

UNIVERSIDADE FEDERAL DO ESPÍRITO SANTO
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM PRODUÇÃO VEGETAL

GISELE DOS SANTOS OLIVEIRA MARTINS

**CARACTERIZAÇÃO QUÍMICA E ATIVIDADE INSETICIDA DE
ÓLEOS ESSENCIAIS CÍTRICOS SOBRE *Dysmicoccus brevipes*
(COCKERELL, 1893) (HEMIPTERA: PSEUDOCOCCIDAE)**

ALEGRE

2016

GISELE DOS SANTOS OLIVEIRA MARTINS

**CARACTERIZAÇÃO QUÍMICA E ATIVIDADE INSETICIDA DE
ÓLEOS ESSENCIAIS CÍTRICOS SOBRE *Dysmicoccus brevipes*
(COCKERELL, 1893) (HEMIPTERA: PSEUDOCOCCIDAE)**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Produção Vegetal do Centro de Ciências Agrárias da Universidade Federal do Espírito Santo, como requisito parcial para obtenção do título de Mestre em Produção Vegetal.
Orientador: Prof^o Dr. Hugo Bolsoni Zago.

ALEGRE

2016

Dados Internacionais de Catalogação-na-publicação (CIP)
(Biblioteca Setorial de Ciências Agrárias, Universidade Federal do Espírito Santo, ES, Brasil)

M386c Martins, Gisele dos Santos Oliveira, 1981-
Caracterização química e atividade inseticida de óleos essenciais cítricos sobre *Dysmicoccus brevipes* (cockerell, 1893) (hemíptera: pseudococcidae) / Gisele dos Santos Oliveira Martins. – 2016.
43f. : il.

Orientador: Hugo Bolsoni Zago.

Coorientador: Adilson Vidal Costa; Dirceu Pratissoli.

Dissertação (Mestrado em Produção Vegetal) – Universidade Federal do Espírito Santo, Centro de Ciências Agrárias.

1. Cochonilha-branca. 2. Óleos essenciais. 3. Inseticidas biológicos.
4. Componentes químicos. 5. Controle de praga. I. Zago, Hugo Bolsoni. II. Costa, Adilson Vidal. III. Pratissoli, Dirceu. IV. Universidade Federal do Espírito Santo. Centro de Ciências Agrárias. V. Título.

CDU: 63

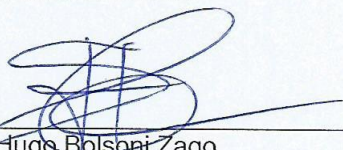
GISELE DOS SANTOS OLIVEIRA

**CARACTERIZAÇÃO QUÍMICA E ATIVIDADE INSETICIDA DE
ÓLEOS ESSENCIAIS CÍTRICOS SOBRE *Dysmicoccus brevipes*
(COCKERELL, 1893) (HEMIPTERA: PSEUDOCOCCIDAE)**

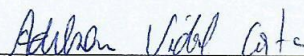
Dissertação apresentada ao Programa de Pós- Graduação em Produção Vegetal da Universidade Federal do Espírito Santo, como requisito parcial para obtenção do título de Mestre em Produção Vegetal, na área de concentração em Fitossanidade, com ênfase em Entomologia.

Aprovada em 29 de fevereiro de 2016.

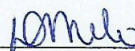
COMISSÃO EXAMINADORA



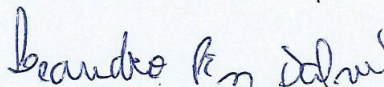
Prof. Dr. Hugo Bolsoni Zago
Universidade Federal do Espírito Santo
Orientador



Prof. Dr. Adilson Vidal Costa
Universidade Federal do Espírito Santo



Prof. Dra. Débora Ferreira Melo Fragoso
Universidade Federal do Espírito Santo



Prof. Dr. Leandro Pin Dalvi
Universidade Federal do Espírito Santo

A Jesus, autor e consumidor da minha fé
agradeço e ofereço;

Aos meus pais, pelo incentivo, carinho e amor
incondicional;

Ao meu amado esposo, amigo e companheiro
de todos os momentos... Amo vocês.

AGRADECIMENTOS

A Deus por estar comigo em todos os instantes da minha vida e pelo seu amor imensurável;

Aos meus queridos pais, Elias Barbosa de Oliveira e Vanilda dos Santos Oliveira que sempre me incentivaram na busca dos meus sonhos e me apoiaram nos momentos difíceis;

Ao amor da minha vida, meu esposo Júnior, sem você eu não conseguiria, muito obrigada por você existir na minha vida;

Enfim, a toda a minha família pelo incentivo e compreensão;

A Universidade Federal do Espírito Santo (UFES), pela oportunidade concedida;

A Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), pela concessão da bolsa de estudos;

Ao Programa de Pós-Graduação em Produção Vegetal do CCA;

Ao meu orientador, Hugo Bolsoni Zago, pela confiança;

Ao meu coorientador Prof. Dr. Adilson Vidal Costa, pela amizade, pelos conselhos e pelas sugestões;

Ao professor Dr. Dirceu Pratissoli, pela coorientação;

A todos os colegas e amigos do NUDEMAFI, pela agradável convivência e ajuda no que foi necessário durante o desenvolvimento do trabalho, especialmente ao meu amigo Luis Moreira de Araujo Junior e José Romário de Carvalho pela amizade e colaboração na pesquisa.

RESUMO

A cochonilha-branca, *Dysmicoccus brevipes*, (Cockerell, 1893) (Hemiptera: Pseudococcidae) promove sérios problemas fitossanitários no abacaxizeiro e no cafeeiro, entre os quais, redução na quantidade e qualidade dos frutos e grãos. Este estudo teve por objetivo determinar a composição química e avaliar a atividade inseticida dos óleos essenciais comerciais de laranja doce (*Citrus sinensis*), laranja amarga (*Citrus aurantium*), limão siciliano (*Citrus limon*) e do composto D-limoneno no controle *D. brevipes*, visando o manejo ecológico da referida praga. Os constituintes majoritários do óleo de laranja doce foram o limoneno (83,33%); linalol (8,91%), do óleo de laranja amarga foram limoneno (78,53%); γ -terpineno (12,65%), do óleo de limão siciliano foram limoneno (59,78%); beta-pineno (14,71%); γ -terpineno (10,19%) e o composto D-limoneno (97%) de pureza. O óleo de limão siciliano, laranja doce e o composto D-limoneno foram os que apresentaram maior percentual de mortalidade, sendo 98,68%, 94,11% e 69,03%. O óleo com menor valor foi o de laranja amarga, o qual diferiu dos dois primeiros tratamentos com 48,52%. As CL_{50} e CL_{90} para o óleo de laranja doce foram de 2,21% e 3,55% e para o óleo de limão siciliano foram de 0,72% e 2,91%, respectivamente. Os óleos de laranja doce e limão siciliano demonstraram ser promissores no controle *D. brevipes*.

Palavras-chave: cochonilha-branca, óleos essenciais e bioinseticida.

ABSTRACT

Cochineal-white, *Dysmicoccus brevipes*, (Hemiptera: Pseudococcidae) promotes serious phytosanitary problems in pineapple and coffee, among which, reduction in the quantity and quality of fruits and grains, respectively. Given the problems arising with the use of pesticides to control this and other pest insects, this study aimed to determine the chemical composition and evaluate the insecticidal activity of the commercial essential oils of sweet Orange (*Citrus sinensis*), bitter Orange (*Citrus aurantium*), Sicilian lemon (*Citrus limon*) and D-limonene in *D. brevipes* control, in order to obtain natural products with potential to be increased in the ecological management of that plague. The major constituents of sweet orange oil were d-limonene (83.33%), linalool (8.91%), the bitter orange oil were limonene (78.53%); γ -terpinene (12.65%); of lemon oil were limonene (59.78%); beta-pinene (14.71%); γ -terpinene (10.19%) and Compound D-limonene (97%) of purity. The Sicilian lemon oil, sweet orange and limonene showed the highest percentage of mortality, 98.68%, 94.11% and 69.03%. The oil was lower with the bitter orange, which differ from the first two treatments with 48.52%. The LC₅₀ and LC₉₀ for sweet orange oil were 2.21% and 3.55% and the lemon oil were 0.72% and 2.91%, respectively. Sweet orange oil and lemon shown to be promising in control *D. brevipes*.

Keywords: cochineal-white, essential oils of citrus and biopesticide.

SUMÁRIO

RESUMO	05
ABSTRACT	06
1 CAPÍTULO I	08
1.1 INTRODUÇÃO.....	08
1.2 REVISÃO DE LITERATURA.....	09
1.3 REFERÊNCIAS.....	14
2 CAPÍTULO II	
CARACTERIZAÇÃO QUÍMICA E ATIVIDADE INSETICIDA DE ÓLEOS ESSENCIAIS CÍTRICOS SOBRE <i>Dysmicoccus brevipes</i>	20
RESUMO	20
ABSTRACT	21
2.1 INTRODUÇÃO.....	22
2.2 MATERIAL E MÉTODOS.....	23
2.2.1 Obtenção e caracterização química dos compostos dos óleos essenciais.....	23
2.2.2 Criação de <i>Dysmicoccus brevipes</i>	24
2.2.3 Bioensaio.....	24
2.2.4 Análise dos dados.....	25
2.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	26
2.3.1 Caracterização química dos compostos dos óleos essenciais.....	26
2.3.2 Bioensaio.....	29
2.4 CONCLUSÕES.....	35
2.5 REFERÊNCIAS.....	35
3 CONSIDERAÇÕES FINAIS	43

1 CAPÍTULO I

1.1 INTRODUÇÃO

As cochonilhas (Hemiptera: Coccoidea) constituem-se em um dos principais grupos de insetos praga em diversos sistemas de produção, podendo infestar plantas cultivadas e/ou silvestres (CLAPS, 2001; SANTA-CECÍLIA; SOUZA, 2005). A espécie *Dysmicoccus brevipes* (Hemiptera: Pseudococcidae) tem sido relatada atacando culturas economicamente importantes como café e abacaxi (SILVA et al., 1968; SANTA CECÍLIA et al., 2007; CULIK, 2008).

O método de controle de insetos praga na agricultura no Brasil tem sido realizado, predominantemente, pelo uso de inseticidas convencionais que podem com o tempo acarretar problemas para o homem e ao meio ambiente (THOMAZINI et al., 2000). Para amenizar o uso de inseticidas sintéticos, a busca por métodos de controle ecologicamente viáveis é necessária para reduzir os impactos negativos gerados pelo uso do controle com agrotóxicos.

Desse modo, produtos naturais, como os óleos vegetais, vêm sendo estudados quanto à atividade inseticida, visto que diversas plantas apresentam potencial em afetar o comportamento e metabolismo de insetos (CARVALHO, 2008). Nesse sentido, diversas espécies vegetais apresentam compostos voláteis que são exalados como defesa natural contra insetos e pragas, sendo a mistura dessas substâncias de baixa massa molecular chamada de óleos essenciais.

Devido a esse fato, os óleos essenciais têm potencial para serem usados no manejo integrado de pragas, podendo atuar por contato, ingestão, fumigação, ovicida e repelência (ALMEIDA et al., 2004; SOUSA et al., 2005; BRITO et al., 2006).

Os óleos essenciais do gênero *Citrus*, estão entre os mais usados no mundo. O Brasil destaca-se em sua produção, principalmente por serem obtidos como subproduto da indústria de suco (GOMES, 2011). Esses óleos são abundantes em compostos biologicamente ativos, incluindo atividades antioxidantes (CAMPÊLO et al., 2011[a]), antimicrobianas (CHOI et al., 2000), anti-inflamatórias (BENAVENTE-GARCÍA;

CASTILLO, 2008), inseticidas (KARR; COATS, 1988; IBRAHIM et al., 2001) e anticolinesterásica (CONFORTI et al., 2007).

Visando encontrar alternativas para o controle de *D. brevipipes*, importante praga a ser controlada na cultura do café, este trabalho teve por objetivo determinar a composição química e verificar a atividade inseticida de óleos essenciais comerciais de laranja doce (*Citrus sinensis*), laranja amarga (*Citrus aurantium*), limão siciliano (*Citrus limon*) e do monoterpeneo D-limoneno sobre a *D. brevipipes*.

1.2 REVISÃO DE LITERATURA

A cafeicultura é uma das atividades de grande importância no cenário sócioeconômico brasileiro. Segundo dados do Ministério da Agricultura (2016), o Brasil, em 2014, manteve a posição de maior produtor e exportador mundial de café e de segundo maior consumidor do produto. A safra alcançou 45,34 milhões de sacas de 60 kg de café beneficiado, em 15 Estados, com destaque para Minas Gerais, que respondeu por 49,93% da produção nacional, seguido do Espírito Santo, São Paulo, Bahia, Rondônia e Paraná.

De acordo com a Companhia Nacional de Abastecimento (Conab), a safra cafeeira de 2016 indica que o estado do Espírito Santo deverá colher em torno de 11,1 milhões de sacas de café, sendo entre 3,36 milhões e 3,57 milhões de sacas de arábica, e entre 7,47 milhões e 7,93 milhões de sacas de conilon (CONAB, 2016). Em análise feita pelo Incaper, se o Estado não tivesse sofrido com os problemas climáticos, como seca, má distribuição de chuva, altas temperaturas e grande insolação, a expectativa para 2016 era de colher cerca de 11,5 milhões de sacas. Esses desequilíbrios levaram ao desenvolvimento de folhas e frutos pequenos, amarelados, e facilitaram o ataque de cochonilha, afetando a produtividade e qualidade do produto final (MATIELO, 2016).

A cultura do café hospeda inúmeras espécies de insetos, sendo de importância econômica, por causarem danos significativos, levando a perdas na produção

(ALVES, 2006). Entre as principais pragas, estão as cochonilhas-brancas que atacam a parte aérea e também as raízes do cafeeiro.

A cochonilha-branca, *Dysmicoccus brevipes* (Hemiptera: Pseudococcidae) é um inseto fitófago, hospedeira em cerca de 250 famílias de plantas (MILLER, 2005). É uma espécie polífaga e pode ser encontrada infestando raízes, folhas e frutos de diferentes culturas, tais como, o cafeeiro, citros, goiabeira, abacaxi, dentre outras (SANTA CECÍLIA et al., 2005, 2007; MAU; MARTIN, 2007).

O Brasil é propício ao desenvolvimento de cochonilha-branca, uma vez que a fecundidade e a longevidade desse inseto são afetadas pelo clima, sendo os períodos quentes e úmidos os que oferecem condições mais favoráveis para o desenvolvimento da referida praga (SANTA CECÍLIA, 1990). Além do clima, outros fatores, como a presença de formigas-doceiras, a procedência do material de plantio, as condições fisiológicas das plantas e do solo, contribuem para elevar o nível populacional de *D. brevipes* (LACERDA, 2009).

As cochonilhas da família Pseudococcidae (Hemiptera), conhecidas como cochonilhas-farinhentas, têm se manifestado em surtos esporádicos em diversas regiões produtoras de café, provocando injúrias tanto nas raízes quanto na parte aérea (SANTA-CECÍLIA et al., 2007; SOUZA et al., 2008).

Em Marechal Floriano, região serrana do estado do Espírito Santo, no ano de 2010, ocorreu um forte surto de ataque da cochonilha de rosetas em cafeeiros. O ataque ocorreu nas rosetas e nos frutos, ocasionando o secamento dos frutos e como consequência redução na produção (MATIELLO, 2010).

Em cafeeiro as cochonilhas infestam inicialmente as raízes, abaixo do colo da planta, sem causar prejuízos irreversíveis à planta. Com o tempo, o inseto ataca todo o sistema radicular do cafeeiro, juntamente com o fungo *Bornetina*, resultando no comprometimento das raízes, não havendo mais absorção de água e de nutrientes via solo. Como resultado, as plantas atacadas amarelecem e depois morrem (SOUZA, 2011; SOUZA et al., 2001; SANTA-CECÍLIA et al., 2000, 2007).

No Brasil, o principal método de controle de *D. brevipes* tem sido o uso de inseticidas sintéticos, que muitas vezes são aplicados de forma abusiva, o que resulta em

problemas ambientais, intoxicações ao homem, surgimento de populações de insetos resistentes, ressurgimento de pragas, elevando assim os custos de produção (THOMAZINI et al., 2000; SANTA CECÍLIA et al., 2010).

Devido aos problemas que envolvem o uso de inseticidas sintéticos, como a contaminação ambiental, risco à saúde do homem e de animais, existe a necessidade em encontrar novos métodos de controle de pragas agrícolas (COSTA et al., 2004; CARVALHO, 2008; FERANDES et al., 2002; BRITO et al., 2006). Dentre as possibilidades, o uso de óleos essenciais tem se destacado, sendo que o estudo dessas substâncias naturais tem grande relevância para a agricultura no Brasil e no mundo, com a possibilidade da descoberta de um agroquímico que ofereça menores riscos ao homem e ao meio ambiente (SAITO; SCRAMIN, 2000; REGNAULT-ROGER; PHILOGÈNE, 2008; RESTELLO et al., 2009; CAVALCANTI et al., 2010; HAN et al., 2010; ISMAN, et al., 2010).

Os óleos essenciais são obtidos a partir de plantas aromáticas que, ao longo da evolução, desenvolveram defesas químicas contra herbívoros (WALLING 2000). São constituídos por misturas complexas de compostos orgânicos voláteis produzidos como metabólitos secundários nas plantas, principalmente monoterpenos, sesquiterpenos, fenilpropanoides, ésteres e outras substâncias de baixo peso molecular. Esses compostos são responsáveis pelos odores e/ou sabores característicos das plantas das quais são obtidos (RAI; CARPINELLA 2006).

Os óleos essenciais podem ser produzidos e armazenados em diferentes órgãos das plantas, como flores, folhas, caules, raízes, rizomas, frutos e sementes (REGNAULT-ROGER et al. 2012). Já foram usados por suas propriedades biológicas para diversas espécies de artrópodes (ISMAN, 2000; FLAMINI, 2006; ISMAN, 2006). Características como possível seletividade, assim como a alta eficiência já foram registradas para diferentes tipos de produtos naturais, inclusive os óleos essenciais. Segundo Alkofahi et al. (1989), os insetos desenvolvem baixa resistência aos óleos essenciais, devido a complexa mistura de diferentes constituintes químicos presentes em um óleo essencial, que atuam por diferentes modos de ação.

A atividade inseticida de óleos essenciais apresenta-se de diferentes formas (SADEK, 2003; ISMAN, 2006), incluindo a toxicidade (HIREMATH et al., 1997), o retardamento

no desenvolvimento (BREUER; SCHMIDT, 1995), a inibição da alimentação (WHEELER; ISMAN, 2001), a deterrência à oviposição (ZHAO et al., 1998), a redução na fecundidade e na fertilidade (MUTHUKRISHNAN, PUSHPALATHA, 2001). Além disso, as plantas são fontes naturais de princípios ativos inseticidas e antimicrobianos, já que estes podem ser sintetizados nas próprias plantas em resposta aos ataques dos insetos ou dos microrganismos (REGNAULT- ROGER, 1997).

No controle de insetos, esses óleos essenciais são considerados promissores, principalmente para o manejo integrado de pragas, atuando por contato, ingestão, fumigação, ovicida e repelência, podendo ser utilizados com outros métodos de controle, conforme filosofia do Manejo Integrado de Pragas (ALMEIDA et al., 2004; SOUSA et al., 2005; BRITO et al., 2006;). Além disso, causam mortalidade, efeitos no crescimento, redução na oviposição e na emergência de adultos (BOEKE et al., 2004; KETOH et al., 2005). Geralmente, os óleos essenciais são de baixo custo, baixa toxicidade e são fáceis de ser adquiridos e utilizados pelos produtores (PEREIRA et al., 2008).

O modo de ação mais comum dos óleos essenciais e de seus componentes majoritários é a atividade repelente, esses interagem com o tegumento do inseto, por meio do contato, além de atuar em enzimas digestivas e neurológicas (ISMAN, 2006). O modo de ação pode estar diretamente relacionado aos compostos terpenoides, como a inibição da acetilcolinesterase (VIEGAS JÚNIOR, 2003). A acetilcolina deve ser removida da fenda sináptica por meio de uma hidrólise catalisada pela acetilcolinesterase. Quando isso não ocorre, o neurotransmissor é acumulado na fenda, impedindo uma transmissão correta do potencial de ação, que pode levar o animal à morte por falência respiratória (CHAMBERS; CARR, 1995).

Sendo assim, os óleos essenciais de plantas do gênero *Citrus* têm sido reconhecidos por suas propriedades inseticidas e estudos têm demonstrado sua eficiência no controle de pragas. Como por exemplo, Born (2012), que obteve excelentes resultados testando óleo de tangerina cravo, laranja mimo, lima-da-pérsia e tangerina murcot sobre *Tetranychus urticae* koch (Acari: Tetranychidae). O autor relata que o óleo que promoveu mortalidade acima de 95% na menor concentração testada foi o de tangerina cravo (97,78% de mortalidade em 0,4 $\mu\text{L L}^{-1}$ de ar), seguido da laranja mimo (97,89% de mortalidade em 0,6 $\mu\text{L L}^{-1}$ de ar), lima-da-pérsia (95,56% de

mortalidade em 2,0 $\mu\text{L L}^{-1}$ de ar) e tangerina murcot (95,51% de mortalidade em 4,0 $\mu\text{L L}^{-1}$ de ar). Outro estudo demonstrou que o óleo essencial das cascas de *Citrus sinensis* L. Osbeck é repelente para os adultos de *Sitophilus zeamais* (Coleoptera: Curculionidae), com uma eficácia de 100% com a concentração de 0,5% (v m^{-1}) do óleo (ASTOLFI et. al., 2007).

O limoneno é o principal componente dos óleos essenciais de citros, atingindo concentrações de 90 a 96% (Figura 1). É um hidrocarboneto, pertencente à família dos terpenos, classe dos monoterpenos, encontrado em frutas cítricas (cascas de limões e laranjas), volátil e, por isso, responsável pelo cheiro característico dessas frutas. O L-limoneno é encontrado principalmente em uma variedade de plantas e ervas como *Mentha* spp., enquanto o D-limoneno é o principal componente dos óleos das cascas de laranja e limão (DEMYTTENAERE; VANOVERSCHELDE; DE KIMPE, 2004).

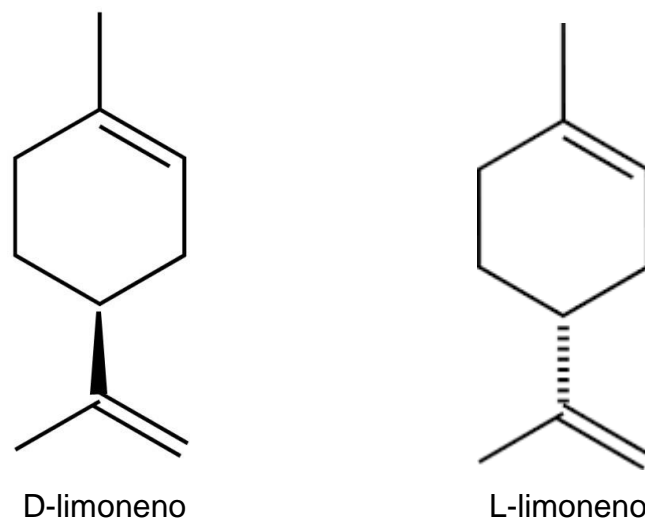


Figura 1: Estrutura química do limoneno.
Fonte: Gomes (2011).

Estudos sobre a atividade inseticida do D-limoneno foram feitos para a barata alemã, (*Blattella germânica*) (Linnaeus, 1767) (Blattodea: Blattellidae), mosca (*Musca domestica*) (Linnaeus, 1758) (Diptera: Muscidae), gorgulho do arroz (*Sitophilus oryzae*) (Linnaeus, 1763) (Coleoptera: Curculionidae), e no crisomelídeo do milho (*Diabrotica virgifera virgifera* LeConte) (Coleoptera: Chrysomelidae). Por via tópica, o D-limoneno foi ligeiramente tóxico para *B. germânica* e para a *M. domestica*, altas

concentrações de vapor causaram mortalidade em *B. germânica* e *S. oryzae* (Linnaeus, 1763). Em altas concentrações, o D-limoneno apresentou toxicidade contra ovos e larvas de *D. virgifera virgifera* LeConte (KARR; COATS, 1988). O limoneno é tóxico e deterrente às espécies de pragas de produtos armazenados como *Callosobruchus maculatus* (Fabr., 1775) (Coleóptera: Bruchidae) e *Sitophilus oryzae* (Linnaeus, 1763). (Coleóptera: Curculionidae) (SU et al., 1972; 1976).

Portanto, o uso de óleos essenciais de plantas no controle de pragas agrícolas apresenta-se como alternativa na substituição ou diminuição do uso de inseticidas sintéticos.

1.3 REFERÊNCIAS

- ALVES, V. S. **Aspectos da biologia de *Dysmicoccus texensis* (Tinsley) (Hemiptera: Pseudococcidae) e seu controle com nematóides entomopatogênicos.** 2006. 110f. Tese (Doutorado em Entomologia Agrícola)- Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2006.
- ALMEIDA, S. A.; ALMEIDA, F. A. C.; SANTOS, N. R.; ARAÚJO, M. E. R.; RODRIGUES, J. P. Atividade inseticida de extratos vegetais sobre *Callosobruchus maculatus* (Fabr., 1775) (Coleoptera: Bruchidae). **Revista Brasileira de Agrociência**, v. 10, n. 1, p. 67-70, 2004.
- ALKOFAHI, A.; RUPPRECHT, J. K.; ANDERSON, J. E.; MCLAUGHLIN, J. L.; MIKOLAJCZAK, K. L.; SCOTT, B. A. **Search for new pesticides from higher plants**, p. 25-43. In J.T. Arnason, B.J.R. Philogene & P. Morand (eds.), *Insecticides of plant origin*. Washington, DC, Am. Chem. Soc., 224p, 1989.
- ASTOLFI, V.; BORGES, L. R.; RESTELLO, R. M.; MOSSI, A. J.; CANSIAN, R. L. Estudo do efeito repelente e inseticida do óleo essencial das cascas de *Citrus sinensis* L. Osbeck no controle de *Sitophilus zeamais* mots em grãos de milho (*zea mays* L.). In: Congresso de Ecologia do Brasil, 8., Minas Gerais. **Anais...**Sociedade de Ecologia do Brasil, 2p. 2007.
- BENAVENTE-GARCIA, O.; CASTILLO, J. Update on uses and properties of *Citrus* flavonoids: New findings in Anticancer, Cardiovascular, and Anti-inflammatory Activity. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 56: p. 6185-6205, 2008.
- BOEKE, S. J.; BAUMGART, I. R.; LOON, J. J. A. van; HUIS, A. van; DICKE, M.; KOSSOU, D. K. Toxicity and repellence of African plants traditionally used for the protection of stored cowpea against *Callosobruchus maculatus*. **Journal of Stored Products Research**, v. 40, n. 4, p. 423-438, 2004.

- BORN, F. S. **Atividade de óleos essenciais de plantas das famílias Burseraceae, Lamiaceae, Rutaceae e Verbenaceae em *Tetranychus urticae* Koch e *Neoseiulus californicus* (McGregor)**. 2012. 101f. Tese (Doutorado em Entomologia Agrícola)- Universidade Federal Rural de Pernambuco, Recife, 2012.
- BUSS, E. A.; PARK-BROWN, S. G. **Natural products for insect pest management**. Gainesville: UF/IFAS, 2002. Disponível em: < <http://edis.ifas.ufl.edu/IN197>>. Acesso em: 2 ago. 2015.
- BREUER, M.; SCHMIDT, G. H. Influence of a short period treatment with *Melia azedarach* extract on food intake and growth of the larva of *Spodoptera frugiperda* (J. E. Smith) (Lep., Noctuidae). **Journal of Plant Diseases Protection**, v.102, p. 633-654, 1995.
- BRITO, J. P.; OLIVEIRA, J. E. M.; BORTOLI, S. A. Toxicidade de óleos essenciais de *Eucalyptus* spp. sobre *Callosobruchus maculatus* (Fabr., 1775) (Coleoptera: Bruchidae). **Revista de Biologia e Ciência da Terra**, v. 6, n. 1, p. 96-103, 2006.
- CAMPÊLO, L. M. L.; GONÇALVES, F. C. M.; FEITOSA, C. M.; FREITAS, R. M. Antioxidant activity of *Citrus limon* essential oil in mice hippocampus. **Pharmaceutical Biology**, v. 49: p. 709-715, 2011.
- CARVALHO, T. M. B. **Avaliação de extratos vegetais no controle de *Brevipalpus phoenicis* (Gejskes, 1939) e *Oligonychus ilicis* (McGregor, 1917) (Acari: Tenuipalpidae, Tetranychidae) em cafeeiro**. 2008. 101 f. Dissertação (Mestrado em Entomologia) – Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2008.
- CAVALCANTI, S. C. H.; NICULAU, E. S.; BLANK, A. F.; CÂMARA, C. A. G.; ARAÚJO, I. N.; ALVES, P. B. Composition and acaricidal activity of *Lippia sidoides* essential oil against twospotted spider mite (*Tetranychus urticae* Koch). **Bioresource Technology**, v. 101, n. 2, p. 829-832, 2010.
- CHAMBERS, J. E.; CARR, R. L. Biochemical mechanisms contributing to species differences in insecticidal toxicity. **Toxicology**, 105:291-304. 1995.
- CHOI, H.; SONG, H. S.; UKEDA, H.; SAWAMURA, M. Radical-Scavenging activities of *Citrus* essential oil and their components: Detection using 1,1-Diphenyl-2-picrylhydrazyl. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 48: p. 4156-4161, 2000.
- CLAPS, L. E.; TERÁN, A. L. Systematics, morphology and physiology Diaspididae (Hemiptera: Coccoidea) asociadas a cítricos en la Provincia de Tucumán (Republica da Argentina). **Neotropical Entomology**, v.30, n.3, p.391-402, 2001.
- COMPANHIA NACIONAL DE ABASTECIMENTO. **Acompamento da Safra Brasileira: café** – v. 2, n. 1, p. 1-68, 2016, Brasília: Conab. Disponível em: <http://www.conab.gov.br>.
- CONFORTI, F.; STATT, I. G. A.; TUNDIS, R.; LOIZZO, M. R.; MENICHINI, F. *In vitro* Activities of *Citrus medica* L. vc. Diamante (Diamante citron) relevant to treatment of diabetes and Alzheimer's disease. **Phytother. Res.**; v. 21: p. 427-433, 2007.

COSTA, E. L. N.; SILVA, R. F. P.; FIUZA, L. M. Efeitos, aplicações e limitações de extratos de plantas inseticidas. **Acta Biologica Leopoldensia**, v. 26, n. 2, p. 173-185, 2004.

CULIK, M. P.; MARTINS, D. S.; VENTURA, J. A.; WOLFF, V. R. S. Diaspididae (Hemiptera: Coccoidea) of Espírito Santo, Brazil. **Journal of Insect Science**. Tucson, v. 8, p. 1-6, 2008.

DEMYTTENAERE, J. C. R.; VANOVERSCHELDE, J.; DE KIMPE, N. Biotransformation of (R)-(+)- and (S)-(-)- citronellol by *Aspergillus* sp. and *Penicillium* sp. the use of solid phase microextraction for screening. **Journal of Chromatography**, v. 1027, n. 1-2, p. 137-146, Feb. 2004.

FERNANDES, J. B.; DAVID, V.; FACCHINI, P. H.; SILVA, M. F. DAS G. F. DA; RODRIGUES FILHO, E.; VIEIRA, P. C. Extrações de óleos de sementes de citros e suas atividades sobre a formiga cortadeira *Atta sexdens* e seu fungo simbionte. **Química Nova**, v. 25, n. 6, p. 1091-1095, 2002.

FLAMINI, G. **Acaricides of natural origin**. Part 2. Nat. Prod. Communic. 1: 1151-1158, 2006.

GOMES, M. S. **Caracterização química e atividade antifúngica dos óleos essenciais de cinco espécies do gênero *Citrus***. 98f. Dissertação (Mestrado em Agroquímica)- Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2011.

HAN, J.; CHOI, B. R.; LEE, S. G.; KIM, S. I.; AHN, Y. J. Toxicity of plant essential oils to acaricide-susceptible and -resistant *Tetranychus urticae* (Acari: Tetranychidae) and *Neoseiulus californicus* (Acari: Phytoseiidae). **Journal of Economic Entomology**, v. 103, n. 4, p. 1293-1298, 2010.

HIREMATH, I. G.; AHN, Y. J.; KIM, S. I. Insecticidal activity of Indian plant extracts against *Nilaparvata lugens* (Homoptera; Delphacidae). **Applied of Entomology Zoology**, 32:152-166, 1997.

IBRAHIM, M. A.; KAINULAINEN, P.; AFLATUNI, A.; IKKALA, K. T.; HOLOPAINEN, J. K. Insecticidal, repellent, antimicrobial activity and phytotoxicity of essential oils: whit special reference to limonene and its suitability for control of insect pests. **Agricultural and Food Science**, v. 10: p. 243-259, 2001.

ISMAN, M. B. **Plant essential oils for pest and disease management**. Crop Prot. 19: 603-608, 2000.

ISMAN, M. B.; WAN, A. J.; PASSREITER, C.M. Insecticidal activity of essential oils to the tobacco cutworm, *Spodoptera litura*. **Fitoterapia**, 72:65-68, 2001.

ISMAN, M. B. Botanical insecticides, deterrents, and repellents in modern agriculture and an increasingly regulated world. **Annual Review of Entomology**. 51: 45-66, 2006.

ISMAN, M. B., MIRESMALLI, S.; MACHIAL, C. M. Commercial opportunities for pesticides based on plant essential oils in agriculture, industry and consumer products. **Phytochemistry Reviews**. 9: 1-8, 2010.

KARR, L. L.; COATS, J. R. Insecticidal Properties of *d*-limonene. **Journal of Pest Science**, v. 13: p. 287-290, 1988.

KETOH, G. K.; KOUMAGLO, H. K.; GLITHO, I. A. Inhibition of *Callosobruchus maculatus* (F.) (Coleoptera: Bruchidae) development with essential oil extracted from *Cymbopogon schoenanthus* L. Spreng. (Poaceae), and the wasp *Dinarmus basalis* (Rondani) (Hymenoptera: Pteromalidae). **Journal of Stored Products Research**, v. 41, n. 4, p. 363-371, 2005.

LACERDA, J. T.; CARVALHO, R.A.; OLIVEIRA, E. F. Cochonilhas *Dysmicoccus brevipes*: a praga cosmopolita da abacaxicultura. **Tecnologia & Ciência Agropecuária**, v.3, n.2, p.15-21, 2009.

LIM, W. H. Wilting and green spotting of pineapple by the bisexual race of *Dysmicoccus brevipes* Cockerell (1893). In West Malaysia. **Malaysian Pineapple**, v. 2, p. 15-21, 1972.

MATIELLO, J. B.; COSTA, F. F. Surto de cochonilha da roseta do cafeeiro no Espírito Santo. **Revista Brasileira de Tecnologia Cafeeira**, v.6, n. 17, p. 32, 2010.

MATIELO, J. B.; PAULINO, A. J.; ALMEIDA, S. R.; PAIVA, J. E. P.; FERREIRA, I. B. **Perdas graves na produção de café conilon no Espírito Santo**. Radares Técnicos-Folha Prócafé. Amapá, 2016. Disponível em: <http://www.cafepoint.com.br>.

MAU, R. F. L; J. MARTIN. 2007. *Dysmicoccus brevipes* (Cockerell). Dep. of Entomology. University of Hawaii. Honolulu. EUA. Consultado marz. 2009. Disponível em: http://www.extento.hawaii.edu/kbase/crop/Type/d_brevip.htm.

MENEZES, E. L. A. **Inseticidas botânicos**: seus princípios ativos, modo de ação e uso agrícola. Seropédica: Embrapa Agrobiologia, 2005. 53 p. (Documentos da Embrapa, 205).

MILLER, D. R. Selected scale insect groups (HEMIPTERA: COCCOIDEA) in the Southern region of the United States. **Florida Entomologist**, v. 92, p. 482-501, 2005.

MINISTÉRIO DA AGRICULTURA. **Culturas**: café. Disponível em: <http://www.agricultura.gov.br/vegetal/culturas/cafe/saiba-mais>. Acesso em: 08 jan. 2016.

MUTHUKRISHNAN, J.; PUSHPALATHA, E. Effects of plant extracts on fecundity and fertility of mosquitoes. **Journal of Applied Entomology**, 125:31-35, 2001.

PEREIRA, A. C. R. L.; OLIVEIRA, J. V.; GONDIM Jr, M. G. C., CÂMARA, C. A. G. Atividade inseticida de óleos essenciais e fixos sobre *Callosobruchus maculatus* (Fabr.,1775) (Coleoptera: Bruchidae) em grãos de caupi *Vigna unguiculata* (L.) Walp. **Revista Ciência e Agrotecnologia**, v. 32, n. 3, p. 717-724, 2008.

RAI, M.; M. C. CARPINELLA. **Naturally occurring bioactive compounds**. Oxford, Elsevier, 514 p, 2006.

REGANULT-ROGER, C.; VINCENT, C.; ARNASON, J. T. Essential oils in insect control: low-risk products in a high-stakes world. **Annual Review of Entomology**. 57: 405-424, 2012.

REGNAULT-ROGER, C. The potential of botanical essential oils for insects pest control. **Integrated Pest Management Reviews**, 2:25-34, 1997.

REGNAULT-ROGER, C.; PHILOGÈNE, B. J. R. Past and current prospects for the use of botanicals and plant allelochemicals in integrated pest management. Lisse, **Pharmaceutical Biology**, v. 46, n. 1, p. 41-52. 2008.

RESTELLO, R. M.; MENEGATT, C.; MOSSI, A. J. Efeito do óleo essencial de *Tagetes pátula* L. (Asteraceae) sobre *Sitophilus zeamais* Motschulsky (Coleoptera, Curculionidae). **Revista Brasileira de Entomologia**, v. 53, n. 2, p. 304-307, 2009.

SADEK, M. M. Antifeedant and toxic activity of *Adhatoda vasica* leaf extract against *Spodoptera littoralis* (Lep., Noctuidae). **Journal of Applied Entomology**, 127:396-404, 2003.

SAITO, M. L.; SCRAMIN, S. **Plantas aromáticas e seu uso na agricultura**. Jaguariúna: EMBRAPA, Embrapa Meio Ambiente, 48p. (Documento, 20), 2000.

SANTA CECILIA, L. V. C. **Efeitos de fatores climáticos e da época de plantio do abacaxizeiro sobre a cochonilha pulverulenta *Dysmicoccus brevipes* (Cockerell, 1893) (Homoptera: Pseudococcidae) nas principais regiões produtoras do Estado de Minas Gerais**. 1990. 114f. Dissertação (Mestrado em Entomologia). Escola Superior de Agricultura de Lavras, Lavras, 1990.

SANTA-CECÍLIA, L. V.; SOUZA, J. C.; REIS, P. R. **Novas constatações da cochonilha-da-raiz *Dysmicoccus texensis* em lavouras de café no Sul de Minas, em Minas Gerais**. Lavras: EPAMIG, 2000. 2p. (EPAMIG, Circular Técnica, 130).

SANTA-CECÍLIA, L. V. C.; SOUZA, B. Controle biológico de cochonilhas-farinhas em cultivos protegidos. **Informe Agropecuário**, Belo Horizonte, v.26, n.225, p.24-30, 2005.

SANTA-CECÍLIA, L. V. C.; SOUZA, B.; SOUZA, J. C. de.; PRADO, E.; MOINO JUNIOR, A.; FORNAZIER, M. J.; CARVALHO, G. A. **Cochonilhas – farinhas em cafeeiros**: bioecologia, danos e métodos de controle. Belo Horizonte: EPAMIG. 48p. (Boletim Técnico, 79), 2007.

SANTA-CECÍLIA, L. V. C.; SANTA-CECÍLIA, F. V.; PEDROSO, E. do C.; SOUSA, M. V. de. ABREU, F. A.; OLIVEIRA, D. F.; CARVALHO, G. A. Extratos de plantas no controle de *Planococcus citri* (Risso, 1813) (Hemiptera: Pseudococcidae) em cafeeiro. **Coffee Science**, v. 5, n. 3, p. 283-293, 2010.

SILVA, A. G. A.; GONÇALVES, C. R.; GALVÃO, R. M.; GONÇALVES, A. J. L.; GOMES, J.; SILVA, M. N.; SIMONI, L. **Quarto catálogo dos insetos que vivem nas plantas do Brasil, seus parasitas e predadores**. Rio de Janeiro: Ministério de Agricultura - Serviço da Defesa Sanitária Vegetal, 1968.

SOUSA, A. H.; MARACAJÁ, P. B.; SILVA, R. M. A.; MOURA, A. M. N.; ANDRADE, W. G. Bioactivity of vegetal powders against *Callosobruchus maculatus* (Coleoptera: Bruchidae) in caupi bean and seed physiological analysis. **Revista de Biologia e Ciências da Terra**, v. 5, n. 2, 2005.

SOUZA, J. C.; RIBEIRO, J. A.; SILVA, R. A.; TOLEDO, M. A.; CARVALHO, T. A. F.; RIBEIRO, D. P. **Cochonilha-da-raiz: controle com inseticida neonicotinoides**. Belo Horizonte – MG: EPAMIG, 2011. 5p. (EPAMIG, Circular Técnica, 123).

SU, H. C. F.; SPEIRS, R. D.; MAHANY, P. G. Toxicity of citrus oils to several stored product insects: laboratory evaluation. **Journal of Economic Entomology**, v.65, n.5, p.1433-1436, Oct. 1972.

SU, H. C. F. Toxicity of a chemical component of lemon oil to cowpea weevils. **Journal of Georgia Entomological Society**, v.11, n.3, p.279-301, 1976.

THOMAZINI, A. P. B. W.; VENDRAMIM, J. D.; LOPES, M. T. R. Extratos aquosos de *Trichilia pallida* e a traça-do-tomateiro. **Scientia Agrícola**, v. 57, n. 1, p. 13-17, 2000.

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

WALLING, L.L. **The myriad plant responses to herbivores**. J. Pl. Growth Regul 19: 195-216, 2000.

WHEELER, D. A.; ISMAN, M. B. Antifeedant and toxic activity of *Trichilia Americana* extract against the larva of *Spodoptera litura*. **Entomology Experimental Applied**, 98:9-16, 2001.

ZHAO, B.; GRANT, G. G.; LANGEVIN, D.; MACDONALD, L. Detering and inhibiting effects of quinolizidine alkaloids on spruce budworm (Lepidoptera: Tortricidae) oviposition. **Environmental of Entomology**, 27:984-992, 1998.

2 CAPÍTULO II

CARACTERIZAÇÃO QUÍMICA E ATIVIDADE INSETICIDA DE ÓLEOS ESSENCIAIS CÍTRICOS SOBRE *Dysmicoccus brevipes* (COCKERELL, 1893) (HEMIPTERA: PSEUDOCOCCIDAE)

RESUMO

Os óleos essenciais representam uma alternativa para o controle de pragas, uma vez que são menos agressivos ao meio ambiente, podem sofrer biodegradação e possuem vários modos de ação. O objetivo deste trabalho foi determinar a composição química e avaliar o efeito inseticida dos óleos essenciais comerciais de laranja doce (*Citrus sinensis*), laranja amarga (*Citrus aurantium*), limão siciliano (*Citrus limon*) e composto D-limoneno sobre *D. brevipes*. Os óleos essenciais foram analisados por cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massas (CG-EM) e cromatografia gasosa acoplada a detector de ionização de chamas (CG-DIC). Dos óleos essenciais avaliados, foram utilizados para a estimativa da CL₅₀ e CL₉₀ os óleos de laranja doce e limão siciliano, pois apresentaram maior percentual de mortalidade. A mortalidade foi avaliada após a pulverização do óleo de laranja doce nas concentrações 1,4; 1,9; 2,7; 3,7; e 5,2% (v v⁻¹) e limão siciliano 1,4; 1,9; 3,7; 5,2 e 7,2% (v v⁻¹) sobre a *D. brevipes*. Os constituintes majoritários do óleo de laranja doce foram o limoneno (83,33%), linalol (8,91%). E para o óleo de limão siciliano foram o limoneno (59,78%); β-pineno (14,71%); γ-terpineno (10,19%). Os resultados demonstraram que o óleo de laranja doce teve um percentual de mortalidade de 94,11% e o limão siciliano foi de 98,68%. As CL₅₀ e CL₉₀ para o óleo de laranja doce foram de 2,21% e 3,55% e para o óleo de limão siciliano foram de 0,72% e 2,91%, respectivamente.

Palavras- chave: Cochonilha-branca, componentes químicos, controle.

ABSTRACT

Essential oils are an alternative for the control of pests, since they are less harmful to the environment, can undergo biodegradation and have different modes of action, which increases the action spectrum at the same time acts selectively. The objective of this study was to determine the chemical composition and evaluate the effect of the commercial essential oils of sweet orange (*Citrus sinensis*), bitter orange (*Citrus aurantium*), Sicilian lemon (*Citrus limon*), and D-limonene on *Dysmicoccus brevipes*. The essential oils were analyzed by gas chromatography-mass spectrometry. Essential oils tested were used for the estimate LC_{50} and LC_{90} the sweet orange and Sicilian lemon oils, as a higher percentage of mortality. Mortality was assessed after sweet orange oil spray in the concentrations 1.4; 1.9; 2.7; 3.7 and 5.2% (v v⁻¹) and Sicilian lemon 1.4; 1.9; 3.7; 5.2 and 7.2% on insects (v v⁻¹). The major constituents of sweet orange oil were d-limonene (83.33%), linalool (8.91%), myrcene (3.60%), alpha-pinene (1.08%) and sabinene (1.02%). And the sicilian lemon oil were limonene (59.78%); beta-pinene (14.71%); gamma-terpinene (10.19%); alpha-pinene (2.90%); geranial (2.18%); beta-bisabolene (1.66%); neral (1.45%); alpha-trans-bergamoteno(1.01%). The results showed that the sweet orange oil had a percentage of mortality of 94.11% and the lemon was 98.69 %. The LC_{50} and LC_{90} for sweet orange oil were 2.21% and 3.55% and the lemon oil were 0.72% and 2.91%, respectively.

Keywords: Cochineal-white, chemicals, control.

2.1 INTRODUÇÃO

A cochonilha-branca, *Dysmicoccus brevipes*, (Cockerell, 1893) (Hemiptera: Pseudococcidae) é uma espécie polífaga e pode ser encontrada infestando raízes, folhas e frutos de diferentes culturas, com destaque para o cafeeiro e o abacaxizeiro (SANTA CECÍLIA et al., 2007).

Na cultura do cafeeiro vem ocasionando injúrias nas rosetas, desde a floração até a colheita, acarretando perdas na produção (SANTA CECÍLIA et al., 2007; FREITAS, 2016). No estado do Espírito Santo já ocorreu ataque da cochonilha em cafezais, ocasionando o secamento dos frutos e como consequência redução na produção (MATIELLO, 2010). Algumas características comportamentais dessa praga dificultam o controle, pois esta se abriga em locais protegidos nas plantas, além de apresentar o corpo revestido por uma secreção cerosa, o que dificulta o contato com os inseticidas durante a pulverização (SANTA-CECÍLIA et al., 2007).

Mesmo com essa dificuldade de controle, os produtores rurais têm usado inseticidas sintéticos, que são aplicados de forma inadequada, o que resulta em problemas ambientais, intoxicações ao homem do campo e ao consumidor final e também elevação nos custos de produção (THOMAZINI et al., 2000). Além de afetar as espécies-praga, bem como os organismos não-alvo (ROEL, 2001), de possibilitar a seleção de populações resistentes (GOODWIN et al. 1995, GONÇALVES 1997) e contaminarem as culturas com resíduos tóxicos (OLIVEIRA et al. 1999).

Diante da necessidade de utilizar métodos de controle alternativos ao uso de inseticidas sintéticos, o uso de óleos essenciais vem sendo cada vez mais estudado no controle de pragas (CARVALHO, 2008; BRITO et al., 2006; CAVALCANTI et al., 2010; HAN et al., 2010; ISMAN, et al., 2010). Óleos essenciais são constituídos por misturas complexas de compostos orgânicos voláteis produzidos como metabólitos secundários nas plantas, principalmente monoterpenos, sesquiterpenos, fenilpropanoides, ésteres e outras substâncias de baixo peso molecular (RAI; CARPINELLA, 2006). Esses metabólitos secundários possuem propriedades inseticidas, sendo tóxico para os insetos (WIESBROOK, 2004).

Neste contexto, o objetivo deste trabalho foi caracterizar quimicamente os óleos essenciais comerciais de laranja doce (*Citrus sinensis*), laranja amarga (*Citrus aurantium*), limão siciliano (*Citrus limon*) e o composto puro D-limoneno e avaliar atividade inseticida desses óleos sobre *D. brevipipes*.

2.2 MATERIAL E MÉTODOS

Os experimentos foram realizados nos laboratórios do Centro de Ciências Agrárias da Universidade Federal do Espírito Santo (CCA-UFES). A caracterização química dos compostos foi realizada na Central Analítica e os bioensaios para determinar o efeito inseticida foram realizados no Núcleo de Desenvolvimento Científico e Tecnológico em Manejo Fitossanitário de Pragas e Doenças (NUDEMAFI), no (CCA-UFES).

2.2.1 Obtenção e caracterização química dos compostos dos óleos essenciais

Para a execução do experimento foram utilizados óleos essenciais comerciais de laranja doce, laranja amarga, limão siciliano obtidos da casca dos frutos fornecidos pela empresa Ferquima Indústria e Comércio LTDA e o D-limoneno puro da Sigma Aldrich.

Os óleos essenciais foram analisados por cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massas (CG-EM), modelo QP-PLUS-2010 (SHIMADZU). A coluna cromatográfica utilizada foi do tipo capilar de sílica fundida com fase estacionária Rtx-5MS, de 30 m de comprimento e 0,25 mm de diâmetro interno, utilizando hélio como gás de arraste. As temperaturas foram de 220 °C no injetor e 300 °C no detector. A temperatura inicial da coluna foi de 60 °C, sendo programada para ter acréscimos de 3 °C a cada minuto, até atingir a temperatura máxima de 240 °C (COSTA et al., 2013).

A quantificação dos constituintes químicos dos óleos essenciais foi realizada por cromatografia em fase gasosa, em equipamento SHIMADZU GC-2010 Plus, equipado com detector de ionização de chama (CG-DIC). O gás de arraste utilizado foi o nitrogênio e coluna capilar Rtx-5MS, 30 m de comprimento e 0,25 mm de diâmetro

interno. As temperaturas do injetor e do detector foram fixadas em 240 e 250 °C, respectivamente. A programação de temperatura no forno foi a mesma utilizada nas análises por CGEM. A quantidade de 10 mg das amostras foi diluída em 1 mL de diclorometano, sendo injetado 1 µL da mistura (COSTA et al., 2013).

A identificação dos componentes foi feita pela comparação dos espectros de massas obtidos com os disponíveis no banco de dados da espectroteca Willey 330.000 e pelo índice de Kovats (IK) calculado para cada componente (ADAMS, 2007).

O percentual relativo de cada composto foi calculado através da razão entre a área integral de seus respectivos picos e a área total de todos os constituintes da amostra, cujos dados foram obtidos pelas análises realizadas no cromatógrafo a gás com detector de ionização de chama.

2.2.2 Criação de *Dysmicoccus brevipes* (Cockerell, 1893) (Hemiptera: Pseudococcidae)

Os insetos utilizados nos bioensaios foram provenientes de lavoura de café conilon (*Coffea canephora*) localizada no município de Alegre/ES (20°47'09" S e 41°31'28" W) e a criação foi mantida no Laboratório de Entomologia, do CCA-UFES, em sala climatizada a 25 ± 1 °C, umidade relativa (UR) de $70 \pm 10\%$ e fotofase de 12h, em abóbora-japonesa, conhecidos como Tetsukabuto que serviram de substrato alimentar, conforme adaptação da metodologia empregada por Sanches; Carvalho (2010).

2.2.3 Bioensaios

A metodologia empregada na realização dos experimentos foi baseada em Santa-Cecília et al., (2010), a qual utiliza discos foliares de 4,5 cm de diâmetro provenientes de folhas de café-conilon, dispostos em uma lâmina de 5 mm ágar-água a 3% em placas de Petri (9 cm de diâmetro). Cada disco foi infestado com 15 ninfas de segundo

instar de *D. brevipennis*, onde, para cada concentração foram realizadas 3 repetições e os bioensaios foram repetidos em três tempos para abranger 3 gerações da praga.

No primeiro bioensaio foram utilizadas soluções nas concentrações de 10% (v v⁻¹) do óleo de laranja doce, laranja amarga, limão siciliano e do composto D-limoneno seguindo a metodologia baseada em Santa-Cecília et al., (2010) para avaliar a mortalidade dos insetos.

Em um segundo bioensaio, os discos foliares contendo 15 insetos foram pulverizados com a solução dos óleos essenciais, utilizando-se 6 mL da solução/repetição, em torre de Potter com pressão de 15 lb/pol². As concentrações do óleo essencial de laranja doce utilizadas foram 1,4; 1,9; 2,7; 3,7; e 5,2% (v v⁻¹) e limão siciliano 1,4; 1,9; 3,7; 5,2 e 7,2% (v v⁻¹). As soluções dos óleos essenciais foram solubilizadas em Tween® 80 (0,05% v v⁻¹) e água destilada. Na testemunha, utilizou-se a água, Tween® 80 (0,05% v v⁻¹) como solvente. Os bioensaios foram conduzidos em câmara climatizada (25 ± 1 °C, umidade relativa (UR) de 70 ± 10% e fotofase de 12h). As avaliações foram realizadas com 24, 48 e 72 horas após a pulverização por meio de contagem de insetos mortos sob microscópio-estereoscópio.

2.2.4 Análise dos dados

No primeiro bioensaio, o experimento foi disposto em um delineamento inteiramente casualizado (DIC), sendo as médias comparadas pelo teste de Tukey (P≤0,05) e os valores de mortalidade corrigidos utilizando a fórmula de Abbott (1925). No segundo bioensaio os dados de mortalidade (número de insetos mortos) foram analisados por meio da regressão de Probit (FINNEY, 1952), estimando as concentrações letais (CL₅₀ e CL₉₀). A análise foi realizada usando o programa POLO-PC, determinando a concentração letal com intervalo de confiança de 95% (LEORA SOFTWARE, 1987).

2.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

2.3.1 Caracterização química dos compostos dos óleos essenciais

Os principais constituintes presentes no óleo de laranja doce foram o monoterpene hidrocarboneto: D-limoneno (83,33%) como constituinte majoritário, seguido do monoterpene oxigenado com linalol (8,91%), (Tabela 1).

Estudos com óleo essencial de laranja doce relatados na literatura assemelham-se aos dados apresentados no presente trabalho, pois revelam como principais constituintes majoritários o composto D-limoneno (89,55%), seguido do linalol (3,85%), β -mirceno (1,90%), α -pineno (0,33%) (ASSUNÇÃO, 2013). Em outro trabalho com citrus, foram encontrados no óleo essencial de laranja doce (*Citrus sinensis*) como componentes majoritários o D-limoneno (93,82%) e o mirceno (1,48%) (GOMES, 2011).

Amostras coletadas do óleo da casca de laranja doce em várias partes do mundo identificaram o D-limoneno como componente majoritário, tais como: Taiwan o óleo apresentou 68,51% (CHENG e CHOU, 1984), Vietnã 94,70% (MINH TU et al., 2002), Coreia 91,80% (SONG et al., 2006), Indonésia 95,60% (DHARMAWAN et al., 2007) e na Índia 84,20% (SHARMA et al., 2008), corroborando com o descrito neste trabalho. Em contrapartida, em uma amostra coletada no Quênia (NJOROGÉ et al., 2005), os compostos majoritários para o óleo de laranja doce foram o α -pineno, α -terpineno e β -pineno e sabineno. Em outra coleta realizada no Vietnã, o sabineno, foi constituído como composto majoritário (MINH TU et al., 2002). De acordo com Farias (1999), a composição química de óleos essenciais produzidos por plantas pode variar dentro de uma espécie em função da época e local de coleta, da forma de cultivo, condições climáticas, idade do material vegetal, período e condições de armazenamento.

Para o óleo essencial de limão siciliano foram encontrados como constituintes majoritários o composto D-limoneno (59,78%); β -pineno (14,71%) e o γ -terpineno (10,19%), (Tabela 1).

A composição química do óleo essencial de limão siciliano tem sido estudada por vários autores, dentre estes, Koketsu et al. (1983), que identificaram trinta e oito componentes diferentes nos óleos essenciais de limão siciliano, dos quais destacaram-se o D-limoneno (64,57%), β -pineno (12,52%), γ -terpineno (3,85%), α -pineno (2,70%). Esses dados corroboram com os obtidos no presente trabalho.

Os compostos majoritários presentes no óleo essencial de laranja amarga foram o D-limoneno (78,53%) e γ -terpineno (12,65%). Os resultados são similares aos encontrados por Machado et al. (2011) e Cury (2010), que também mostram como composto majoritário o limoneno da casca da laranja amarga (*Citrus aurantium*).

Tabela 1- Composição química dos óleos essenciais de laranja amarga (LA), laranja doce (LD) e limão siciliano (LS).

Constituintes	¹ KI cal	² KI tab	LA	LD	LS
MH*					
α-tujeno	929	931	0,70%	-	0,62%
α-Pineno	935	939	2,06%	1,08%	2,90%
β-Pineno	976	980	1,57%	-	14,71%
Mirceno	992	991	1,28%	3,60%	0,54%
α-Terpineno	1016	1018	0,35%	-	0,22%
D-limoneno	1033	1031	78,53%	83,33%	59,78%
γ-Terpineno	1061	1062	12,65%	-	10,19%
Terpinoleno	1089	1088	0,78%	-	0,66%
Canfeno	950	953	-	-	0,11%
cis-ocimeno	1042	1040	-	-	0,08%
trans-ocimeno	1052	1050	-	-	0,16%
Sabineno	974	980	-	1,02%	-
MO*					
trans-β-terpineol	1165	1163	-	0,14%	-
Terpin-4-ol	1176	1177	-	-	0,20%
α-terpineol	1189	1189	0,41%	-	0,58%
Linalool	1099	1098	0,35%	8,91%	0,26%
n-octanal	1000	1001	0,12%	-	0,12%
Cis- para-menth-2-em-1-ol	1121	1121	0,06%	-	-
Cis-limoneno-oxido	1134	1134	0,14%	0,18%	0,30%
trans-limoneno- oxido	1139	1139	-	0,16%	0,26%
Citronellal	1155	1153	-	0,08%	-
n-decanal	1204	1204	0,18%	0,62%	-
Geranial	1272	1270	-	0,21%	2,18
Neral	1242	1240	-	-	1,45%
SH*					
trans-cariofileno	1417	1418	0,18%	-	0,38%
β-bisaboleno	1507	1509	-	-	1,66%
α-Copaeno	1367	1376	-	0,10%	-
SO*					
n-decanal	1205	1204	0,18%	0,62%	-
Acetato de geranyl	1384	1383	0,39%	-	0,64%
trans-nerolidol	1563	1564	0,25%	-	-
n-octanol	1075	1070	-	0,57%	-
Acetato de Neryl	1366	1365	-	-	0,99%
α - trans-Bergamoteno	1435	1436	-	-	1,01%
MH/MO	-	-	97,92/1,26	89,03/10,3	89,97/5,35
SH/SO	-	-	0,18/0,64	0,10/0,57	2,04/2,64

IK índice de Kovats (Adams, 2007), ¹IK cal= calculado, ²IK tab= tabelado, Área %= porcentagem fornecida pelo GC/MS. * MH- hidrocarbonetos monoterpênicos, MO- monoterpênicos oxigenados, SH- hidrocarbonetos sesquiterpênicos, SO- sesquiterpênicos oxigenados.

Os monoterpenos presentes nos óleos essenciais, como o limoneno, β -pineno, mirceno, γ -terpineno possuem efeitos ovicida, larvicida, repelente, antialimentar e efeitos tóxicos em uma grande variedade de insetos (MAO e HENDERSON, 2010).

Os compostos limoneno e linalol são inseticidas de contato, são neurotóxicos, e possuem atividade fumigante contra insetos (BUSS; PARK-BROWN, 2002), Além disso, atuam dissolvendo os lipídios da cutícula do exoesqueleto, causando desidratação e morte dos insetos (MENEZES, 2005). O sabineno possui ação analgésica, anti-inflamatória e expectorante (ROSSATO, 2006; CHEMICALFORMULA, 2015). O β -pineno tem ação: antioxidante, antifúngica, antibacteriana, antiviral e anti-inflamatória (BUDAVARI et al., 1996). O β -pineno, assim como o mirceno, possuem atividade antiparasitária contra esquistossomose, sendo que o β -pineno ainda possui atividade inseticida contra piolho e contra o mosquito *Aedes aegypti*, sendo a dupla ligação exocíclica nesse composto a responsável por essa atividade (HENRIQUES; SIMÕES-PIRES; APEL, 2009). O γ -terpineno apresenta uma poderosa ação antioxidante. (BUDAVARI et al., 1996; ROMERO, 2015).

2.3.2 Bioensaios

De acordo com os testes preliminares na concentração de 10% (v v⁻¹), o óleo de limão siciliano, laranja doce e o D-limoneno foram os que apresentaram maior percentual de mortalidade, sendo 98,68%, 94,11% e 69,03%, respectivamente não diferindo entre si. O óleo com menor valor foi o de laranja amarga, o qual não diferiu do D-limoneno (Tabela 2).

Conforme os resultados encontrados no primeiro bioensaio os tratamentos laranja doce e limão siciliano foram selecionados para o segundo bioensaio em que foi feita a estimativa da CL₅₀ e CL₉₀, pois apresentaram mortalidade superior a 90% na concentração de 10% (v v⁻¹).

Tabela 2- Mortalidade média *Dysmicoccus brevipes* tratados com diferentes óleos essenciais de citros na concentração de 10% (v v⁻¹) (Temperatura 25 ± 1 °C, umidade relativa (UR) de 70 ± 10% e fotofase de 12h).

Tratamentos	Mortalidade corrigida ^{1,2}
Laranja doce	94,11 a
Laranja amarga	48,52 b
Limão siciliano	98,68 a
Limoneno	69,03 ab
Coefficiente de variação (%)	21,72

¹ Médias seguidas de mesma letra não diferem significativamente entre si pelo teste de Tukey em 5% de probabilidade. ² Mortalidade corrigida pela fórmula de Abbott.

Para o óleo essencial de laranja doce e de limão siciliano observou-se que as curvas de dose mortalidade se ajustaram ao modelo de Probit (Tabela 3). Os valores de inclinação das curvas de concentração resposta e concentrações letais (CL₅₀ e CL₉₀) calculados para o óleo essencial de laranja doce e limão siciliano sobre mortalidade de *D. brevipes* estão descritos na Tabela 3, com os respectivos intervalos de confiança.

Tabela 3- Inclinação das curvas de concentração resposta e concentração letal (CL₅₀ e CL₉₀) do óleo essencial de laranja doce e limão siciliano sobre mortalidade de *Dysmicoccus brevipes* (Temperatura 25 ± 1 °C, umidade relativa (UR) de 70 ± 10% e fotofase de 12h).

Óleos	n ¹	Inclinação ± EP ²	CL ₅₀ ³ (IC ⁴ a 95%) (ml/100ml)	CL ₉₀ ³ (IC ⁴ a 95%) (ml/100ml)	χ ²⁽⁵⁾	P
Laranja doce	795	6,22±0,51	2,21(2,12-2,30)	3,55(3,31-3,78)	5.75	> 0,05
Limão siciliano	635	2,11±0,36	0,72(0,47-0,97)	2,91(2,42-3,40)	2.77	> 0,05

¹Número de insetos usados no ensaio; ² Inclinação da curva ± erro padrão; ³ Concentração letal; ⁴ Intervalo de confiança das CL em 95% de probabilidade; ⁵Teste Chi-quadrado.

A inclinação da curva indica a variabilidade entre os indivíduos de uma população (KERNS; GAYLOR, 1992). Curvas com menor inclinação indicam maior variabilidade genética, sugerindo a presença de mais de um genótipo na população, ou seja, uma maior heterogeneidade de resposta ao tratamento aplicado, podendo resultar na resistência da população ao produto usado (SIQUEIRA et al., 2000). A inclinação da curva de mortalidade foi maior para o óleo de laranja doce em relação ao óleo de limão

siciliano, indicando maiores mortalidades em pequenas doses. A população de *D. brevipipes* foi considerada mais heterogênea ao óleo essencial de limão siciliano, quando comparada ao óleo essencial de laranja doce, e essa variabilidade entre indivíduos de uma mesma população é indicada pela inclinação da curva de concentração-mortalidade (KERNS; GAYLOR, 1992). Isto indica que possivelmente tenha ocorrido diversidade genética intrapopulacional ou diferentes pressões seletivas entre os indivíduos, o que contribui para um possível desenvolvimento de resistência dos insetos, no caso de uso contínuo desses óleos, e que pode explicar a variabilidade obtida nestes resultados.

O óleo de limão siciliano foi mais tóxico sobre *D. brevipipes* em relação ao óleo de laranja doce, por apresentar uma menor concentração letal (CL₅₀ de 0,72% e CL₉₀ de 2,91%) (Tabela 3).

Os óleos essenciais de espécies de *citrus* têm sido estudados devido aos efeitos inseticidas contra vários artrópodes, como por exemplo, *Spodoptera litura* (Lepidoptera: Noctuidae), *Myzus persicae* (Hemiptera: Aphididae), (ISMAN, 2000). Sendo considerados promissores para o manejo integrado de pragas, atuando por contato, ingestão, fumigação, ovicida e repelência (ALMEIDA et al., 2004; SOUSA et al., 2005; BRITO et al., 2006). Além disso, causam mortalidade, efeitos no crescimento, redução na oviposição e na emergência de adultos (BOEKE et al., 2004; KETOH et al., 2005).

Visando uma integração de métodos de controle, Born (2012) estudou o efeito residual de óleos essenciais de *citrus* sobre *Tetranychus urticae* (Acari: Tetranychidae) e o predador *Neoseiulus californicus* (Acari: Phytoseiidae), observou que a menor concentração que promoveu mortalidade acima de 95% foi de 50 $\mu\text{L mL}^{-1}$, para o óleo de tangerina cravo (96,0% de mortalidade). Os óleos de tangerina murcot e laranja mimo, na mesma concentração (130 $\mu\text{L mL}^{-1}$), causaram 96,0 e 98,0% de mortalidade dos ácaros, respectivamente. Por outro lado, o óleo de lima-da-pérsia promoveu 96% de mortalidade em 150 $\mu\text{L mL}^{-1}$. Os mesmos óleos de *citrus* apresentaram seletividade sobre o *N. californicus* por meio de efeito residual. As mortalidades promovidas pelos óleos de tangerina cravo, lima-da-pérsia, laranja mimo e tangerina murcot foram de 8,0%; 12,6%; 20,4% e 21,6%, respectivamente.

Grande parte das atividades inseticidas dos óleos essenciais de citros deve-se às substâncias chamadas limoneno e linalol que possuem ação de contato (degrada os lipídios da cutícula do exoesqueleto) e ação fumigante contra insetos (BUSS; PARK-BROWN, 2002; ROZMAN et al., 2007). Suspeita-se também que estas substâncias aumentem a atividade dos nervos sensoriais dos insetos, causando hiperexcitabilidade dos nervos motores que leva a convulsão e paralisia (MENEZES, 2005). Estas substâncias têm chamado a atenção devido a suas propriedades inseticidas, repelentes e fago-inibidoras (KETOH et. al., 2005; ESTRELA et. al., 2006).

Esses terpenoides são substâncias químicas que presentes nas plantas protegem contra o ataque de insetos (BERNAYS; CHAPPMAN, 1994). Vários terpenos como limoneno, β -pineno, α -pineno, mirceno, α -terpineno já mostraram toxicidade sobre vários insetos, como por exemplo, *Anopheles*; *Culex*; *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae) (NERIO; OLIVERO-VERBEL; STASHENKO, 2010).

No presente estudo foi avaliada a atividade inseticida do D-limoneno puro em 10%, já que esse composto é o majoritário dos óleos essenciais testados, contudo, foi constatado que a ação isolada deste terpeno apresentou uma toxicidade abaixo de 90% quando compara ao óleo essencial de laranja doce e limão siciliano, demonstrando que a bioatividade dos óleos essenciais normalmente é decorrente dos constituintes majoritários. No entanto, a bioatividade também pode ser influenciada pelos constituintes minoritários, podendo causar um sinergismo que promove um aumento da mortalidade (JIANG et al., 2009). As interações entre os constituintes majoritários e minoritários são complexas e podem afetar as características do óleo essencial, bem como os efeitos deletérios nos insetos. Esses resultados sugerem que os compostos químicos, independente da quantidade no óleo essencial, exercem um papel de extrema significância na atividade inseticida observada para cada óleo avaliado.

Como por exemplo, estudos realizados por Ribeiro (2014) demonstrando que os constituintes minoritários: linalol (0,1% no limão siciliano e 4,5% na tangerina murcot) e α -terpineol (0,3% na tangerina cravo e 5,2% no limão taiti) apresentaram toxicidade para mosca-branca por fumigação, similar da observada para os óleos de limão taiti e limão siciliano. Já sobre o ácaro rajado *Tetranychus urticae* (Acari: Tetranychidae), esses componentes minoritários apresentaram atividade cerca de 3,1 vezes mais

tóxico do que o óleo de tangerina cravo. Estes resultados estão de acordo com os observados por Jiang et al. (2009), para os constituintes minoritários do óleo de *Litsea pungens*, limoneno (7,5%), linalol (2,4%) e geranil (2,2%), que apresentaram toxicidade sobre *Trichoplusia ni* (Lepidoptera: Noctuidae), no mesmo nível do observado para o óleo de *L. punges*. O linalol é um importante componente químico aromático largamente usado como fixador de fragrâncias e tem efeitos analgésicos e ação inseticida que inibem o desenvolvimento de larvas do mosquito da dengue *Aedes aegypt* (Diptera: Culicidae) (BUDAVARI et. al., 1996).

Desta forma, no presente estudo notou-se que maiores percentuais de mortalidade sobre *D. brevipipes* foram encontrados para o óleo de limão siciliano (98,68%) e laranja doce (94,11%), o que pode ser atribuído às substâncias de atividade inseticida existentes nestes óleos que se encontram em menor quantidade e/ou também pelo efeito de contato desses produtos nos insetos (VILLAS BÔAS et al., 1997; ALMEIDA et al., 2005; VILLAS BÔAS; BRANCO, 2009).

Assim, infere-se que a atividade inseticida encontrada para o óleo de limão siciliano e laranja doce, possa ter ocorrido pelo fato dos compostos presentes nesses óleos essenciais agirem sinergisticamente, potencializando a atividade inseticida quando comparado com o D-limoneno puro. Estudos têm demonstrado que a complexidade de interações entre os componentes dos óleos essenciais pode agir de diferentes formas alterando a fisiologia dos insetos (KHALFI et al., 2008; RATTAN, 2010).

Por outro lado, os terpenos, como γ -terpineno, α -pineno e β -pineno, citados por Ruberto; Baratta (2000) e Zhang et. al. (2006), apresentam baixa atividade antioxidante. Sendo capazes de aumentar a atividade ao agir sinergisticamente com outros compostos (DORMAN et. al., 1995). Os mesmos terpenos mencionados acima foram encontrados no presente trabalho, sugerindo que os componentes dos óleos essenciais de limão siciliano e laranja doce avaliados, mesmo em concentrações mínimas, podem influenciar a atividade inseticida dos óleos, interagindo através de sinergismo.

Os terpenos abrangem uma grande variedade de substâncias de origem vegetal, com importância ecológica como defensivos de plantas, como por exemplo, os monoterpenos limoneno, β -pineno e o α -pineno que apresentam atividade inseticida

a diferentes insetos, inibindo a enzima acetilcolinesterase nos insetos (JUNIOR, 2003). Os três componentes citados também foram encontrados no óleo essencial de limão siciliano estudado, isto sugere que esses compostos tiveram participação na atividade inseticida desses óleos, inibindo a enzima acetilcolinesterase. Para obtenção de resultados mais conclusivos outros estudos devem ser conduzidos para verificar a eficiência desses componentes.

Os resultados do trabalho expostos até o momento sugerem que os óleos essenciais de limão siciliano e laranja doce apresentaram propriedades inseticidas, sendo o óleo de limão siciliano o mais tóxico sobre *D. brevipennis*, essa atividade é decorrente dos componentes químicos que constituem os óleos essenciais de *citrus* selecionados.

Com relação aos mecanismos de ação sobre os insetos, existem poucas informações para óleos essenciais. Mas, alguns estudos relatam que os monoterpenos podem apresentar atividade inseticida fumigante, de contato e ingestão sobre os insetos. Estas substâncias podem ser tóxicas pela via respiratória dos insetos, agindo rapidamente e interferindo nas funções fisiológicas (LEE et al., 2003), pela penetração na cutícula do inseto e por via digestiva (PRATES et al., 1998; KNAAK; FIUZA, 2010; CORREA; SALGADO, 2011). Uma das hipóteses cogitadas seria a inalação das substâncias químicas dos óleos através dos espiráculos dos insetos (YANG et al., 2005). Outra hipótese seria a de que monoterpenos podem atuar sobre outros sítios vulneráveis, como citocromo P450 (LEE et al., 2001). Além disso, sabe-se que alguns terpenoides agem como inibidores da acetilcolinesterase e, outros como substâncias neurotóxicas aos insetos; entretanto, o real mecanismo de ação destes óleos ainda necessita ser elucidado (TSUKAMOTO et al., 2005).

Estudos relataram que os insetos ao entrarem em contato com os compostos presentes nos óleos essenciais resultaram na intoxicação do sistema nervoso, promovendo agitação, hiperatividade e tremor seguido de paralisia (CHAPMAN, 1998). O sítio de ação dos óleos essenciais em insetos é o octopaminérgico, ou seja, a ação é sobre a octopamina em neurotransmissor excitatório associado ao neurônio dorsal mediano despareado (PRICE; BERRY, 2006). A ação sobre a octopamina pode aumentar o estado de excitação do organismo alvo provocando, ainda, disrupção comportamental (CHAPMAN, 1998; NGOH et al., 1998; ENAN, 2001; JUNIOR, 2003).

Desta forma, o óleo de limão siciliano (*Citrus limon*) e laranja doce (*Citrus sinensis*), apresentaram atividade inseticida contra *D. brevipipes*, o que pode ser atribuído pela ocorrência das interações entre os constituintes majoritários e minoritários, uma vez que os compostos químicos, independente da quantidade no óleo essencial, exercem um papel de extrema significância na atividade observada para o óleo.

2.4 CONCLUSÕES

O composto majoritário presente na composição química do óleo essencial de laranja doce e do limão siciliano foi o limoneno com 83,33% para o óleo de laranja doce e 59,78% para o óleo de limão siciliano.

Os valores de CL₅₀ e CL₉₀ para o óleo de laranja doce foram 2,21% e 3,55% respectivamente. Para o óleo de limão siciliano foi de 0,72% para CL₅₀ e 2,91% para CL₉₀.

O óleo de limão siciliano foi mais efetivo sobre *D. brevipipes* em relação ao óleo de laranja doce, por apresentar uma menor concentração letal.

A inclinação da curva de mortalidade foi maior para o óleo de laranja doce em relação ao óleo de limão siciliano, indicando maiores variações de mortalidades em pequenas doses.

Os resultados sugerem que as atividades inseticidas dos óleos testados foram decorrentes das interações entre os compostos majoritários e minoritários, potencializando sua atividade quando comparado com o D-limoneno puro.

Os óleos essenciais de laranja doce e limão siciliano usados nesta pesquisa são promissores no controle *D. brevipipes*.

2.5 REFERÊNCIAS

ABBOTT, W. S. A method for computing the effectiveness of an insecticide. **Journal of Economic Entomology**, v. 18, p. 265-267, 1925.

ADAMS, R. P. **Identification of essential oil components by gas chromatography mass spectroscopy**. 4. ed. Carol Stream: Allured Publishing Corp, 2007. 804 p.

ALMEIDA, S. A.; ALMEIDA, F. A. C.; SANTOS, N. R.; ARAÚJO, M. E. R.; RODRIGUES, J. P. Atividade inseticida de extratos vegetais sobre *Callosobruchus maculatus* (Fabr., 1775) (Coleoptera: Bruchidae). **Revista Brasileira de Agrociência**, v. 10, n. 1, p. 67-70, 2004.

ALMEIDA, F. A. C.; ALMEIDA, S. A.; SANTOS, N. R.; GOMES, J. P.; ARAÚJO, M. E. R. Efeito de extratos alcoólicos de plantas sobre o caruncho do feijão vigna (*Callosobruchus maculatus*). **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, v. 9, n. 4, p. 585-590, 2005.

ASSUNÇÃO, G. V. **Caracterização química e avaliação da atividade larvicida frente a *Aedes aegypti* do óleo essencial da espécie *Citrus sinensis* L. Osbeck (laranja doce)**. 93f. Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal do Maranhão, Programa de Pós- Graduação em Química, São Luís, 2013.

BERNAYS, E. A.; CHAPPMAN, R. F. **Host-plant selection by phytophagous insects**. New York: Chapman. 312p. 1994.

BOEKE, S. J.; BAUMGART, I. R.; LOON, J. J. A. van; HUIS, A. van; DICKE, M.; KOSSOU, D. K. Toxicity and repellence of African plants traditionally used for the protection of stored cowpea against *Callosobruchus maculatus*. **Journal of Stored Products Research**, Oxford, v. 40, n. 4, p. 423-438, 2004.

BORN, F. S. **Atividade de óleos essenciais de plantas das famílias Burseraceae, Lamiaceae, Rutaceae e Verbenaceae em *Tetranychus urticae* Koch e *Neoseiulus californicus* (McGregor)**. 2012. 101f. Tese (Doutorado em Entomologia Agrícola)- Universidade Federal Rural de Pernambuco, Recife, 2012.

BUDAVARI, S.; O'NEIL, M. J.; SMITH, A.; HECHELMAN, P. E.; KINNEARY, J. F. **The Merck index: an encyclopedia of chemical, drugs, and biologicals**. 12 ed. Whitehouse Station: Merck, 1741 p. 1996.

BUSS, E. A.; PARK-BROWN, S. G. **Natural products for insect pest management**. Gainesville: UF/IFAS, 2002. Disponível em: <<http://edis.ifas.ufl.edu/IN197>>. Acesso em: 06 agosto 2015.

BRITO, J. P.; OLIVEIRA, J. E. M.; BORTOLI, S. A. Toxicidade de óleos essenciais de *Eucalyptus* spp. sobre *Callosobruchus maculatus* (Fabr., 1775) (Coleoptera: Bruchidae). **Revista de Biologia e Ciência da Terra**, v. 6, n. 1, p. 96-103, 2006.

CARVALHO, T. M. B. **Avaliação de extratos vegetais no controle de *Brevipalpus phoenicis* (Gejsskes, 1939) (Acari: Tenuipalpidae) e *Oligonychus ilicis* (McGregor, 1917) (Acari: Tetranychidae) em cafeeiro**. 2008. 101 f. Dissertação (Mestrado em Entomologia) – Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2008.

CAVALCANTI, S. C. H.; NICULAU, E. S.; BLANK, A. F.; CÂMARA, C. A. G.; ARAÚJO, I. N.; ALVES, P. B. Composition and acaricidal activity of *Lippia sidoides* essential oil

against twospotted spider mite (*Tetranychus urticae* Koch). **Bioresource Technology**, v. 101, n. 2, p. 829-832, 2010.

CHAPMAN, R. F. **The insect: Structure and Function** 4 ed. Cambridge: U. K. 771p. 1998.

CORREA, J. C. R.; SALGADO, H. R. N. Atividade inseticida das plantas e aplicações: revisão. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v.13, p. 500-506, 2011.

COSTA, E. L. N.; SILVA, R. F. P.; FIUZA, L. M. Efeitos, aplicações e limitações de extratos de plantas inseticidas. **Acta Biologica Leopoldensia**, v. 26, n. 2, p. 173-185, 2004.

COSTA, A. V.; PINHEIRO, P. F.; RONDELLI, V. M.; QUEIROZ, V. T.; TULER, A. C.; BRITO, K. B.; STINGUEL, P.; PRATISSOLI, D. *Cymbopogon citratus* (Poaceae) essential oil on *Frankliniella schultzei* (Thysanoptera: Thripidae) AND *Myzus persicae* (Hemiptera: Aphididae). **Bioscience Journal**, v. 29, n.6, p. 1840-1847, 2013.

CHEMICALFORMULA. **Fórmulas químicas e propriedades**. Disponível em: <<http://pt.chemical5.com/chemistry>>. Acesso em: 05 out. 2015.

CHENG, Y.; CHOU, C. Composition of peel essential oils from eight citrus species. **Journal of the Chinese Chemical Society**, v. 31, n. 1, p. 93-6, 1984.

CURY, T. C. **Avaliação da atividade ansiolítica e antidepressiva do óleo essencial da *Citrus aurantium* L. administrado por via inalatória em camundongos**. 36f. Trabalho de conclusão de curso (bacharelado - Ciências Biomédicas) - Universidade Estadual Paulista, Botucatu, 2010.

DORMAN, D. H. J.; DEANS, S. G.; NOBLE, R. C. Evaluation in vitro of plant essential oils as natural antioxidants. **Journal of Essential Oil Research**, v. 7, n. 6, p. 645-651, 1995.

DHARMAWAN, J.; KASAPIS, S.; CURRAN, P. Characterization of volatile compounds in selected citrus fruits from Asia - part II: peel oil. **Journal of Essential Oil Research**, v. 20, n. 1, p. 21-24, 2007.

ENAN, E. Insecticidal Activity of Essential oils: Octopaminergico Sites of Action. **Comparative Biochemistry and Physiology**. v.130, p. 325-337. 2001.

ESTRELA, J. L. V.; FAZOLIN, M; CATANI, V. Toxicidade de óleos essenciais de *Piper aduncum* e *Piper hispidinervum* em *Sitophilus zeamais*. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 41, n.2, p.217-222, 2006.

FARIA, M. R. **“Farmacologia da Planta ao Medicamento: Avaliação da Qualidade de Matérias Primas Vegetais”**. Porto Alegre: Editora da UFSC e UFRGS, p.821, 1999.

FINNEY, D. J. **Probit Analysis**. Cambridge, England: Cambridge University Press. Ed. (1952).

FREITAS, J. L. P. Portal Dia de Campo: Sanidade vegetal- **Controle da cochonilha-da-roseta no café Conilon**. Disponível em: <<http://www.diadecampo.com.br/zpublisher/materias/Materia.asp?id=22747&secao=Sanidade%20Vegetal>>. Acesso em: 12 jan. 2016.

GOODWIN, S., G. HERRON, N. GOUGIL, T. WELLHAM, J. ROPHAIL & R. PARKER. Relationship between insecticide-acaricide resistance and field control in *Tetranychus urticae* (Acari: Tetranychidae) infesting roses. **Journal Economic Entomology**, v. 88, p. 1106-1112, 1995.

GOMES, M. S. **Caracterização química e atividade antifúngica dos óleos essenciais de cinco espécies do gênero Citrus**. 98f. Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal de Lavras, Lavras- MG, 2011.

GONÇALVES, P. A.. Eficácia de inseticidas sintéticos e naturais no controle de tripses em cebola. **Horticultura Brasileira**, v. 15, p. 32-34, 1997.

HAN, J.; CHOI, B. R.; LEE, S. G.; KIM, S. I.; AHN, Y. J. Toxicity of plant essential oils to acaricide-susceptible and -resistant *Tetranychus urticae* (Acari: Tetranychidae) and *Neoseiulus californicus* (Acari: Phytoseiidae). **Journal of Economic Entomology**, v. 103, n. 4, p. 1293-1298, 2010.

HENRIQUES, A. T.; SIMÕES-PIRES, C. A.; APEL, M. A. In: YUNES; FILHO, 2009. **Óleos essenciais: importância e perspectivas terapêuticas**. 2.ed. Ijtaí: Editora Univali, 2009, p. 221-250.

ISMAN, M. B. **Plant essential oils for pest and disease management**. Crop Prot. 19: 603-608, 2000.

ISMAN, M. B. Botanical insecticides, deterrents, and repellents in modern agriculture and an increasingly regulated world. **Annual Review Entomology**, v. 51, p. 45-66, 2006.

ISMAN, M. B., MIRESMALLI, S.; MACHIAL, C. M. Commercial opportunities for pesticides based on plant essential oils in agriculture, industry and consumer products. **Phytochemistry Reviews**, v. 9, p. 1-8, 2010.

JIANG, Z., AKHTAR, Y.; BRADBURY, R.; ZHANG, X.; ISMAN, M. B. Comparative toxicity of essential oils of *Litsea pungens* and *Litsea cubeba* and blends of their major constituents against the cabbage looper, *Trichoplusia ni*. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 57, p. 4833-4837, 2009.

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

KHALFI, O.; SAHRAOUI, N.; BENTAHAR, F.; BOUTEKEDJIRET, C. Chemical composition and insecticidal properties of *Origanum glandulosum* (Desf.) essential oil from Algeria. **Science of Food and Agriculture**, v. 88, p. 1562-1566, 2008.

KERNS, D. L.; GAYLOR, M. J. Insecticide resistance in field populations of the cotton aphid (Hemiptera: Aphididae). **Journal of Economic Entomology**, v. 85, p. 1-8, 1992.

KETOH, G. K.; KOUMAGLO, H. K.; GLITHO, I. A. Inhibition of *Callosobruchus maculatus* (F.) (Coleoptera: Bruchidae) development with essential oil extracted from *Cymbopogon schoenanthus* L. Spreng. (Poaceae), and the wasp *Dinarmus basalis* (Rondani) (Hymenoptera: Pteromalidae). **Journal of Stored Products Research**, v. 41, n. 4, p. 363-371, 2005.

KOKETSU, M.; MAGALHÃES, M. T.; WILBERG, V. C.; DONALISTO, M. G. R. **Óleos Essenciais de Frutos Cítricos Cultivados no Brasil**. Boletim de Pesquisa. Embrapa. Rio de Janeiro, vol. 7, 21p. 1983.

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

LEE, S.; PETERSON, C. J.; COATS, J. R. Fumigation toxicity of monoterpenoids to several stored product insects. **Journal of Stored Products Research**, v. 39, n.1, p. 77-85, 2003.

LEE, S.E.; LEE, B. H.; CHOI, W. S.; PARK, B. S.; KIM, J. G.; CAMPBELL, B. C. Fumigant toxicity of volatile natural products from Korean spices and medicinal plants towards the rice weevil, *Sitophilus oryzae* (L.). **Pest Management Science**, v.57, p. 548–553, 2001.

LEORA SOFTWARE. **POLO-PC**: An user's guide to probit or logit analysis. Berkeley, CA, USA: Leora Software, 22p. 1987.

LIM, W. H. Wilting and green spotting of pineapple by the bisexual race of *Dysmicoccus brevipes* Ckll. In West Malaysia. **Malaysian Pineapple**, v. 2, p. 15-21, 1972.

MACHADO, B. F. M. T.; BARBOSA, L. N.; PROBST, I. S.; JUNIOR, A. F. **Ação antimicrobiana de óleos essenciais de uso em terapias naturais**. 112f. Dissertação (Mestrado)- Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho, Botucatu, Departamento de Microbiologia e Imunologia, Instituto de Biociências, São Paulo, 2011.

MAO, L.; HENDERSON, G. Evaluation of potential luse of nootkatone against maize weevil (*Sitophilus zeamais* Motschulsky) and riceweevil [*S. oryzae* (L.)] (Coleoptera:Curculionidae). **Journal of Stored Products Research**, v.46, p.129-132, 2010.

MATIELLO, J. B.; COSTA, F. F. Surto de cochonilha da roseta do cafeeiro no Espírito Santo. **Revista Brasileira de tecnologia Cafeeira**, v.6, n. 17, p. 32, 2010.

MENEZES, E. L. A. **Inseticidas botânicos**: seus princípios ativos, modo de ação e uso agrícola. Seropédica: Embrapa Agrobiologia, 53 p. (Documentos da Embrapa, 205), 2005.

- MILLER, D. R. Selected scale insect groups (HEMIPTERA: COCCOIDEA) in the Southern region of the United States. **Florida Entomologist**, v. 92, p. 482-501, 2005.
- MINH TU, N. T.; THANH, L. X.; UNE, A.; UKEDA, H.; SAWAMURA, M. Volatile constituents of Vietnamese pummelo, orange, tangerine and lime peel oils. **Flavour and Fragrance Journal**, v. 17, n. 3, p. 169-174, 2002.
- MOTAZEDIAN, N.; RAVAN, S.; BANDANI, A. R. Toxicity and repellency effects of three essential oils against *Tetranychus urticae* Koch (Acari: Tetranychidae). **Journal of Agricultural Science and Technology**, v. 14, p. 275-284, 2012.
- NERIO, L. S.; OLIVERO-VERBEL, J.; STASHENKO, E. Repellent activity of essential oils: A review. **Bioresource Technology**, v. 101, p. 372-378, 2010.
- NGOH, S. P.; CHOO, L.; PANG, F. Y.; HUANG, Y.; KINI, M.R.; HO, S. H. Insecticidal and repellent properties of nine volatile constituents of essential oils against the American cockroach, *Periplaneta americana* (L.). **Pesticide Science**, v. 54, n. 3, p.261-268, 1998.
- NJOROGE, S. M.; KOAZE, H.; KARANJA, P. N.; SAWAMURA, M. Essential oil constituents of three varieties of Kenyan sweet oranges (*Citrus sinensis*). **Flavour and Fragrance Journal**, v. 20, n. 1, p. 80-85, 2005.
- PRATES, H. T.; SANTOS, J. P.; WAQUIL, J. M.; FABRIS, J. D.; OLIVEIRA, A. B.; FOSTER, J. E. Insecticidal activity of monoterpenes against *Ryzopertha dominica* (F.) and *Tribolium castaneum* (Herbst). **Journal of Stored Products Research**, v.34, p. 243-249, 1998.
- PRICE, D. N.; BERRY, M. S. Comparison of effects of octopamine and insecticidal essential oils on activity in the nerve cord, foregut, and dorsal unpaired median neurons of cockroaches. **Journal of Insect Physiology**, v. 52, n.3, p. 309-319, 2006.
- RAI, M. M.; CARPINELLA, C. **Naturally occurring bioactive compounds**. Oxford, Elsevier, 514 p, 2006.
- RATTAN, R. S. Mechanism of action of insecticidal secondary metabolites of plant origin. **Crop protection**, v. 29, p. 913-920, 2010.
- ROEL, A. R. Utilização de plantas com propriedades inseticidas: uma contribuição para o desenvolvimento rural sustentável. **Revista Internacional de Desenvolvimento Local**, v.1, p. 43-50. 2001.
- ROMERO, A. L.; ROMERO, R. B.; OLIVEIRA, A. L.; OLIVEIRA, R. R.; VIDA, J. B. **Efeito do óleo essencial de *Thymus vulgaris* no crescimento micelial e na germinação de esporos de *Corynespora cassiicola***. Disponível em: <http://www.grupointegrado.br/conccepar2011/?action=anais_resumo&id=641>. Acesso em: 05 Outubro de 2015.

ROZMAN, V.; KALINOVIC, I.; KORUNIC, Z. Toxicity of naturally occurring compounds of Lamiaceae and Lauraceae to three stored-products insects. **Journal of Stored Products Research**, v.43, p.349-355, 2007.

ROSSATO, M.; SANTOS, A. C. A.; SERAFINI, L. A.; AGOSTINI, F.; PANSERA, M. R.; WASUM, R.; BARBIERI, R. L. Avaliação do óleo essencial de *alloysia sellowii* (briquet) moldenke (verbenaceae) do sul do brasil. **Química Nova**, V. 29, N. 2, p. 200-202, 2006.

RUBERTO, G.; BARATTA, M. T. Antioxidant activity of selected essential oil components in two lipid model systems. **Food Chemistry**, v. 69, n. 2, p. 167-174, 2000.

OLIVEIRA, J. V., VENDRAMIN, J. D.; HADDAD, M. L. Bioatividade de pós vegetais sobre o caruncho do feijão em grãos armazenados. **Revista de Agricultura**, v. 74, p. 217-227, 1999.

SAITO, M. L.; SCRAMIN, S. **Plantas aromáticas e seu uso na agricultura**. Jaguariúna: EMBRAPA, Embrapa Meio Ambiente, 48p. (Documento, 20), 2000.

SHARMA, N.; TRIPATHI, A. Effects of *Citrus sinensis* (L.) Osbeck epicarp essential oil on growth and morphogenesis of *Aspergillus niger* (L.) Van Tieghem. **Microbiological Research**, v.163, p. 337-344, 2008.

SANCHES, N. F.; CARVALHO, R. S. **Procedimentos para manejo da criação e multiplicação do predador exótico *Cryptolaemus montrouzieri***. Embrapa Mandioca e Fruticultura, Cruz das Almas, p. 1-5, 2010. (Circular Técnica, 99).

SANTA-CECÍLIA, L. V. C.; SOUZA, B.; SOUZA, J. C.; PRADO, E.; MOINO JUNIOR, A.; FORNAZIER, M. J.; CARVALHO, G. A. **Cochonilhas – farinhentas em cafeeiros: bioecologia, danos e métodos de controle**. Belo Horizonte: EPAMIG. 48p. (Boletim Técnico, 79), 2007.

SANTA-CECÍLIA, L. V. C.; SANTA-CECÍLIA, F. V.; PEDROSO, E. C.; SOUSA, M. V. ABREU, F. A.; OLIVEIRA, D. F.; CARVALHO, G. A. Extratos de plantas no controle de *Planococcus citri* (Risso, 1813) (Hemiptera: Pseudococcidae) em cafeeiro. **Coffee Science**, v. 5, n. 3, p. 283-293, 2010.

SIQUEIRA, H. A. A.; GUEDES, R. N. C.; PIKANÇO, M. C. Insecticide resistance in populations of *Tuta absoluta* (Lepdoptera: Gelechiidae). **Agricultural and Forest Entomology**, v. 2, n. 2, p. 147-153, 2000.

SOUZA, A. H.; MARACAJÁ, P. B.; SILVA, R. M. A.; MOURA, A. M. N.; ANDRADE, W. G. Bioactivity of vegetal powders against *Callosobruchus maculatus* (Coleoptera: Bruchidae) in caupi bean and seed physiological analysis. **Revista de Biologia e Ciências da Terra**, v. 5, n. 2, 2005.

SONG, H. SONG, H. S.; LAN PHI, N. T.; PARK, Y. H.; SAWAMURA, M. Volatile profiles in cold-pressed peel oil from Korean and Japanese Shiranui (*Citrus unshiu*

- Marcov.) (*C. sinensis* Osbeck) (*C. reticulata* Blanco). **Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry**, v. 70, n. 3, p. 737-739, 2006.
- THOMAZINI, A. P. B. W.; VENDRAMIM, J. D.; LOPES, M. T. R. Extratos aquosos de *Trichilia pallida* e a traca-do-tomateiro. **Scientia Agrícola**, v. 57, n. 1, p. 13-17, 2000.
- TSUKAMOTO, T.; ISHIKAWA, Y.; MIYAZAWA, M. Larvicidal and adulticidal activity of alkylphthalide derivatives from rhizome of *Cnidium officinale* against *Drosophila melanogaster*. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.53, p. 5549- 5553, 2005.
- VILLAS BÔAS, G. L.; BRANCO, M. C. **Manejo integrado da mosca-branca (B. tabaci biótipo B) em sistema de produção integrada de tomate indústria (PITI)**. Brasília: Embrapa Hortaliças, 2009. 16 p. (Circular Técnica, 70).
- VILLAS BÔAS, G. L.; FRANÇA, F.; ÁVILA, A. C. de; BEZERRA, I. C. **Manejo integrado da mosca-branca *Bemisia argentifolii***. Brasília: Embrapa Hortaliças, 1997. 12p. (Circular Técnica, 9).
- WIESBROOK, M. L. Natural indeed: Are natural insecticides safer and better than conventional insecticides? **Illinois Pesticide Review**, v.17, n. 3, p.333-370, 2004.
- YANG, P.; YAJUN, M. A.; ZHENG, S. Adulticidal activity of five essential oils against *Culex pipiens quinquefasciatus*. **Journal of Pesticide Science**, v.30, p.84-89, 2005.
- ZHANG, H.; CHEN, F.; WAN, X.; YAO, H. Y. Evaluation of antioxidant activity of parsley (*Petroselinum crispum*) essential oil and identification of its antioxidant constituents. **Food Research International, Amsterdam**, v. 39, n. 8, p. 833-839, 2006.

3 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Diante dos resultados alcançados e da necessidade de novos produtos naturais com atividade inseticida que ao mesmo tempo ofereçam segurança para os seres humanos e ao ambiente, os óleos essenciais de laranja doce (*Citrus sinensis*) e limão siciliano (*Citrus limon*) apresentam-se como promissores agentes bioinseticidas no controle de *D. brevipēs*, promovendo mortalidade das ninfas de segundo instar em concentrações baixas, viabilizando assim sua utilização no Manejo Integrado de Pragas. Portanto, outros estudos devem ser conduzidos para entender melhor o mecanismo de ação dos componentes químicos dos óleos na biologia do inseto, bem como realizar testes com os compostos puros presentes dos referidos óleos, para confirmar quais compostos são os responsáveis pela maior atividade inseticida dos óleos essenciais.