52 \pm 0,12	2,65 \pm 0,12
allo-aromadendreno	1460	1464	-	-	0,79 \pm 0,11
germacreno D	1485	1481-85	0,41 \pm 0,04	1,97 \pm 0,60	6,59 \pm 2,98
trans-muurola-4(14),5-dieno	1493	1493	-	-	0,99 \pm 0,16
Biciclo germacreno	1500	1496-98	0,41 \pm 0,05	2,55 \pm 0,90	-
α -muuroleno	1500	1499	-	-	0,63 \pm 0,70
β -bisaboleno	1505	1504-09	T	-	0,54 \pm 0,09
Cupareno	1505	1507	-	-	2,18 \pm 0,57
α -bulneseno	1509	1508	1,22 \pm 0,20	-	-
Cubebol	1515	1516	-	-	0,43 \pm 0,10
cis-calameneno	1529	1526	-	-	5,59 \pm 0,99
trans-cadina-1,4-dieno	1534	1535	-	-	0,42 \pm 0,04
germacreno B	1561	1561	-	-	2,53 \pm 0,72
Espatulanol	1578	1577-80	1,70 \pm 0,19	1,32 \pm 0,17	-
óxido de cariofileno	1583	1583-88	1,77 \pm 0,40	0,29 \pm 0,04	8,17 \pm 3,40
α -muurolol	1646	1648	-	-	0,70 \pm 0,05
Total de compostos identificados			96,30 \pm 0,20	95,49 \pm 1,55	83,80 \pm 1,02

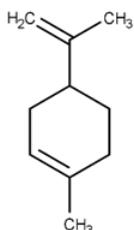
IK_{lit} - Índice de Kovat's da literatura; IK_{calc} - Índice de Kovat's calculado. LL: *Lippia lasiocalycina*, LI: *Lippia insignis* e LT: *L. thymoides*.

APÊNDICE B: Principais constituintes químicos encontrados nos óleos essenciais obtidos das folhas de *Lippia thymoides* (Martius & Schauer, 1847), *Lippia lasiocalycina* (Cham, 1832) e *Lippia insignis* (Moldenk, 1976). Feira de Santana/BA, 2017.

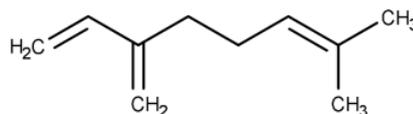
▪ *L. insignis*



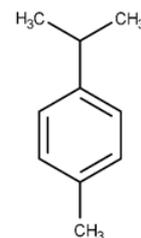
E-ocimenona



Limoneno

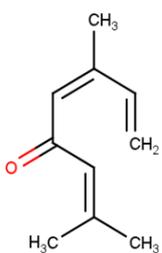


β -mirceno

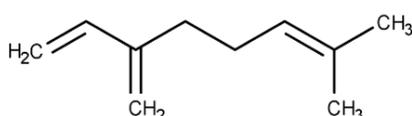


P-cimeno

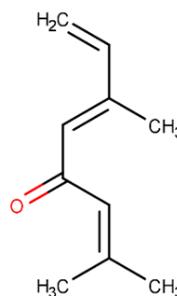
▪ *L. lasiocalycina*



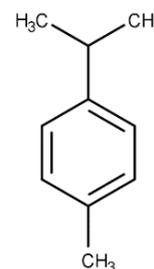
Z-Ocimenona



β -mirceno

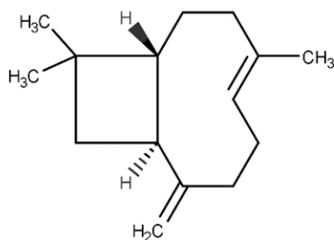


E-Ocimenona

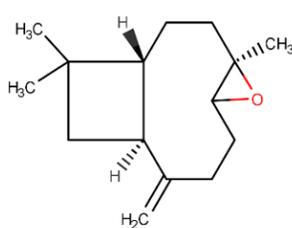


P-cimeno

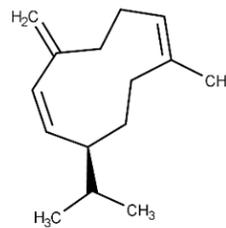
▪ *L. thymoides*



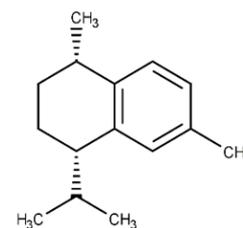
E- cariofileno



Óxido de cariofileno



Germacreno D



Cis-calameneno

APÊNDICE C: Resumo da análise estatística dos dados nos testes de concentração letal mediana (CL_{50}) e comparação entre os métodos de aplicação dos óleos essenciais da espécie *L. insignis* (Moldenk, 1976) contra *Callosobruchus maculatus* (Fabr., 1775) UEFS, Feira de Santana/BA, 2017.

#teste para verificar homogeneidade de variâncias (pressuposto básico para a análise de variância)

Bartlett test of homogeneity of variances

data: p_mortos by trat.fator

Bartlett's K-squared = 2.1138, df = 5, p-value = 0.8332

#Pelo valor-p, a hipótese nula não deve ser rejeitada, logo pode-se considerar as variâncias homogêneas

Coefficients:

	Estimate	Std. Error	t value	Pr(> t)
(Intercept)	0.39000	0.06482	6.017	4.69e-06 ***
I (tratamento)	0.03535	0.01376	2.570	0.0175 *

Signif. codes: 0 '***' 0.001 '**' 0.01 '*' 0.05 '.' 0.1 ' ' 1

Shapiro-Wilk normality test

data: modelo2 residuals

W = 0.95362, p-value = 0.3239

#Modelo linear foi significativo

#O teste para Normalidade dos resíduos não foi rejeitado, indicando um modelo bem ajustado.

APÊNDICE D: Comparação entre os métodos de aplicação dos óleos essenciais da espécie *L. insignis* (Moldenk, 1976) contra *Callosobruchus maculatus* (Fabr., 1775) UEFS, Feira de Santana/BA, 2017.

Aplicação tópica

Medianas

Ade	ade_tween	aplicação_tópica
0.0	0.2	0.7

Médias

Ade	ade_tween	aplicação_tópica
0.05	0.21	0.69

análise dos dados e comparação por rank, mortos após 48 horas

\$means

	Rank	prop48	Std	R	Min	max
Ade	7.05	0.050	0.07071068	10	0.0	0.2
Ade_tween	14.05	0.210	0.13703203	10	0.0	0.4
Aplicação_tópica	25.40	0.690	0.191195	10	0.4	1.0

\$comparison

null

\$groups

Trt	Means	M
Aplicação_tópicaa	25.40	A
Ade_tween	14.05	B
Ade	7.05	C

Superfície contaminada

medianas

ade	ade_tween	superficie_contaminada
0.00	0.30	0.65

médias

ade	ade_tween	superficie_contaminada
0.04	0.28	0.61

\$means

	Rank	prop48	Std	R	min	max
Ade	6.8	0.04	0.06992059	10	0.0	0.2
Ade_tween	15.6	0.28	0.15491933	10	0.0	0.4
superficie_contaminada	24.1	0.61	0.22827858	10	0.3	0.9

\$comparison

Trt	means	M
superfície_contaminada	24.1	A
ade_tween	15.6	B
Ade	6.8	C

Comparação entre os métodos

Mediana

Aplicação_tópica superfície_contaminada
0.70 0.65

Médias

Aplicação_tópica superfície_contaminada
0.69 0.61

teste de mann-withney

data: proporcao by metodo
w = 60, p-value = 0.4685

*alternative hypothesis: true location shift is not equal to 0

teste t-student
shapiro.test (proporcao)

shapiro-wilk normality test

w = 0.95188, p-value = 0.3966

bartlett.test (proporcao~metodo)

bartlett test of homogeneity of variances

bartlett's k-squared = 0.26655, df = 1, p-value = 0.6057

two sample t-test

data: proporcao by metodo
t = 0.84959, df = 18, p-value = 0.4067

APÊNDICE E: Resumo da análise estatística do pré-teste com extratos aquosos (EA), metanólicos (EM) e óleos essenciais (OE) das espécies *Lippia insignis* (Moldenk, 1976) *Lippia thymoides* (Martius & Schauer, 1847) e *Lippia lasiocalycina* (Schauer, 1832) contra *Nasutitermes corniger* (Moldenk 1976). UEFS, Feira de Santana/BA, 2017.

Extrato Aquoso

bartlett.test(prop24~tratamento)

Bartlett test of homogeneity of variances

data: prop24 by tratamento

Bartlett's K-squared = Inf, df = 4, p-value < 2.2e-16

> shapiro.test (prop24)

Shapiro-Wilk normality test

data: prop24

W = 0.77624, p-value = 0.0003902

bartlett.test(prop48~tratamento)

Bartlett test of homogeneity of variances

data: prop48 by tratamento

Bartlett's K-squared = Inf, df = 4, p-value < 2.2e-16

> shapiro.test (prop48)

Shapiro-Wilk normality test

data: prop48

W = 0.71098, p-value = 5.323e-05

kruskal.test(prop24 ~ tratamento)

Kruskal-Wallis rank sum test

data: prop24 by tratamento

Kruskal-Wallis chi-squared = 15.09, df = 4, p-value = 0.004519

> comparacao1 = kruskal (prop24, tratamento, group=TRUE, p.adj="bon")

> comparacao1

\$statistics

Chisq p.chisq LSD

15.08955 0.004519039 6.866694

\$parameters

Df	ntr	t.value	Alpha	Test	name.t
4	5	3.286039	0.05	Kruskal-Wallis	tratamento

\$means

	Rank	prop24	Std	R	Min	Max
ADE	3.50	0.000	0.00000000	4	0.0	0.0
FIPRONIL	18.50	1.000	0.00000000	4	1.0	1.0
L.INSIGNIS	7.25	0.100	0.08164966	4	0.0	0.2
L.LASIO	11.25	0.225	0.05000000	4	0.2	0.3
L.THYMOIDES	12.00	0.325	0.25000000	4	0.0	0.6

\$comparison

NULL

\$groups

Trt	Means	M
FIPRONIL	18.50	A
L.THYMOIDES	12.00	Ab
L.LASIO	11.25	B
L.INSIGNIS	7.25	Bc
ADE	3.50	C

kruskal.test(prop48 ~ tratamento)

Kruskal-Wallis rank sum test

data: prop48 by tratamento

Kruskal-Wallis chi-squared = 14.159, df = 4, p-value = 0.006806

> comparacao2 = kruskal (prop 48, tratamento, group=TRUE, p.adj="bon")

> comparacao2

\$statistics

Chisq	p.chisq	LSD
14.15865	0.00680554	7.721025

\$parameters

Df	ntr	t.value	alpha	test	name.t
4	5	3.286039	0.05	Kruskal-Wallis	tratamento

\$means

	Rank	prop 48	Std	R	Min	Max
ADE	5.125	0.125	0.1500000	4	0.0	0.3
FIPRONIL	18.500	1.000	0.0000000	4	1.0	1.0
L.INSIGNIS	5.500	0.125	0.1892969	4	0.0	0.4
L.LASIO	12.125	0.425	0.1258306	4	0.3	0.6
L.THYMOIDES	11.250	0.400	0.1825742	4	0.2	0.6

\$comparison
NULL

\$groups

TRT	Means	M
FIPRONIL	18.500	A
L.LASIO	12.125	Ab
L.THYMOIDES	11.250	Ab
L.INSIGNIS	5.500	B
ADE	5.125	B

Extrato Metanólico

bartlett.test(prop24~tratamento)

Bartlett test of homogeneity of variances

data: prop24 by tratamento

Bartlett's K-squared = Inf, df = 5, p-value < 2.2e-16

> shapiro.test (prop24)

Shapiro-Wilk normality test

data: prop24

W = 0.86302, p-value = 0.003851

bartlett.test(prop48~tratamento)

Bartlett test of homogeneity of variances

data: prop48 by tratamento

Bartlett's K-squared = Inf, df = 5, p-value < 2.2e-16

> shapiro.test (prop48)

Shapiro-Wilk normality test

data: prop48
 W = 0.83879, p-value = 0.001364

kruskal.test(prop24 ~ tratamento)

Kruskal-Wallis rank sum test

data: prop24 by tratamento
 Kruskal-Wallis chi-squared = 17.346, df = 5, p-value = 0.003889

> comparacao1 = kruskal (prop24, tratamento, group=TRUE, p.adj="bon")

> comparacao1

\$statistics

Chisq	p.chisq	LSD
17.34579	0.003888605	9.308792

\$parameters

Df	ntr	t.value	Alpha	test	name.t
5	6	3.380362	0.05	Kruskal-Wallis	Tratamento

\$means

	Rank	prop24	Std	r	Min	Max
ADE	5.75	0.150	0.1914854	4	0.0	0.4
ADE_TWEEN1	8.00	0.275	0.2500000	4	0.0	0.6
FIPRONIL	21.00	1.000	0.0000000	4	1.0	1.0
L_INSIGNIS	20.00	0.975	0.0500000	4	0.9	1.0
L_LASIOCALYCINA	8.75	0.300	0.2581989	4	0.0	0.6
L_THYMOIDES	11.50	0.425	0.1892969	4	0.3	0.7

\$comparison

NULL

\$groups

Trt	Means	M
FIPRONIL	21.00	A
L_INSIGNIS	20.00	Ab
L_THYMOIDES	11.50	Bc
L_LASIOCALYCINA	8.75	C
ADE_TWEEN1	8.00	C
ADE	5.75	C

kruskal.test(prop48 ~ tratamento)

Kruskal-Wallis rank sum test

data: prop48 by tratamento
 Kruskal-Wallis chi-squared = 15.628, df = 5, p-value = 0.007991

```
> comparacao2 = kruskal (prop48,tratamento,group =TRUE, p.adj="bon")
```

```
> comparacao2
```

```
$statistics
```

```
Chisq p.chisq LSD
15.62773 0.00799135 10.47026
```

```
$parameters
```

```
Df ntr t.value alpha test name.t
5 6 3.380362 0.05 Kruskal-Wallis tratamento
```

```
$means
```

	Rank	Prop 48	Std	r	Min	Max
ADE	7.625	0.375	0.1707825	4	0.2	0.6
ADE_TWEEN1	9.375	0.425	0.1258306	4	0.3	0.6
FIPRONIL	20.000	1.000	0.0000000	4	1.0	1.0
L_INSIGNIS	20.000	1.000	0.0000000	4	1.0	1.0
L_LASIOCALYCINA	6.500	0.300	0.2581989	4	0.0	0.6
L_THYMOIDES	11.500	0.625	0.3774917	4	0.3	1.0

```
$comparison
```

```
NULL
```

```
$groups
```

TRT	Means	M
FIPRONIL	20.000	A
L_INSIGNIS	20.000	A
L_THYMOIDES	11.500	Ab
ADE_TWEEN1	9.375	B
ADE	7.625	B
L_LASIOCALYCINA	6.500	B

Óleo essencial

```
bartlett.test(prop24~tratamento)
```

Bartlett test of homogeneity of variances

```
data: prop24 by tratamento
```

```
Bartlett's K-squared = Inf, df = 5, p-value < 2.2e-16
```

```
> shapiro.test (prop24)
```

Shapiro-Wilk normality test

```
data: prop24
```

```
W = 0.71199, p-value = 1.457e-05
```

```
bartlett.test (prop48~tratamento)
```

Bartlett test of homogeneity of variances

data: prop48 by tratamento
 Bartlett's K-squared = Inf, df = 5, p-value < 2.2e-16

> shapiro.test (prop48)

Shapiro-Wilk normality test

data: prop48
 W = 0.67167, p-value = 4.348e-06

kruskal.test (prop24 ~ tratamento)

Kruskal-Wallis rank sum test

data: prop24 by tratamento
 Kruskal-Wallis chi-squared = 19.604, df = 5, p-value = 0.001483

> comparacao1 = kruskal (prop24, tratamento, group=TRUE, p.adj="bon")

> comparacao1

\$statistics

Chisq	p.chisq	LSD
19.60405	0.001482562	6.69882

\$parameters

Df	Ntr	t.value	Alpha	test	name.t
5	6	380362	0.05	Kruskal-Wallis	tratamento

\$means

	Rank	prop24	Std	r	Min	Max
ADE	5.000	0.225	0.1707825	4	0.0	0.4
ADE_TWEEN1	4.000	0.200	0.0000000	4	0.2	0.2
FIPRONIL	18.000	1.000	0.0000000	4	1.0	1.0
L_INSIGNIS	13.875	0.900	0.1414214	4	0.7	1.0
L_LASIOCALYCINA	16.125	0.975	0.0500000	4	0.9	1.0
L_THYMOIDES	18.000	1.000	0.0000000	4	1.0	1.0

\$comparison

NULL

Trt	means	M
FIPRONIL	18.000	A
L_THYMOIDES	18.000	A
L_LASIOCALYCINA	16.125	A
L_INSIGNIS	13.875	A
ADE	5.000	B
ADE_TWEEN1	4.000	B

kruskal.test(prop48 ~ tratamento)

Kruskal-Wallis rank sum test

data: prop48 by tratamento

Kruskal-Wallis chi-squared = 21.851, df = 5, p-value = 0.0005588

> comparacao2 = kruskal (prop48, tratamento, group=TRUE, p.adj="bon")

> comparacao2

\$statistics

Chisq	p.chisq	LSD
21.85142	0.0005587655	3.579878

\$parameters

Df	ntr	t.value	alpha	test	name.t
5	6	3.380362	0.05	Kruskal-Wallis	tratamento

\$means

	Rank	prop48	Std	r	Min	Max
ADE	4.625	0.400	0.08164966	4	0.3	0.5
ADE_TWEEN1	4.375	0.375	0.20615528	4	0.2	0.6
FIPRONIL	16.500	1.000	0.00000000	4	1.0	1.0
L_INSIGNIS	16.500	1.000	0.00000000	4	1.0	1.0
L_LASIOCALYCINA	16.500	1.000	0.00000000	4	1.0	1.0
L_THYMOIDES	16.500	1.000	0.00000000	4	1.0	1.0

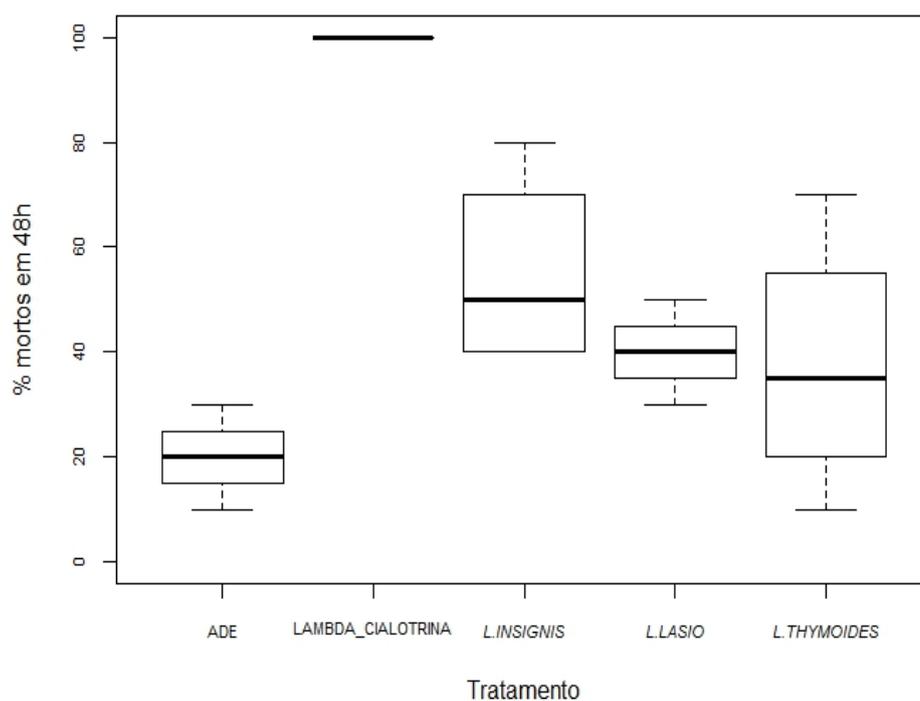
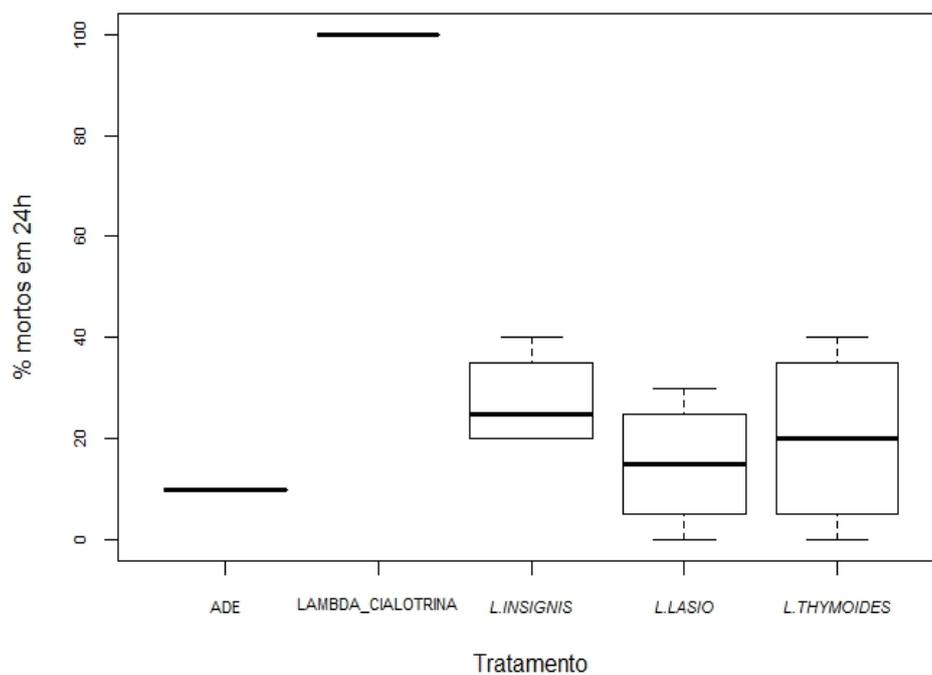
\$comparison

NULL

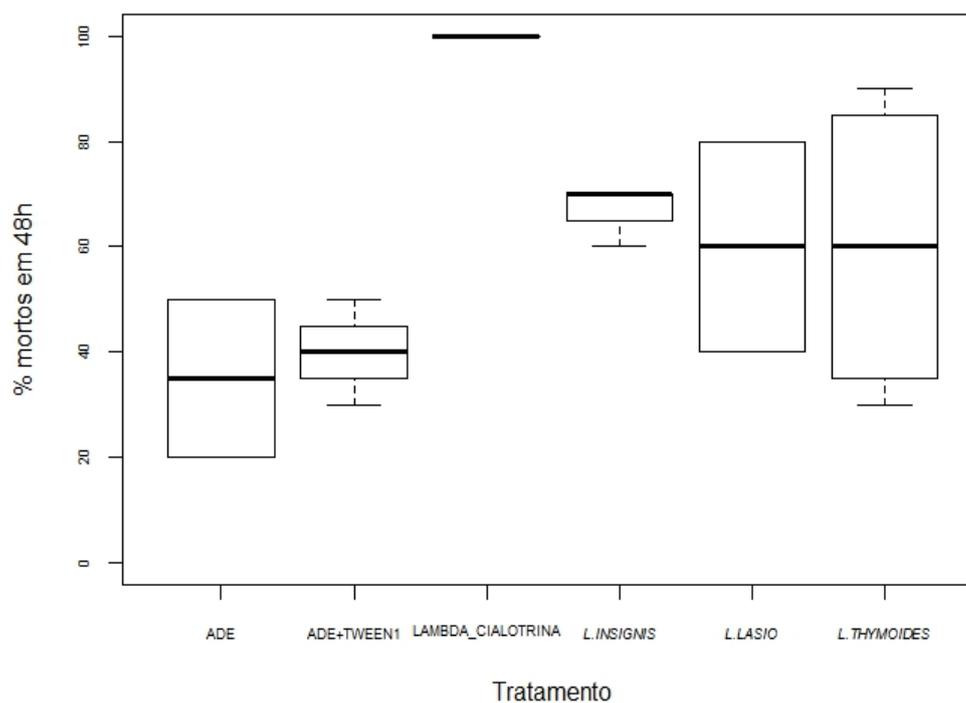
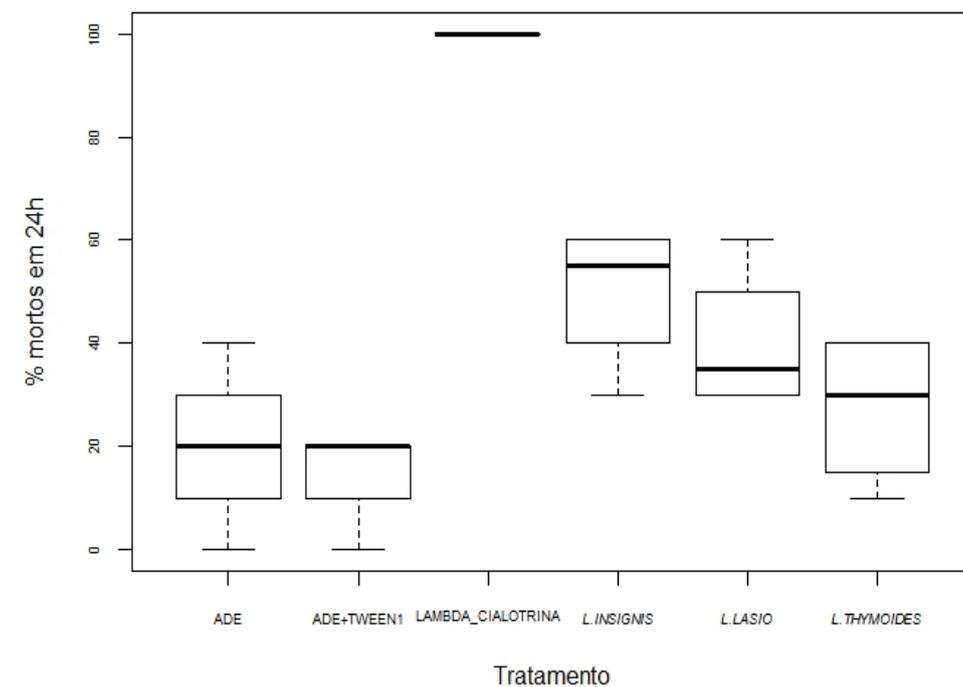
\$groups

Trt	means	M
FIPRONIL	16.500	a
L_INSIGNIS	16.500	a
L_LASIOCALYCINA	16.500	a
L_THYMOIDES	16.500	a
ADE	4.625	b
ADE_TWEEN1	4.375	B

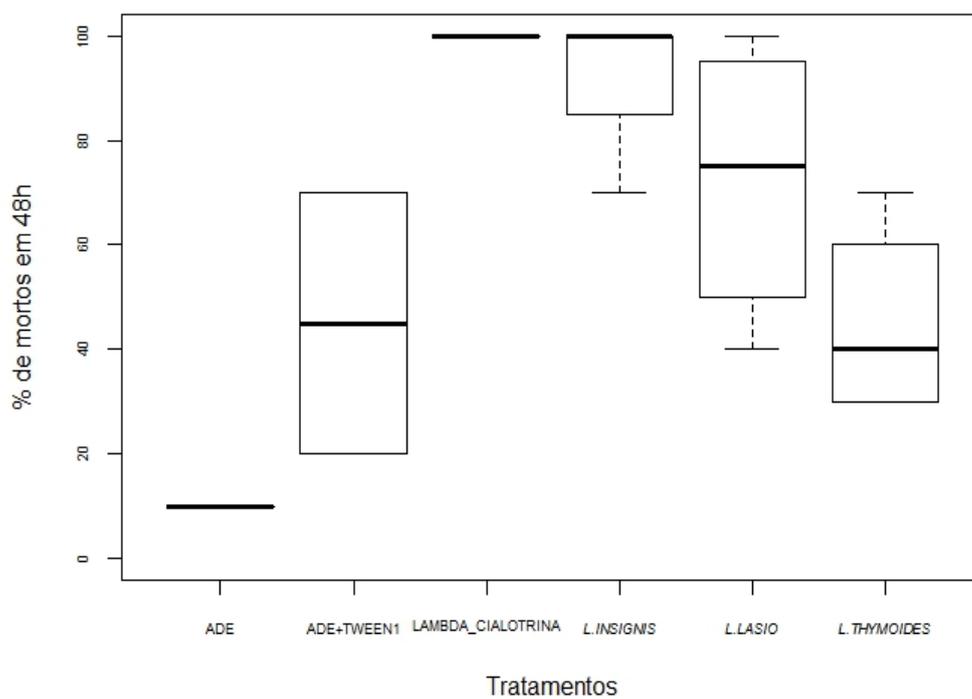
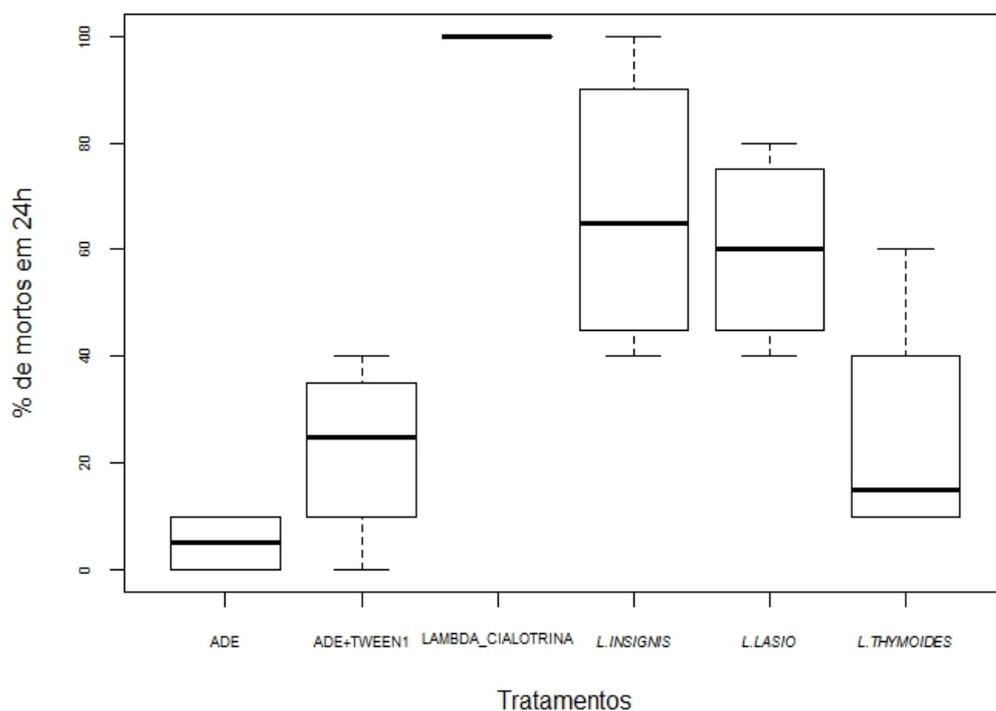
APÊNDICE F (A): Mortalidade de *C. maculatus* em 24 e 48 horas de exposição à superfície contaminada com o extrato aquoso de *L. insignis* (Moldenk, 1976), *L. lasiocalycina* (Cham, 1832) e *L. thymoides* (Martius & Schauer, 1847).



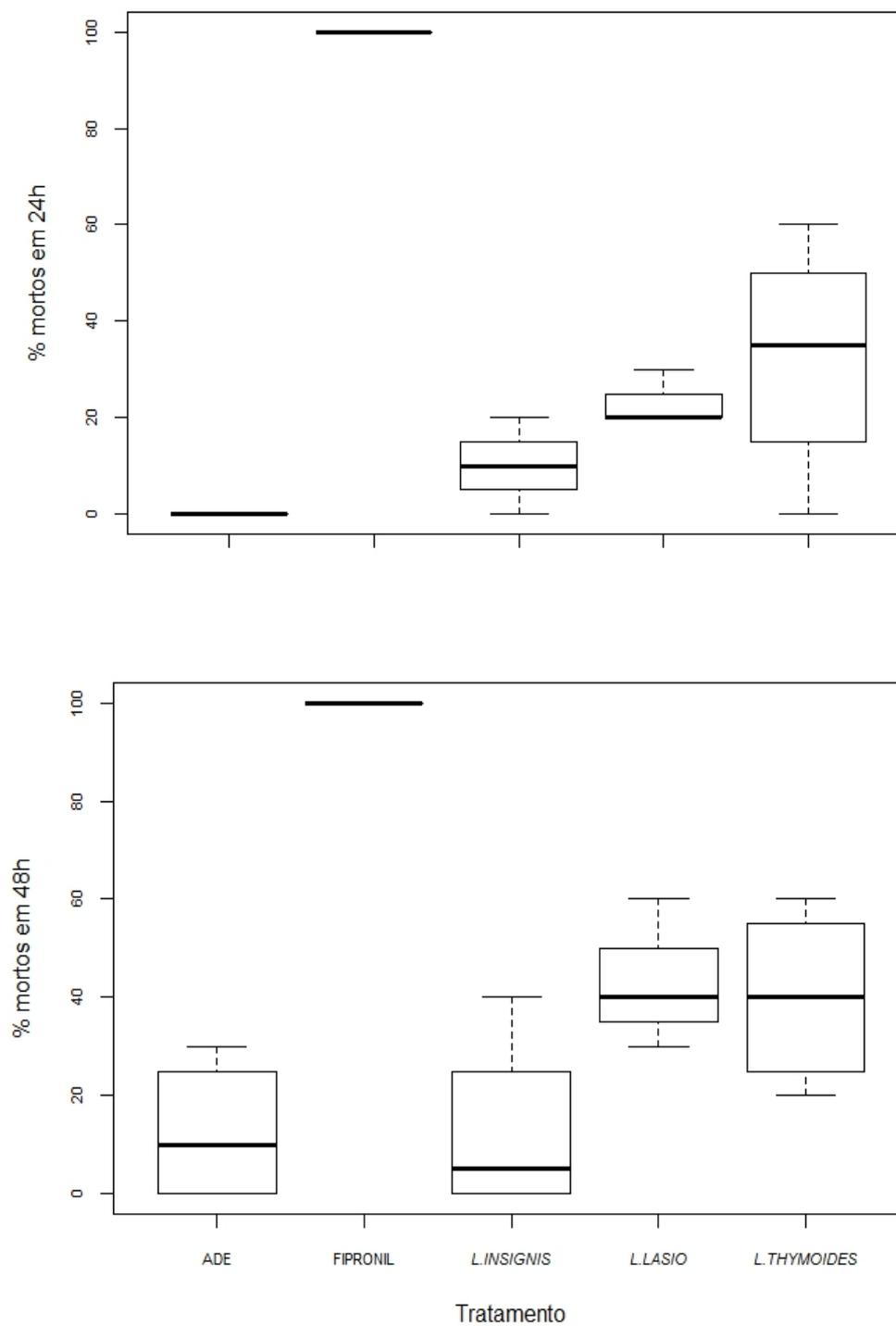
APÊNDICE F (B): Mortalidade de *C. maculatus* em 24 e 48 horas de exposição à superfície contaminada com o extrato metanólico de *L. insignis* (Moldenk, 1976), *L. lasiocalycina* (Cham, 1832) e *L. thymoides* (Martius & Schauer, 1847).



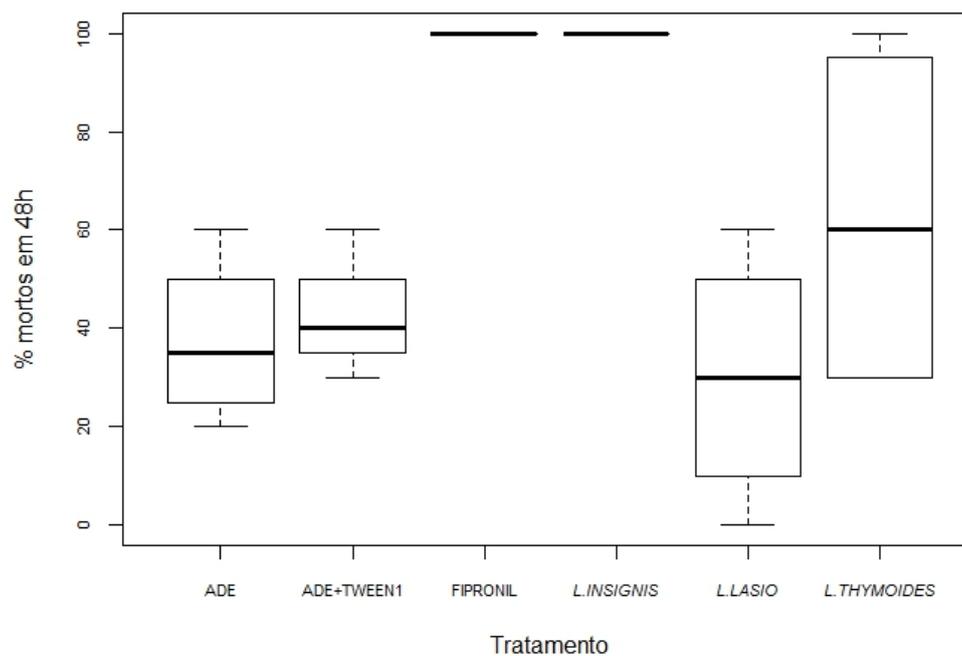
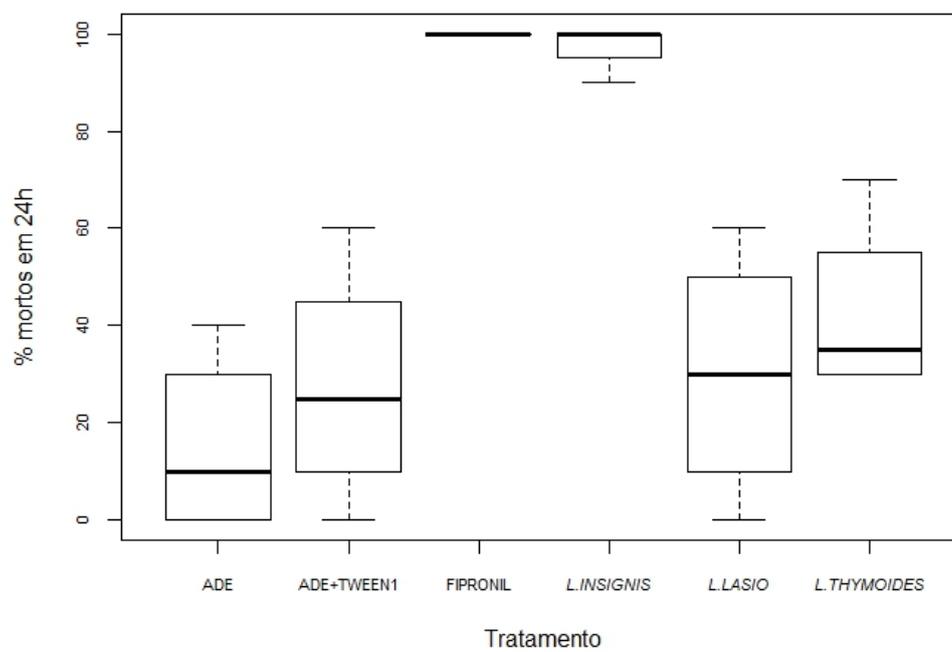
APÊNDICE F (C): Mortalidade de *C. maculatus* em 24 e 48 horas expostos à superfície contaminada com os óleos essenciais de *L. insignis* (Moldenk, 1976), *L. lasiocalycina* (Cham, 1832) e *L. thymoides* (Martius & Schauer, 1847).



APÊNDICE G (A): Mortalidade de *N. corniger* em 24 e 48 horas de exposição à superfície contaminada com o extrato aquoso de *L. insignis* (Moldenk, 1976), *L. lasiocalycina* (Cham, 1832) e *L. thymoides* (Martius & Schauer, 1847).



APÊNDICE G (B): Mortalidade de *N. corniger* em 24 e 48 horas de exposição à superfície contaminada com o extrato metanólico de *L. insignis* (Moldenk, 1976), *L. lasiocalycina* (Cham, 1832) e *L. thymoides* (Martius & Schauer, 1847).



APÊNDICE G (C): Mortalidade de *N. corniger* em 24 e 48 horas de exposição à superfície contaminada com os óleos essenciais de *L. insignis* (Moldenk, 1976), *L. lasiocalycina* (Cham, 1832) e *L. thymoides* (Martius & Schauer, 1847).

