

**INSTITUTO FEDERAL DE EDUCAÇÃO, CIÊNCIA E
TECNOLOGIA DO SERTÃO PERNAMBUCANO
CAMPUS PETROLINA ZONA RURAL**

CURSO DE BACHARELADO EM AGRONOMIA

**BIOATIVIDADE DO ÓLEO ESSENCIAL DE FEIJÃO-BRAVO
(*Cynophalla hastata*) FRENTE À MOSCA-DA-FRUTA (*Ceratitis
capitata*) E SUA TOXICIDADE EM *Artemia salina***

EMANUELA BEATRIZ SOUZA SILVA PEREIRA

**PETROLINA, PE
2022**

EMANUELA BEATRIZ SOUZA SILVA PEREIRA

**BIOATIVIDADE DO ÓLEO ESSENCIAL DE FEIJÃO-BRAVO
(*Cynophalla hastata*) FRENTE À MOSCA-DA-FRUTA (*Ceratitis
capitata*) E SUA TOXICIDADE EM *Artemia salina***

Trabalho de Conclusão de Curso
apresentado ao IF SERTÃO-PE *Campus*
Petrolina Zona Rural, exigido para a
obtenção de título de Engenheira Agrônoma.

Orientadora: Prof^a. Dr^a. Elizângela Maria de Souza

**PETROLINA, PE
2022**

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)

P436 Pereira, Emanuela Beatriz Souza Silva.

Bioatividade do óleo essencial de feijão-bravo (*Cynophalla hastata*) frente à mosca-da-fruta (*Ceratitis capitata*) e sua toxicidade em *Artemia salina* / Emanuela Beatriz Souza Silva Pereira. - Petrolina, 2022.
39 f.

Trabalho de Conclusão de Curso (Agronomia) -Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Sertão Pernambucano, Campus Petrolina Zona Rural, 2022.
Orientação: Prof^a. Dr^a. Elizângela Maria de Souza.

1. Ciências Agrárias. 2. diptera. 3. efeito tóxico. 4. isotiocianatos. 5. nitrilas. I. Título.

CDD 630



SECRETARIA DE EDUCAÇÃO PROFISSIONAL E TECNOLÓGICA
INSTITUTO FEDERAL DE EDUCAÇÃO, CIÊNCIA E TECNOLOGIA
DO SERTÃO PERNAMBUCANO

FOLHA DE APROVAÇÃO

EMANUELA BEATRIZ SOUZA SILVA PEREIRA

**BIOATIVIDADE DO ÓLEO ESSENCIAL DE FEIJÃO-BRAVO
(*Cynophalla hastata*) FRENTE À MOSCA-DA-FRUTA (*Ceratitís capitata*) E SUA TOXICIDADE EM *Artemia salina***

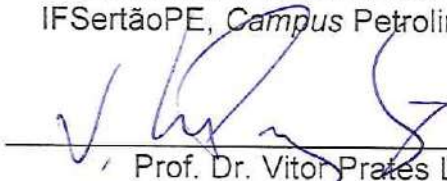
Trabalho de Conclusão de Curso apresentado como requisito parcial para obtenção do título de Engenheira Agrônoma, pelo Instituto Federal de Educação, Ciências e Tecnologia Sertão Pernambucano, Campus Petrolina Zona Rural.

Aprovada em: 03/06/ 2022

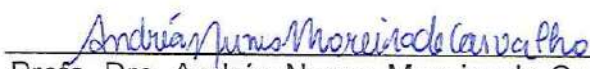
Banca Examinadora



Prof. Dra. Elizângela Maria de Souza
1ª Examinadora - Orientadora/Presidente
IFSertãoPE, Campus Petrolina Zona Rural



Prof. Dr. Vitor Prates Lorenzo
2º Examinador
IFSertãoPE Campus Petrolina Zona Rural



Prof. Dra. Andréa Nunes Moreira de Carvalho
3ª Examinadora
IFSertãoPE Campus Petrolina Zona Rural

RESUMO

Na busca por controle alternativo contra a *Ceratitis capitata*, os óleos essenciais têm se mostrado uma alternativa na procura desses inseticidas naturais. Sabe-se que a Caatinga é o único bioma exclusivamente brasileiro e sua riqueza em biodiversidade vegetal e seus benefícios é pouco discutida na literatura, apesar de serem amplamente utilizadas na medicina popular, sendo necessário verificar a segurança nessa utilização. Dessa forma, o objetivo desta pesquisa foi avaliar a bioatividade do óleo essencial da casca *Cynophalla hastata* em pupas de *Ceratitis capitata*, assim como realizar o teste de toxicidade preliminar em *Artemia salina*, seguido da prospecção fitoquímica quantitativa. A casca da *C. hastata* foi coletada para a extração do óleo essencial por hidrodestilação. A análise das classes de metabólitos do óleo essencial foi por meio de Cromatografia Gasosa acoplada à Espectrometria de massas (CG-EM), realizada no Centro Analítico de Instrumentação da Universidade de São Paulo - USP. Foram realizados os bioensaios do óleo essencial frente às pupas da *C. capitata*, com delineamento inteiramente casualizado nas concentrações de 2,5, 5, 10, 20, 40 e 80 mg L⁻¹. O controle foi solução de Tween 80 a 2%. As pupas foram acondicionadas por sete dias em incubadora BOD à 25°C com fotofase de doze horas e, após isso, as avaliações foram feitas a cada 24 horas por oito dias, avaliando os insetos emergidos e a mortalidade das pupas. Além disso, foi realizado o teste de toxicidade em *Artemia salina*. A extração do óleo essencial da casca do caule teve rendimento de 0,035%. A cromatografia revelou que o óleo da espécie analisada apresenta um grupo de compostos principais raros em óleos essenciais, alguns dos quais já têm sido citados na literatura, como isotiocianatos e nitrilas representando 74,76 %. Detectou-se como componentes majoritários o isopropil isotiocianato (25,88 %), hexanonitrilo (30,38 %), 4,4-dimetil-3-oxopentanonitrilo (11,30 %) e 4-metilpentanonitrilo (7,20 %). As maiores concentrações de 40,0 e 80,0 mg L⁻¹ provocou a não emergência de 76,67% e 80%, respectivamente, sendo consideradas as melhores e acredita-se que os compostos agem como inseticidas de contato, penetrando o tegumento e inibindo a AChE nos insetos, o que possivelmente pode ter levado a morte e o retardo das pupas. O óleo essencial foi considerado fortemente tóxico com CL₅₀ 4,45 µg mL⁻¹, indicando possível potencial no controle de pragas e para indústria farmacêutica.

Palavras-chave: diptera; efeito tóxico; inseticida; isotiocianatos; nitrilas.

Dedico a Deus por sua infinita bondade, à minha família, em nome dos meus pais Yolanda e Ednaldo, por serem meu alicerce, e ao meu esposo Allef Pereira por todo amor e apoio, embarcando nesse sonho comigo e torcendo pelo meu sucesso. Obrigada de coração!

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a Santíssima Trindade, Pai, Filho e Espírito Santo que com sua infinita bondade me concedeu a vida, saúde e força para enfrentar todos os obstáculos. Sem Deus nada seria possível e eu nem estaria aqui. “A um coração grato Deus dá tudo!”

À minha mãezinha do céu, Maria Santíssima por toda intercessão.

Ao IF Sertão *Campus* Petrolina Zona Rural, em especial todos os professores, por todos os ensinamentos e conselhos, sendo fundamentais na minha formação pessoal e profissional.

À minha família, em especial meus pais, Ednaldo e Yolanda, meus heróis e motivadores, que investiram incansavelmente na minha educação mesmo diante das dificuldades. Ao meu irmão Edmarlon pelo apoio e torcida. Obrigada por todas as orações. Amo vocês!

Ao meu querido esposo Allef Pereira, fonte de inspiração, que mesmo diante de tudo que já viveu, sempre me ensinou que devemos sorrir e ser grato por tudo. Obrigada por todo amor, paciência nos momentos difíceis e apoio. Amo-te!

À minha orientadora e mãe do coração, Elizângela Maria, que desde o 2º período acreditou em mim e no meu potencial, me designando um trabalho lindo e importantíssimo, que é a Trilha Ecológica na Caatinga, onde a partir daí nunca mais nos largamos. Obrigada por todos os conselhos, ensinamentos, incentivos e principalmente por todo amor e carinho.

Ao meu quarteto, Jerce, Bruna e Danyla, por toda amizade e motivação.

À minha turma AG 13, a todos os amigos de faculdade e de estágio pela parceria na construção do conhecimento.

Aos meus amigos de projetos de pesquisa e extensão na Trilha Ecológica na Caatinga por toda colaboração.

À Moscamed, em especial a Técnica Miriam, pela disponibilização das larvas da *Ceratitis capitata*.

Aos Laboratórios de Química do IF SertãoPE *Campus* Petrolina Zona Rural, em nome do Prof. Vitor Lorenzo e o Laboratório de Bioquímica/NEPLAME da Universidade Federal do Vale do São Francisco, em nome do Prof. Jackson Guedes e Profa. Ana Paula, pelo espaço e materiais utilizados.

Ao CRAD (Centro de Referência Para Recuperação de Áreas Degradadas da Caatinga) da UNIVAFS, em nome do Prof. José Alves S. Filho, e ao discente Leonardo Feijó (IFSertãoPE) pela identificação da planta *C. hastata* e fornecimento do nº do voucher.

À Técnica de Laboratório, Eliatania Clementino Costa por todo apoio e atenção na extração do óleo essencial.

À Yuri Kelvin, amigo de graduação, por todo auxílio na metodologia do ensaio de toxicidade preliminar em *Artemia salina*.

Ao Prof. Fábio Nascimento pelo auxílio nas estatísticas.

Agradeço a banca examinadora composta pela Profa. Andreia Nunes e o Prof. Vitor Lorenzo pelo convite aceito e toda colaboração.

Enfim, a todos que me ajudaram diretamente e indiretamente, o meu muito obrigado!

“O sucesso nasce do querer, da determinação e persistência em se chegar a um objetivo. Mesmo não atingindo o alvo, quem busca e vence obstáculos, no mínimo fará coisas admiráveis.”

(José de Alencar)

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 01:	Extração do óleo essencial: a) coleta da casca do caule; b) exsicata da espécie; c) raspagem da casca; d) pesagem da casca; e) quantificação da água no balão e f) aparelho <i>Clevenger</i>	18
Figura 02:	Bioensaio da atividade inseticida: a) pupas formadas; b) pupas imersas nas concentrações; c) papel filme perfurado para entrada de O ₂ ; d) acondicionamento em BOD.....	19
Figura 03:	Teste de toxicidade preliminar em <i>Artemia salina</i> : a) cuba usada para eclodir os ovos; b) transferência das artemias para as concentrações; c) experimento pronto.....	20
Figura 04:	Compostos quantificados apresentados no óleo essencial da <i>C. hastata</i>	22
Figura 05:	Estrutura química dos compostos majoritários.....	23
Figura 06:	Adultos de <i>C. capitata</i> aptos após a aplicação das concentrações do óleo essencial da casca da <i>C. hastata</i>	25
Figura 07:	Características das pupas da <i>C. capitata</i> sem emergência de adultos após a aplicação das concentrações do óleo essencial da casca da <i>C. hastata</i> , configurando em mortalidade.....	26
Figura 08:	Mortalidade das pupas da <i>C. capitata</i> após a aplicação do óleo essencial da casca da <i>C. hastata</i> : a) adulto tentando emergir; b) inseto retirado da pupa que não houve emergência.....	26

LISTA DE TABELAS

Tabela 01:	Principais compostos apresentados na <i>Cynophalla hastata</i>	23
Tabela 02:	Percentual de mortalidade de pupas de <i>C. capitata</i> , em relação ao desenvolvimento pupal médio (15 dias) e tempo de exposição às diferentes concentrações do óleo essencial, obtido da casca da <i>C. hastata</i>	24
Tabela 03:	Concetração letal 50 em $\mu\text{g mL}^{-1}$ do óleo essencial da casca do caule de <i>Cynophalla hastata</i> frente à <i>Artemia salina</i>	29

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

AChE - Acetilcolinesterase

BOD – Incubadora com Demanda Bioquímica de Oxigênio

CG/EM - Cromatografia Gasosa acoplada à Espectrometria de massas

CPZR – Campus Petrolina Zona Rural

CRAD - Centro de Referência Para Recuperação de Áreas Degradadas da Caatinga

HVASF – Herbário do Vale do São Francisco

IF – Instituto Federal

NEPLAME – Núcleo de Estudos de Plantas Medicinais

OE – Óleo essencial

UNIVASF – Universidade Federal do Vale do São Francisco

USP – Universidade de São Paulo

LISTA DE SÍMBOLOS

CL₅₀ - Concentração Letal para 50% da população teste

g - Grama

IC₅₀ – Concentração inibitória média

L – Litro

mg - Miligrama

mL – Mililitro

µg - Micrograma

SUMÁRIO

ARTIGO SUBMETIDO À REVISTA CERES	13
Resumo	13
Introdução	14
Material e métodos	17
Coleta, extração e rendimento do óleo essencial.....	17
Obtenção das larvas.....	18
Ensaio da bioatividade do óleo essencial frente às pupas da <i>Ceratitis capitata</i>	18
Toxicidade preliminar frente à <i>Artemia salina</i>	19
Análise dos constituintes químicos do óleo essencial.....	20
Análises estatísticas.....	21
Resultados e discussões	21
Rendimento do óleo essencial.....	21
Identificação dos constituintes químicos do óleo essencial da <i>Cynophalla hastata</i>	22
Avaliação da bioatividade do óleo essencial frente às pupas da <i>Ceratitis capitata</i>	24
Avaliação da toxicidade preliminar frente à <i>Artemia salina</i>	28
Conclusão	31
Agradecimentos	31
Referências	32
REFERÊNCIA	36
ANEXOS	37
ANEXO 1 – Comprovante de submissão do artigo a Revista Ceres.....	37
ANEXO 2 - Resultado da análise química do óleo essencial, realizada na Universidade de São Paulo.....	38
ANEXO 3 - Obtenção das larvas e pupas de <i>Ceratitis capitata</i> : a) larvas no 3º instar em alimentação; b) larvas na vermiculita, simulando o solo.....	39
ANEXO 4 – Adulto de <i>Ceratitis capitata</i> : a) fêmea (ovopositor); b) macho.....	39

**Artigo redigido seguindo as normas da Revista Ceres - UFV
(O Artigo foi submetido em Língua Inglesa)**

BIOATIVIDADE DO ÓLEO ESSENCIAL DE FEIJÃO-BRAVO (*Cynophalla hastata*) FRENTE À MOSCA-DA-FRUTA (*Ceratitis capitata*) E SUA TOXICIDADE EM *Artemia salina*

Emanuela Beatriz Souza Silva Pereira¹, Elizângela Maria de Souza², Andréa Nunes Moreira de Carvalho², Eliatânia Clementino Costa³, Yuri Kelvin Camacho Tavares⁴ e Fábio Nascimento de Jesus⁵

¹Discente do IFSertãoPE *Campus* Petrolina Zona Rural. E-mail: emanuela.beatriz@ifsertao-pe.edu.br;

²Docentes do IFSertãoPE *Campus* Petrolina Zona Rural. E-mails: andrea.nunes@ifsertao-pe.edu.br; elizangela.maria@ifsertao-pe.edu.br

³Técnica em Química do IFSertãoPE *Campus* Petrolina Zona Rural. E-mail: eliatania.costa@ifsertao-pe.edu.br

⁴Mestrando em Biociências da Univasf. Email: yuri.tavares@discente.univasf.edu.br

⁵Agrônomo da Secretaria de Agricultura e Meio Ambiente de Tanque Novo – BA. E-mail: fabionj.agro@gmail.com

ID: 0000-0003-2905-3942

RESUMO

Na busca da valorização e conhecimento da flora da Caatinga, o objetivo foi avaliar a bioatividade do óleo essencial da casca *Cynophalla hastata* em *Ceratitis capitata* e realizar o teste de toxicidade em *Artemia salina*, seguido da prospecção fitoquímica quantitativa. O material vegetal foi coletado para a extração do óleo essencial por hidrodestilação. A análise do óleo foi em Cromatografia Gasosa acoplada à Espectrometria de massas, na Universidade de São Paulo. Os bioensaios do óleo frente às pupas da *C. capitata* foram em delineamento inteiramente casualizado nas concentrações de 2,5, 5, 10, 20, 40 e 80 mg L⁻¹ e controle (Tween 80 a 2%). As pupas foram acondicionadas por sete dias em BOD e as avaliações feitas a cada 24 horas por oito dias. Além disso, foi realizado o teste de toxicidade em *Artemia salina*. O óleo essencial apresentou rendimento de 0,035%. A cromatografia revelou compostos raros em óleos, como majoritários: isopropil isotiocianato (25,88 %), hexanonitrilo (30,38 %), 4,4-dimetil-3-oxopentanonitrilo (11,30 %) e 4-metilpentanonitrilo (7,20 %). As concentrações de 40,0 e 80,0 mg L⁻¹ provocou a mortalidade de 76,67 % e 80 %, respectivamente, consideradas as melhores. O óleo foi considerado fortemente tóxico com CL₅₀ 4,45 µg mL⁻¹, indicando possível potencial no controle de pragas e para a indústria farmacêutica.

Palavras-chave: diptera; efeito tóxico; inseticida; isotiocianatos; nitrilas; pupa.

INTRODUÇÃO

Dentre os insetos-praga mais danosos economicamente ao seguimento produtivo da fruticultura mundial, às moscas-das-frutas (Diptera: Tephritidae) estão entre as principais espécies com importância quarentenária, mais especificamente a *Ceratitis capitata* (Gonzaga, 2019). Elas reduzem a produtividade e qualidade dos frutos através da oviposição pela fêmea e desenvolvimento larval no interior dos frutos.

O controle das mosca-das-frutas, em condições de campo, é baseado principalmente na utilização de inseticidas na parte aérea da planta, nas formas de cobertura total e/ou de iscas tóxicas (S. Braga e Silva *et al.*, 2019). Entretanto, as atuais formas de controle desencadeiam a resistência, originada por organismos capazes de suportar doses toxicológicas letais para a maioria da população normal (suscetível) da mesma espécie, evoluindo em resposta à seleção natural; limita a eficiência e viabilidade desses produtos em longo prazo, devido a pressão contínua de seleção, imposta pelo uso abusivo de inseticidas (Fazolin *et al.*, 2017).

Além disso, colaboram intensamente para o desequilíbrio do agroecossistema, atingindo os inimigos naturais e outros organismos não alvos, além de permitir resíduos tóxicos nos frutos, prejudicando o comércio e o consumo do fruto *in natura* (Santos, 2019). Assim, diversos estudos têm buscado descobrir as espécies de vegetais e as partes do vegetal com maiores propriedades inseticidas, caracterizando o perfil fitoquímico, identificando e isolando os compostos ativos que melhor desempenham papel de inseticidas naturais (Silva *et al.*, 2017).

O uso de óleos essenciais no controle de *C. capitata* vem se mostrando como uma técnica eficiente e promissora (Gonzaga, 2019; Cartaxo, 2020). Todavia ainda pouco se sabe sobre o efeito de bioextratos e óleo essencial de plantas nativas da

Caatinga sobre fases imaturas de *C. capitata*, uma vez que as estratégias de controle em uma área infestada de mosca-das-frutas têm sido direcionadas a fase adulta do inseto, podendo ser mais uma opção economicamente viável para o controle dessa praga, visando proteger o meio ambiente, diminuir a resistência e aumentar a produtividade das culturas (Leandro, 2019).

Há uma necessidade que novos estudos sejam desenvolvidos buscando analisar a eficiência do óleo essencial de outras espécies vegetais, incluindo as plantas nativas da Caatinga no controle dessa praga. Sabe-se que a Caatinga é o único bioma exclusivamente brasileiro. Entretanto, a sua riqueza em biodiversidade vegetal e seus benefícios é pouco citada e discutida na literatura. Nesse cenário, a espécie *Cynophalla hastata* (Jacq.) J. Presl. (Capparaceae), conhecida popularmente por feijão-bravo ou feijão-de-boi, é nativa do Brasil e encontrada nas áreas de Caatinga, tendo suas informações escassas na literatura.

De acordo com Souza *et al.* (2021), a espécie apresenta uso forrageiro; uso na medicina popular, onde as folhas, casca e entrecasca são utilizadas como analgésico, vermífugo, problemas de pele e infecções sexualmente transmissíveis, além da casca, usada em caso de picada de cobra.

Conforme Carvalho *et al.* (2019) e Souza (2020), os glicosinolatos fazem parte das principais classes de metabólitos secundários encontrados na família Capparaceae, tendo como produtos de sua hidrólise os isotiocianatos e nitrilas, com grande importância, pois além de compor um dos principais mecanismos químicos de defesa do organismo vegetal, está intimamente relacionada a biossíntese de compostos biologicamente ativos.

Salienta-se que, muitas outras espécies desse bioma são utilizadas na medicina popular por uma parcela significativa da população, embora seus perfis toxicológicos não sejam bem conhecidos. Por isso, é preciso que haja muito cuidado na utilização, pois os mesmos podem apresentar substâncias que venham a apresentar efeitos colaterais adversos, devido à liberação de determinados componentes presentes no vegetal ou a forma de realização de coleta e extração ineficiente de seus constituintes (Sá *et al.*, 2020).

Para isso é importante ressaltar que o uso de plantas exige a realização de ensaios de toxicidade para verificar a segurança nessa utilização. Nesse propósito, tem sido estimulado o desenvolvimento de ensaios *in vitro* para determinar a possível toxicidade das plantas e uma das técnicas que podem ser adotadas é a utilização do bioensaio com camarão de salmoura (*Artemia salina* Leach) um crustáceo que vive em lagos de água salgada de todo o mundo, com simplicidade de manuseio e baixo custo (Melo *et al.*, 2021). Esse teste pode indicar possíveis ações biológicas como anticancerígenas, moluscicida, inseticida, e antifúngica.

Diante do contexto, na busca por recursos alternativos de controle da mosca-das-frutas e a necessidade de estudo das espécies da nossa flora, bem como a segurança na utilização de plantas, este trabalho teve como objetivo avaliar a bioatividade do óleo essencial da casca da *C. hastata* em pupas de *C. capitata*, assim como realizar a análise fitoquímica do óleo essencial e o teste de toxicidade preliminar em *A. salina*.

MATERIAL E MÉTODOS

Os experimentos foram conduzidos no Laboratório de Química do IFSertãoPE *Campus* Petrolina Zona Rural e no Laboratório de Bioquímica/NEPLAME da Universidade Federal do Vale do São Francisco.

Coleta, extração e rendimento do óleo essencial

A coleta da casca do caule da espécie estudada (*C. hastata*) foi realizada entre maio e junho de 2021, no campo do IFSertãoPE *Campus* Petrolina Zona Rural (9° 20' 12,59596" Sul, 40° 41' 45,48919" Oeste), às 08h30, com temperatura média= 22,2 ° C e umidade relativa do ar = 76,3 %. Para a identificação por um botânico responsável foi produzida a exsicata da espécie e encaminhada para o Centro de Referência Para Recuperação de Áreas Degradadas da Caatinga - *CRAD/UNIVASF*, onde foi depositada no Herbário do Vale do São Francisco – *HVASF*, na cidade de Petrolina/PE identificada com o número de registro/voucher – 24374. A casca foi raspada e sua massa mensurada para cálculos posteriores de rendimento (Figura 01). Assim realizou-se o processo de extração do óleo essencial, por meio da técnica conhecida por hidrodestilação, com um extrator de *Clevenger*. Nesse processo, 800 g das raspas da casca foram introduzidas em um balão de fundo redondo (6 L), a fim de realizar a extração dos óleos essenciais por 3h, com temperatura de 100° C (Figura 01). Posteriormente, foi determinada a massa do óleo por meio de balança analítica com precisão de 0,1 g, o qual foi mantido em ampola de vidro âmbar sob refrigeração de 4° C até a realização da análise de identificação dos seus constituintes.

O rendimento foi obtido dividindo-se a massa do óleo essencial obtida pela massa das raspas da casca colocadas para a extração do óleo. O resultado foi expresso em porcentagem (Ribeiro *et al.*, 2018).

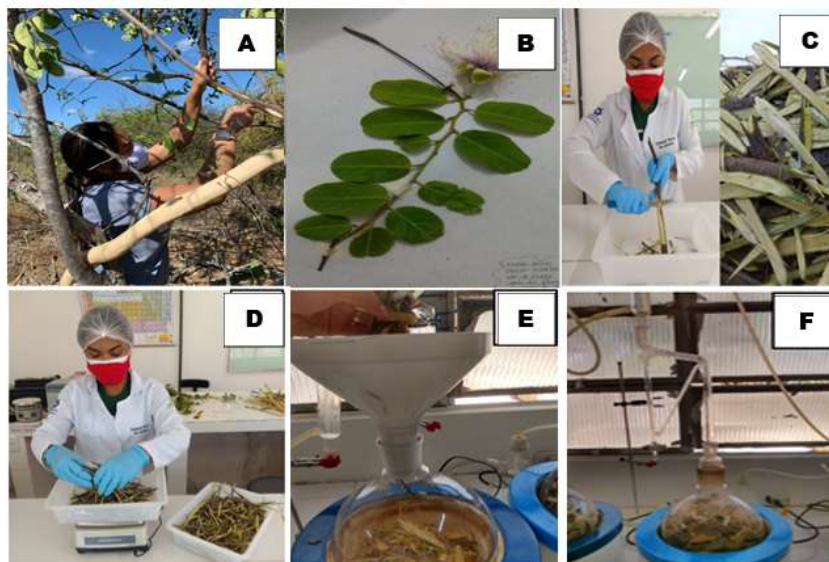


Figura 01: Extração do óleo essencial: a) coleta da casca do caule; b) exsiccata da espécie; c) raspagem da casca; d) pesagem da casca; e) quantificação da água no balão e f) aparelho *Clevenger*.

Obtenção das larvas

As larvas da *C. capitata* foram fornecidas pela Biofábrica Moscamed Brasil, no 3º instar e alimentadas com dieta artificial composta por bagaço de cana, farinha de soja, levedura de cerveja, açúcar cristal, methylparaben (Nipagin), benzoato de sódio, ácido cítrico, tetraciclina e água filtrada. Posteriormente, foram acondicionadas em bandejas plásticas com vermiculita esterelizada para obtenção das pupas.

Ensaio da bioatividade do óleo essencial frente às pupas da *C. capitata*

Para o ensaio de atividade inseticida, o OE foi diluído em solução aquosa de Tween 80 a 2% nas concentrações: 2,5, 5, 10, 20, 40 e 80 mg L⁻¹. Como controle utilizou-se a solução aquosa de Tween 80 a 2%. O delineamento foi inteiramente casualizado com sete tratamentos em triplicata.

Cada unidade amostral foi constituída por uma placa de Petri com papel filtro incluindo 10 pupas com idade de dois dias. As pupas foram imersas em *becker* contendo 20 mL de cada tratamento e, após 30 segundos de contato, depositadas nas placas com vermiculita. Após serem submetidas aos tratamentos, foram acondicionadas por sete dias (desenvolvimento pupal médio) em incubadora BOD, com condições semiclimatizadas ($26 \pm 2^\circ\text{C}$, $70 \pm 10\%$ e fotofase de 12 horas) e, decorrido esse tempo, as avaliações foram feitas a cada 24 horas por oito dias, sendo observados os insetos emergidos e sua viabilidade, com conseqüente mortalidade das pupas (Figura 02).

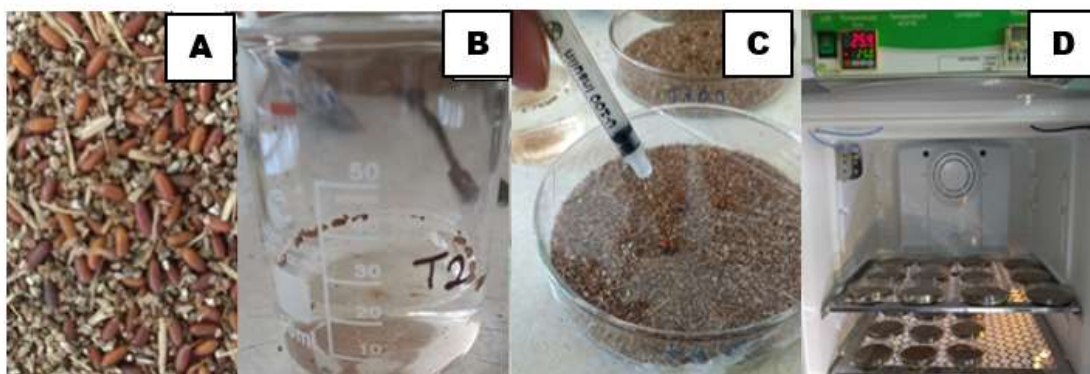


Figura 02: Bioensaio da atividade inseticida: a) pupas formadas; b) pupas imersas nas concentrações; c) papel filme perfurado para entrada de O_2 ; d) acondicionamento em BOD.

Toxicidade preliminar frente à *Artemia salina*

No Laboratório de Bioquímica/NEPLAME da Universidade Federal do Vale do São Francisco foi realizada a análise de toxicidade preliminar do óleo essencial em *A. salina*, utilizando a metodologia sugerida por Meyer *et al.* (1982). Para isso, foi preparada uma solução salina para eclosão dos ovos da *A. salina* na concentração de 38 g L^{-1} . Após isso, foram pesadas 20 mg de ovos e colocadas para eclodir por 48 h em uma cuba dividida em duas partes, um ambiente escuro e um ambiente claro, separado por um isopor com furos, contendo 1 L de água salina e mantidos a 25°C para a migração dos náuplios para a parte clara da cuba, iluminada durante todo o período.

Após a eclosão dos ovos, foram transferidas 10 náuplios de artêmias para tubos de ensaio, contendo a solução do óleo, onde 180 mg de óleo foi diluído em 90 mL de água salina. Em seguida foram realizadas as diluições a fim de obter seis concentrações: 50, 100, 250, 500 e 1000 $\mu\text{g mL}^{-1}$. As diluições foram feitas com um volume final de 4,5 mL. Para o controle negativo foi utilizada a solução salina e o controle positivo foi realizado utilizando Paracetamol 800 mg L^{-1} .

Os tubos de ensaio foram mantidos a 25° C com incidência de luz constante. A avaliação da viabilidade dos náuplios foi após 24 e 48 horas (Figura 03). O resultado expresso em CL_{50} e a taxa de letalidade dada em porcentagem a partir da quantidade de artêmias vivas observadas.

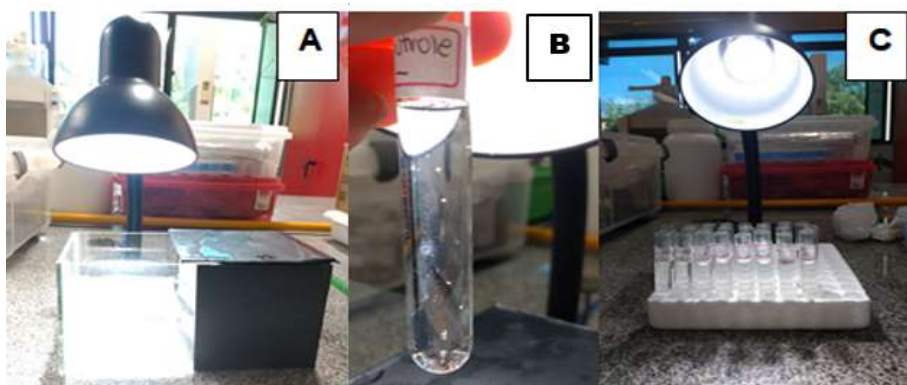


Figura 03: Teste de toxicidade preliminar em *Artemia salina*: a) cuba usada para eclodir os ovos; b) transferência das artêmias para as concentrações; c) experimento pronto.

Análise dos constituintes químicos do óleo essencial

O óleo essencial de *C. hastata* foi encaminhado ao Centro Analítico de Instrumentação da Universidade de São Paulo – Instituto de Química/USP para análise dos constituintes químicos. A caracterização dos componentes majoritários foi realizada utilizando-se um Cromatógrafo Gasoso Acoplado a um Espectrômetro de Massas (Shimadzu®, GCMS-QP2020) (CG-EM). A coluna foi aquecida a partir de uma temperatura inicial de 50°C até a temperatura final ser de 280°C. Os constituintes foram

identificados comparando-se os espectros e os fragmentos de massa obtidos na análise cromatográfica com os bancos de dados das bibliotecas espectrais NIST14s.bi, disponível no software do equipamento.

Análises estatísticas

Os dados foram submetidos à análise de variância e as médias comparadas pelo teste de *Tukey* a 5% de probabilidade. A estatística da toxicidade preliminar em *A. salina* foi obtida utilizando uma regressão não linear com intervalo de confiança de 95% no Software GraphPad Prism 8.0.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Rendimento do óleo essencial

Segundo Ribeiro *et al.* (2018), o rendimento do óleo essencial é um fator muito importante para determinar a viabilidade de estudo das espécies como fontes de substâncias bioativas, caso seja necessário o isolamento desta, ou ainda que o óleo essencial apresente atividade equiparada à da substância isolada. Assim, o estudo do rendimento do óleo essencial torna-se uma ferramenta necessária para os produtores, pois a partir desse estudo é possível estimar quanto de biomassa é necessária para produzir uma quantidade de óleo satisfatória.

Após a extração do óleo essencial da casca do caule da *C. hastata*, quantificou-se um rendimento de 0,035%, utilizando 800 g de casca, coletando 0,5 mL (volume) e 0,28 g (massa) de óleo. De acordo com Bessa (2017), dentre os diversos fatores que influenciam a síntese de metabólitos secundários, a sazonalidade é um dos mais expressivos com relação às variações na quantidade e natureza dos constituintes ativos das plantas, além da época em que é coletado; a idade e o desenvolvimento das plantas;

a temperatura; a chuva ou a seca também pode provocar alterações fisiológicas nas plantas tais como fotossíntese, crescimento, mobilização de reserva e expansão foliar, alterando assim no metabolismo secundário; entre outros.

Identificação dos constituintes químicos do óleo essencial da *C. hastata*

Os constituintes químicos do óleo da *C. hastata* foram identificados e quantificados, e seus respectivos resultados estão expressos na Figura 04. Já na tabela 01 estão expressos os compostos majoritários (determinados com área acima de 5,0 %) e sua estrutura química (Figura 05).

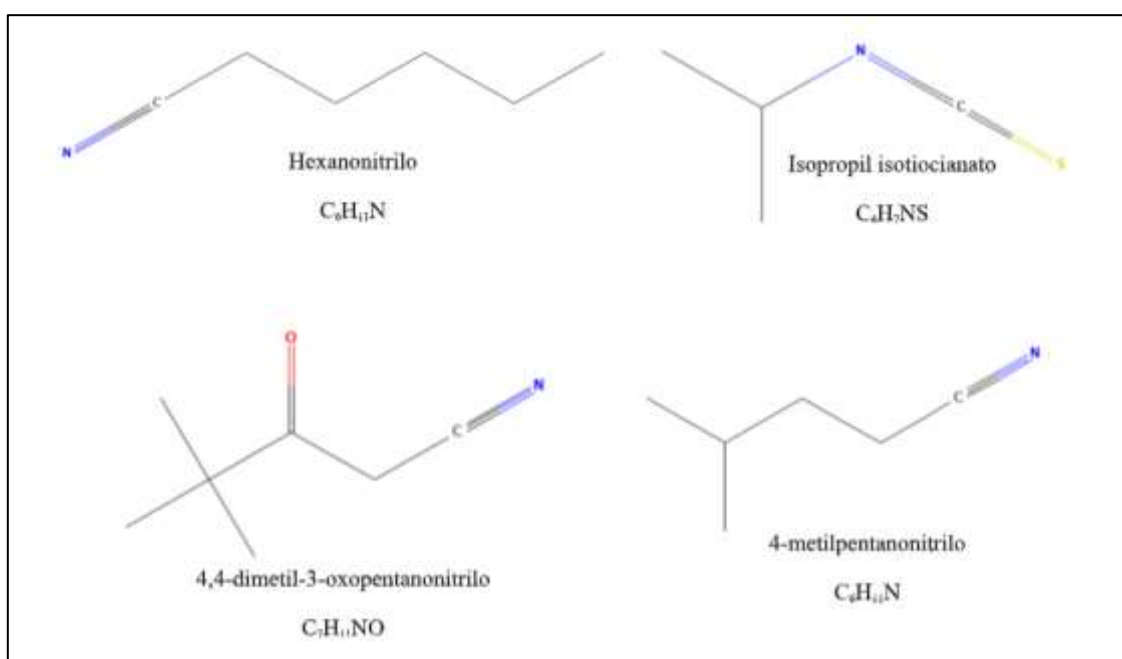
Figura 04: Compostos quantificados apresentados no óleo essencial da *C. hastata*.

Peak#	R.Time	I.Time	F.Time	Peak Report				A/H	Mark	Name
				Area	Area%	Height	Height%			
1	3.666	3.640	3.725	110037	0.59	56828	0.74	1.94		Acetic acid, butyl ester
2	4.037	3.995	4.150	4856174	25.88	2134866	27.86	2.27		Isopropyl isothiocyanate
3	4.189	4.150	4.225	2121162	11.30	970503	12.67	2.19	V	4,4-Dimethyl-3-oxopentanenitrile
4	4.247	4.225	4.345	1351306	7.20	569637	7.43	2.37	V	Isoamyl cyanide
5	5.117	5.055	5.220	5701331	30.38	2323661	30.33	2.45		Hexanenitrile
6	5.608	5.560	5.695	652992	3.48	253786	3.31	2.57		Propane, 1-isothiocyanato-
7	6.622	6.575	6.690	541764	2.89	226677	2.96	2.39		Butane, 2-isothiocyanato-
8	7.144	7.100	7.200	117594	0.63	45781	0.60	2.57		Hexanenitrile, 5-methyl-
9	7.355	7.310	7.370	306482	1.63	136412	1.78	2.25		Isoamyl cyanide
10	7.403	7.370	7.470	720500	3.84	266415	3.48	2.70	V	Isobutyl isothiocyanate
11	8.373	8.325	8.420	123464	0.66	49180	0.64	2.51		Heptanonitrile
12	11.485	11.430	11.545	309539	1.65	105262	1.37	2.94		2-Methylbutyl isothiocyanate
13	13.135	13.075	13.185	251736	1.34	96173	1.26	2.62		n-Pentyl isothiocyanate
14	21.364	21.315	21.415	128186	0.68	41785	0.55	3.07		Decane, 3,7-dimethyl-
15	30.480	30.435	30.545	104824	0.56	41385	0.54	2.53		Sulfurous acid, 2-ethylhexyl hexyl ester
16	38.584	38.550	38.665	100152	0.53	33029	0.43	3.03		Decane, 3,8-dimethyl-
17	44.897	44.850	44.945	86526	0.46	29662	0.39	2.92		Decyl trifluoroacetate
18	47.544	47.440	47.625	765742	4.08	180786	2.36	4.24		n-Hexadecanoic acid
19	51.403	51.340	51.465	180977	0.96	52040	0.68	3.48		1-Hexadecanol
20	84.659	84.605	84.755	234457	1.25	48421	0.63	4.84		Phenol, 2,4-bis(1,1-dimethylethyl)-, phosph
				18764945	100.00	7662289	100.00			

A cromatografia revelou que o óleo da espécie analisada apresenta um grupo de compostos principais raros em óleos essenciais, alguns dos quais já têm citado na literatura, como isotiocianatos e nitrilas representando 74,76 % (Tabela 01). Esses compostos são identificados nos óleos essenciais de alimentos como a mostarda (*Brassica juncea*), que funcionam como conservantes naturais devido a sua atividade antimicrobiana e antioxidante (Carvalho *et al.*, 2021).

Tabela 01: Principais compostos majoritários apresentados na *C. hastata*.

Espécie	Principais compostos	Área (%)
<i>Cynophalla hastata</i>	Hexanonitrilo	30,38 %
	Isopropil isotiocianato	25,88 %
	4,4-dimetil-3-oxopentanitrilo	11,30 %
	4-metilpentanonitrilo	7,20 %

Figura 05: Estrutura química dos compostos majoritários.

Em seu trabalho, Carvalho *et al.* (2021) por meio do óleo essencial das vagens da *Cynophalla flexuosa*, espécie do mesmo gênero, identificaram como componentes majoritários: 2-pentanona 4-hidroxi-4-metil (30,1 %); éster butílico de ácido acético (16,6 %); butanonitrilo, 3-metil (15,2 %); e isopropil isotiocianato (13,6 %), além dos demais compostos como 4,4-dimetil-3-oxopentanitrilo (1,9 %); e hexanonitrilo, 5-metil (1,56 %) corroborando com a identificação fitoquímica do presente trabalho.

Os glicosinolatos, devido as suas características estruturais, fazem parte da classe dos glicosídeos, sendo metabólitos secundários cujas propriedades únicas foram

observadas no início do século XVII e despertam interesse até os dias atuais (Valério, 2017). Entre seus produtos de hidrólise estão os isotiocianatos e nitrilas, em que Silva *et al.* (2017), afirmam que têm demonstrado atividade inseticida, com papel importante na defesa da planta contra insetos herbívoros.

Além disso, Souza (2020) reforça que na família Capparaceae, os glicosinolatos (β -tioglicosídeo-N-hidroxissulfato), podem ser considerados os mais importantes, pois além de compor um dos principais mecanismos químicos de defesa do organismo vegetal, esta classe de grande diversidade de estruturas, está intimamente relacionada a biossíntese de compostos biologicamente ativos, os quais vem sendo estudados contra diferentes tipos de câncer, doenças neurodegenerativas, entre outros.

Avaliação da bioatividade do óleo essencial frente às pupas da *C. capitata*

Os resultados da atividade do OE da casca da *C. hastata* estão expressos em percentual (%) de mortalidade de pupas de *C. capitata* na Tabela 02, apresentando resultados promissores.

Tabela 02: Percentual de mortalidade de pupas de *C. capitata*, em relação ao desenvolvimento pupal médio (15 dias) e tempo de exposição às diferentes concentrações do óleo essencial, obtido da casca da *C. hastata*.

Concentrações mg L⁻¹	Mortalidade de Pupas (%)
80,0	80,00 ^a
40,0	76,67 ^a
20,0	66,67 ^a
10,0	56,67 ^a
5,0	46,67 ^{ab}
2,5	51,67 ^a
Controle	10,00 ^b

1. Médias Seguidas pela mesma letra, nas colunas, não diferem significativamente pelo teste de Tukey, ao nível de 5 % de probabilidade.

Os dados mostram que no controle (solução de Tween 80 a 2%) houve maior emergência de moscas em relação aos demais tratamentos, o que evidencia a interferência do OE na emergência dos insetos adultos. Desde a menor concentração de 2,5 mg L⁻¹ houve mortalidade de pupas em torno de 50%, ou seja, metade dos insetos não emergiram até 15º dia de análise. Há um destaque para as maiores concentrações de 40,0 e 80,0 mg L⁻¹ que provocaram a não emergência de 76,67% e 80%, respectivamente (Tabela 02).

No verão o período pupal varia de 10 a 12 dias, podendo chegar até 20 dias no inverno (Gallo *et al.*, 2002). No presente trabalho, ao analisar se o OE influenciou no tempo da fase pupal, observou-se uma variação de 8 a 10 dias, onde a partir disso, até o 15º dia, não houve mais emergência de adultos. Casos de insetos inviáveis não foram observados, onde todos os insetos emergidos estavam aptos, ou seja, sem deformações morfológicas (Figuras 06, 07 e 08).



Figura 06: Adultos de *C. capitata* aptos após a aplicação das concentrações do óleo essencial da casca da *C. hastata*.

De acordo com S. Braga e Silva *et al.* (2019), os primeiros estádios larvais e das ninfas dos insetos afetados por extratos vegetais perduram, às vezes, por três semanas em um mesmo estágio, até que morram, enquanto que o quarto e o quinto estádios

larvais podem conseguir empupar, mas os adultos emergem com as asas deformadas ou outras deficiências.



Figura 07: Características das pupas da *C. capitata* sem emergência de adultos após a aplicação das concentrações do óleo essencial da casca da *C. hastata*, configurando em mortalidade.

As plantas possuem substâncias cujas moléculas possuem ação fagoinibidora, repelente, larvicida inseticida, além de serem capazes de alterar a regulação do crescimento (Pereira *et al.*, 2022). S. Braga e Silva (2019) enfatiza que o modo de ação dos inseticidas pode ser por contato ou ingestão e àqueles que agem por contato caracterizam-se pela sua atuação principal, quando é absorvido através do tegumento do inseto.

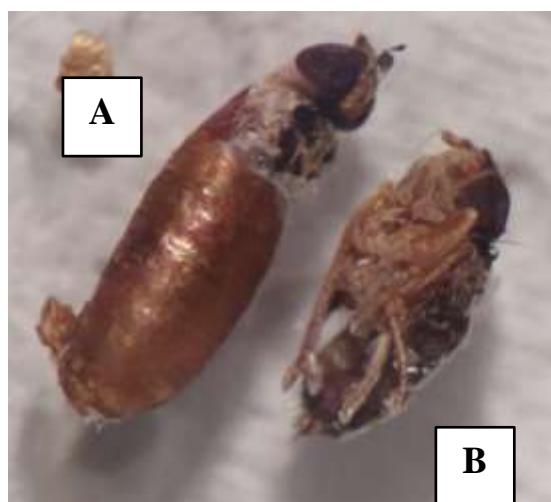


Figura 08: Mortalidade das pupas da *C. capitata* após a aplicação do óleo essencial da casca da *C. hastata*: a) adulto tentando emergir; b) inseto retirado da pupa que não houve emergência.

Segundo Silva *et al.* (2017), as propriedades biológicas dos glicosinolatos são atribuídas aos metabólitos resultantes da hidrólise enzimática (isotiocianatos e nitrilas) que têm demonstrado tanto efeitos benéficos, tais como atividades antifúngicas, inseticidas, herbicida, antiproliferativo e antibacteriana. Além disso, os autores afirmam que essa classe tem papel importante na defesa da planta contra insetos herbívoros, onde convertidos pela enzima mirosinase a isotiocianatos e nitrilas são tóxicas para o inseto agressor, quando o tecido vegetal é rompido. Ainda assim, Ayoma e Labinas (2012), mostram que os glicosinolatos apresentam função repelente, tóxica, irritante e antibiótico e são caracterizados como corrosivos e amargos, em especial os isotiocianatos.

Embora os isotiocianatos sejam compostos benéficos para os seres humanos, para os insetos considera-se que são compostos ofensivos à vida dos mesmos, devido à sua natureza eletrofílica e lipofílica (Valério, 2017). Segundo Morais e Marinho-Prado (2016), quanto maior a capacidade do composto em se ligar à camada lipídica (lipofilicidade), maior será a penetração deste no tegumento do inseto, onde estes podem ter ação fumigante, podem penetrar no interior do corpo do inseto como inseticida de contato, agir como repelentes ou afetar parâmetros biológicos e interferir na reprodução dos insetos. Em relação às nitrilas, sua função biológica ainda é pouco compreendida, (Valério, 2017; Carvalho *et al.*, 2021). De acordo com Vilela *et al.* (2021), o isotiocianato de alilo (AITC) apresenta ação fumigante de grãos no controle da infestação do caruncho (*Callosobruchus maculatus*) no feijão-caupi.

Sabe-se que dentre os sítios de ação dos inseticidas, estão os neurotóxicos que atuam na transmissão sináptica, inibindo a enzima acetilcolinesterase (AChE) no sistema nervoso central (Voris, 2018) e aumentando o nível de acetilcolina na sinapse

causando hiperexcitabilidade devido à transmissão contínua e descontrolada de impulsos nervosos: incluem tremores, convulsões e, eventualmente, colapso do sistema nervoso central e morte. Como exemplos de compostos químicos que são utilizados em agropecuária como inseticidas, estão os organofosforados e carbamatos. A acetilcolina é um mediador químico, necessário para transmissão dos impulsos nervosos, presente nos mamíferos e insetos e quando a AChE é inibida acontece paralisia do sistema nervoso central e morte dos insetos (Conceição, 2018). Os insetos resistentes apresentam mutações na conformação do sítio ativo da AChE, impedindo a ligação do inseticida com a enzima, não ocorrendo a inativação da mesma, diminuindo, assim, a sensibilidade por estes inseticidas (Voris, 2018).

Em conformidade, Carvalho *et al.* (2021), afirmam que o OE da *C. flexuosa*, espécie do mesmo gênero, apresentou forte inibição da acetilcolinesterase com IC_{50} 7,9 $\mu\text{g mL}^{-1}$, cujo resultado é correlacionado à presença dos isotiocianatos no óleo, com a identificação de 2-pentanona 4-hidroxi-4-metil (30,1 %); éster butílico de ácido acético (16,6 %); butanonitrilo, 3-metil (15,2 %); e isopropil isotiocianato (13,6 %).

Diante do exposto, acredita-se que os compostos majoritários identificados no OE da *C. hastata* durante essa pesquisa como o isopropil isotiocianato (25,88 %), hexanonitrilo (30,38 %), 4,4-dimetil-3-oxopentanitrilo (11,30 %) e 4-metilpentanonitrilo (7,20 %), agem como inseticida de contato, penetrando o tegumento e inibindo a AChE nos insetos, o que possivelmente pode ter levado a morte e o retardo das pupas.

Avaliação da toxicidade preliminar frente à *A. salina*

O microcrustáceo de água salgada, *A. salina* Leach é comumente adotada para ensaios de toxicidade devido à simplicidade de manuseio e baixo custo, favorecendo seu

uso em diversos estudos. Além disso, apresentam reduzida tolerância a alterações ambientais e alta especificidade a interferências externas, garantindo a expressão de resultados nítidos em face de pequenas variações de qualidade do ambiente (Lima *et al.*, 2019). Assim, é possível determinar por ensaios de toxicidade, a concentração letal mínima para causar a morte de 50% da população (CL_{50}) dos compostos bioativos.

O resultado do teste de toxicidade preliminar frente à *A. salina* está expresso na Tabela 03.

Tabela 03: Concentração letal 50 em $\mu\text{g mL}^{-1}$ do óleo essencial da casca do caule de *C. hastata* frente à *A. salina*.

Amostra	CL_{50} ($\mu\text{g mL}^{-1}$)	
	Após 24h	Após 48h
Óleo essencial (<i>Cynophalla hastata</i>)	4,45	4,45

Resultados expressos como média, ⁺.SD, n=3

A relação entre o grau de toxicidade e a concentração letal média (CL_{50}) apresentada por extratos de plantas (produtos naturais) sobre *A. salina* foi avaliada por MCLAUGHLIN, CHING-JER e SMITH (1993) e BONFIM *et al.* (2020). Os autores classificam de acordo com sua CL_{50} em três classes: que apresentam toxicidade baixa ($CL_{50} \geq 500 \mu\text{g mL}^{-1}$), toxicidade moderada ($CL_{50} 100 \geq 500 \mu\text{g mL}^{-1}$), elevada toxicidade ($CL_{50} < 100 \mu\text{g mL}^{-1}$). Diante disso, na avaliação, observou-se uma forte toxicidade do óleo essencial da casca da *C. hastata*, onde nas primeiras 24 horas causou uma CL_{50} de 4,45 $\mu\text{g mL}^{-1}$, com mortalidade de quase todos os náuplios. Devido a essa forte toxicidade, o método não apresentou sensibilidade suficiente para obter os resultados com desvio padrão de média e coeficiente de variância.

Como visto, conforme Carvalho *et al.* (2019) e Souza (2020), os glicosinolatos fazem parte das principais classes de metabólitos secundários encontrados na família Capparaceae, com a presença de enxofre em sua estrutura e como produtos de sua hidrólise estão os isotiocianatos e nitrilas que tem despertado interesse na medicina, devido ao seu potencial citotóxico em células cancerígenas, o que pode está atrelado a forte toxicidade em *Artemia salina*. Desse modo, os testes com artêmias são comumente correlacionados a atividade citotóxica, assim, uma amostra que é altamente tóxica em testes como esse, apresenta provavelmente bom potencial anticancerígeno, supondo que a espécie se demonstra promissora para a descoberta de novos fármacos antitumorais e inseticidas derivados de plantas para o controle de pragas.

Ao observar um dos únicos trabalhos acerca da espécie *C. hastata* realizado por Cordeiro (2017), os resultados da determinação da CL₅₀ da planta, com extrato bruto seco tanto das folhas, como da casca, mostraram que os extratos são atóxicos nas concentrações testadas frente a *A. salina*, que consolidou com o trabalho realizado por Melo *et al.* (2021), concluindo diante dos valores alcançados (CL₅₀ = 1.745,1415 µg mL⁻¹), que o extrato vegetal das folhas da *C. hastata* não possui toxicidade relevante.

Apesar disso, de acordo com Carvalho *et al.* (2021), o OE das vagens da *C. flexuosa*, espécie do mesmo gênero, apresentou alta toxicidade frente à *A. salina*, com CL₅₀ de 97,54 µg mL⁻¹, além de apresentar na análise fitoquímica, isotiocianatos e nitrilas, o que corrobora com os resultados do presente trabalho. A toxicidade dos isotiocianatos é atribuída à sua natureza eletrofílica e lipofílica, e por essa razão esse composto atravessa as membranas celulares e alcança o ambiente intracelular, além de apresentar em sua estrutura, o enxofre, conferindo maior toxicidade (Valério, 2017; Carvalho *et al.*, 2021).

Acrescenta-se que, os óleos essenciais e extratos vegetais diferenciam-se pelo método de extração utilizado, onde todos os órgãos do vegetal podem acumular OE, todavia, sua composição pode variar segundo sua localização na estrutura da planta (Zacarão, 2013).

À vista disso, é importante o desenvolvimento de novos estudos com a espécie, visando avaliar a toxicidade do óleo em animais superiores, uma vez que os testes com *A. salina* são utilizados para direcionar outros testes de toxicidade, por ser um método preliminar e de baixo custo (Tavares, 2021).

CONCLUSÃO

O óleo essencial da *C. hastata* revelou importantes classes químicas raras em óleos essenciais, com potencial extraordinário no controle de pragas (inseticidas) e para a produção de fármacos.

A pesquisa contribui para o conhecimento e conseqüente valorização de propriedades raras e raras da *C. hastata*, planta da Caatinga que ainda é pouco citada e discutida na literatura, principalmente no controle de pragas com inseticidas derivados de plantas.

AGRADECIMENTOS

Primeiramente a Deus por sabedoria e saúde. Ao IF Sertão-PE pela bolsa concedida. Profa. Elizângela Maria de Souza pela orientação do projeto. A técnica de laboratório Eliatânia e ao Prof. Vitor Lorenzo, pela disponibilização do Laboratório de Química para extração de óleos essenciais. Ao Prof. Rodolfo Peixoto por possibilitar a análise química do óleo essencial. Ao Prof. Diego Melo pela interpretação dos dados de

composição química do óleo essencial. Ao Prof. Fábio Nascimento pela ajuda nas estatísticas. Ao Mestrando Yuri Tavares pela ajuda no teste de toxicidade em *A. salina*. Ao Laboratório de Bioquímica/NEPLAME da Universidade Federal do Vale do São Francisco, em nome do Prof. Jackson Guedes e a Profa. Ana Paula. À Moscamed, por disponibilizar as larvas, principalmente a Técnica Miriam. Ao CRAD (Centro de Referência Para Recuperação de Áreas Degradadas da Caatinga) da UNIVAFS, em nome do Prof. José Alves S. Filho e ao discente Leonardo Feijó (IFSertãoPE) pela identificação da *C. hastata* e fornecimento do nº do voucher.

REFERÊNCIAS

- Aoyama EM & Labinas AM (2012) Características estruturais das plantas contra a herbivoria por insetos. Enciclopédia Biosfera, Centro Científico Conhecer, Goiânia, 8:365-386.
- Bessa CMAS (2017) Isolamento, caracterização e aplicação de metabólitos secundários de folhas de *Anadenanthera colubrina* var. cebil (Griseb) Altschul (Fabaceae: Mimosoideae). Tese (doutorado). Universidade Federal de Pernambuco. Recife. 163p.
- Bonfim EMS, Santos TG, Carneiro ASO, Silva MC, Marques EJ & Vale VLC (2020) Antimicrobial, antioxidant and cytotoxic activities and chemical profile of species of *Miconia* Ruiz & Pav., *Clidemia* D. Don and *Tibouchina* Aubl.(Melastomataceae). *Journal of Medicinal Plants Research*, 14(1):1-6.
- Cartaxo PHA (2020) Óleos essenciais no controle de *Ceratitis capitata* (Diptera: Tephritidae). Monografia (Graduação). Universidade Federal da Paraíba/CCA, Areia, 34 p.
- Carvalho NKG, Camilo C J, Mendes J W S, Nonato CFA, Dantas AR, Leite DOD, Lima DS, Dias FJ, Teixeira VF, Rodrigues FFG & Costa JGM (2019) Caracterização química e toxicidade do óleo essencial de *Cynophalla flexuosa* (L.) J. Presl. In: 10º Simpósio Brasileiro de óleos essenciais. Brasília, DF. p. 28-29.
- Carvalho NKG, Camilo CJ, Nonato CFA, Leite DOD, Rodrigues FFG, Alves DR, Morais SM & Costa JGM (2021) Essential Oil of *Cynophalla flexuosa* and its; Cytotoxicity, Antioxidant, and Anti-Acetylcholinesterase Effect. *Chemistry of Natural Compounds*, 3:480-482.

Conceição ND (2018) Estudo in silico de compostos marjoritários das espécies *Drimys angustifolia* e *Drimys brasiliensis* inibidores da enzima acetilcolinesterase com potencial atividade inseticida. Trabalho de Conclusão de Curso. Universidade Federal do Amapá. Macapá. 45 p.

Cordeiro BA (2017) Avaliação antimicrobiana e análise toxicológica a partir do extrato bruto seco das folhas e da casca de feijão-bravo (*Cynophalla hastata* (jacq.) J. Presl). Trabalho de Conclusão de Curso. Centro Universitário Tabosa de Almeida/ASCES-UNITA.

Fazolin M, Estrela JLV, Monteiro AFM, Silva IM & Gomes LP (2017) Sinérgico alternativo para inseticidas inibidores de acetilcolinesterase. Revista Agro@ambiente On-line, 11(3):232-240.

Gallo D, Nakano O, Neto SS, Carvalho RPL, Batista GC, Filho EB, Parra JRD, Zucchi RA, Alves SG, Vendramim JD, Marchini LC, Lopes JRS & Omoto C (2002) Manual de Entomologia Agrícola. Vol. 10. São Paulo - SP: Agronômica Ceres. 531 p.

Gonzaga KS (2019) Óleos essenciais e fungos no manejo de mosca-das-frutas (*Ceratitis capitata*) (wied, 1824) e influência na qualidade de frutos da goiabeira. Dissertação (Mestrado). Universidade Federal da Paraíba/Centro de Ciências Agrárias Areia, 60 p.

Leandro RS (2019) Letalidade de *Ceratitis capitata* (WIEDEMANN) (DIPTERA: TEPHRITIDAE) submetida a diferentes extratos vegetais. Tese (Doutorado). Universidade Federal da Paraíba/CCA, Areia. 41p.

Leite AS, Costa DR, Ribeiro AEL, Moreira AA, Sá Neto RJ & Castellani MA (2019) Preferência na oviposição e performance biológica de *Ceratitis capitata* em frutos de Anacardiaceae, Cactaceae e Vitaceae. Arquivos do Instituto Biológico, 86:1-8.

Lima MFF, Silva JWSA, Silva JK, Moura AHN, Lopes RLF & Cordeiro BA (2019) Avaliação toxicológica através do bioensaio com *Artemia salina* Leach de espécimes vegetais pertencentes à Caatinga. Brazilian Journal of Health Review, Curitiba, 2:5950-5963.

Mclaughlin JL, Ching-Jer C & Smith DL (1993) Simple Bench-Top Bioassays (Brine Shrimp and Potato Discs) for the Discovery of Plant Antitumor Compounds Review of Recent Progress. In: Human Medicinal Agents from Plants; Kinghorn. [s.l: s.n.]. 112-137.

Melo ERD, Silva JG, Nascimento ER, Fraga GGAS, Santos MLS, Assis PV, Silva SMF & Cordeiro RP (2021) Avaliação toxicológica através do bioensaio com *Artemia salina* Leach e determinação da fragilidade osmótica eritrocitária de espécimes vegetais pertencentes à Caatinga. Brazilian Journal of Development, Curitiba, 7:71959-71976.

Meyer BN, Ferrigni NR, Putnam JE, Jacobsen LB, Nichols DE & Mclaughlin JL (1982) Brine shrimp: A conveniente general bioassay for active plant constituents. Planta Medica, 45:31-34.

Morais LAS & Marinho-Prado JS (2016) Plantas com Atividade Inseticida. Defensivos agrícolas naturais: uso e perspectivas. Embrapa, p. 542-593.

Pereira EBSS, Souza EM, Costa EC, Lorenzo VP & Jesus FN (2022) Atividade larvicida do extrato aquoso e do hidrolato das folhas de *Anadenanthera colubrina* (Vell.) Brenan sobre o *Aedes aegypti* L. (Diptera: Culicidae). Revista Semiárido De Visu, 1:32-45.

Ribeiro SM, Bonilla OH & Lucena EMP (2018) Influência da sazonalidade e do ciclo circadiano no rendimento e composição química dos óleos essenciais de *Croton* spp. da Caatinga. Iheringia, Série Botânica, Porto Alegre, 73:31-38.

Santos RP (2019) Potencial inseticida de plantas encontradas na Caatinga sobre *Ceratitis capitata* (Diptera: Tephritidae). Trabalho de Conclusão de Curso. IFSertãoPE Campus Petrolina Zona Rural, Petrolina, 31p.

S. Braga e Silva S, Sato ME, Raga A (2019) Uso de extratos naturais no controle de insetos, com ênfase em moscas-das-frutas (Diptera: Tephritidae). Biológico, 81:1-30.

Sá MS, Silva JRN & Santos KL (2020) Perfil fitoquímico do extrato foliar de plantas de uso forrageiro e medicinal na caatinga: verificação da sua efetividade. In: V Congresso Internaonal das Ciências Agrárias - COINTER PDVAgro. Recife. 20 p.

Silva CP, Ricci TG, Arruda AL, Pagliosa FM & Macedo MLR (2017) Extratos Vegetais de Espécies de Plantas do Cerrado SulMatogrossense com Potencial de Bioherbicida e Bioinseticida: Plants Extract from Cerrado Sul-Matogrossense with Bioherbicide and Bioinsectice Potential. Uniciências, Paraná, 21:25-34.

Souza TA (2020) Estudo fitoquímico de *Neocalyptocalyx longifolium* Mart. Cornejo & Iltis (Capparaceae). Dissertação de Mestrado. Universidade Federal da Paraíba, João Pessoa-PB. 99p.

Souza EM, Pereira EBSS & Miranda IS (2021) CAPPARACEAE (Feijão-bravo). In: Souza E. M. (Organizadora). Plantas da Caatinga: um olhar multidisciplinar. IFSertãoPE – Petrolina, PE, p. 94-98.

Tavares YKC (2021) Agentes bacterianos da Caatinga: um estudo fito- químico e biológico de *Lippia grata* e *Lantana cf. pohliana*. Trabalho de Conclusão de Curso. IFSertãoPE Campus Petrolina Zona Rural, Petrolina, 71p.

Valério SH (2017) Glicosinolatos: Estrutura Química, Mecanismo de Ativação Enzimática e Atividade Biológica. Monografia (Graduação). Universidade Federal São João Del-Rei, 24p.

Vilela AO, Faroni LRA, Gomes JL, Sousa AH, Cecon PR (2021) Allyl isothiocyanate as a fumigant in the cowpea and its effect on the physical properties of the grain. Revista Ciência Agronômica, v. 52, n. 3.

Voris DGR (2018) Estudos etnofarmacológicos de óleos essenciais como inseticidas e repelentes contra o mosquito *Aedes aegypti*. Dissertação (Mestrado). Instituto Militar de Engenharia, Rio de Janeiro, 101p.

Zacarão PC (2013) Estudo da propriedade antimicrobiana dos óleos essenciais de alho (*Allium sativum*), pimenta do reino (*Piper nigrum*) e pimenta rosa (*Schinus molle*) para aplicação em cortes de frango temperados. Trabalho de Conclusão de Curso. Universidade do Extremo Sul Catarinense – UNESC, Criciúma/SC, 12p.

REFERÊNCIA

IFSertãoPE. **Manual de Elaboração do Trabalho de Conclusão de Curso**. Petrolina, PE, 2015. Disponível em: <https://www.ifsertao-pe.edu.br/index.php/cursos/superiores/petrolina-zona-rural/agronomia> . Acesso em: mai. 2022.

ANEXOS

ANEXO 1 - Comprovante de submissão do artigo a Revista CERES.

Submission Confirmation



Thank you for your submission

Submitted to: Revista Ceres
Manuscript ID: RCERES-2022-0111
Title: BIOACTIVITY OF WILD-BEAN ESSENTIAL OIL (*Cynophalla hastata*) AGAINST FRUIT-FLY (*Ceratitis capitata*) AND ITS TOXICITY IN *Artemia salina*
Authors: Souza Silva Pereira, Emanuela de Souza, Elizângela DE CARVALHO, ANDREA NUNES Clementino Costa, Eliatânia Tavares, Yuri Kelvin de Jesus, Fábio
Date Submitted: 26-May-2022

Revista Ceres

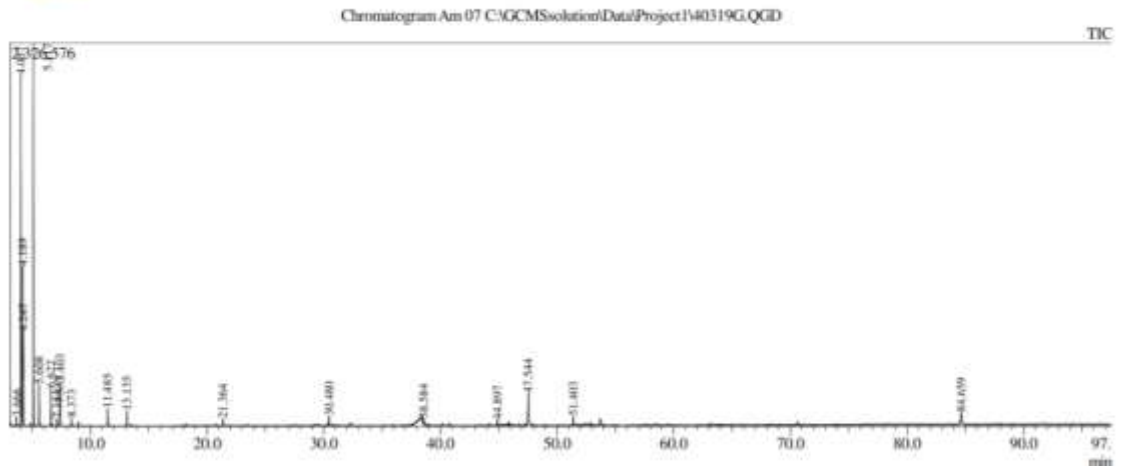


BIOACTIVITY OF WILD-BEAN ESSENTIAL OIL (*Cynophalla hastata*) AGAINST FRUIT-FLY (*Ceratitis capitata*) AND ITS TOXICITY IN *Artemia salina*

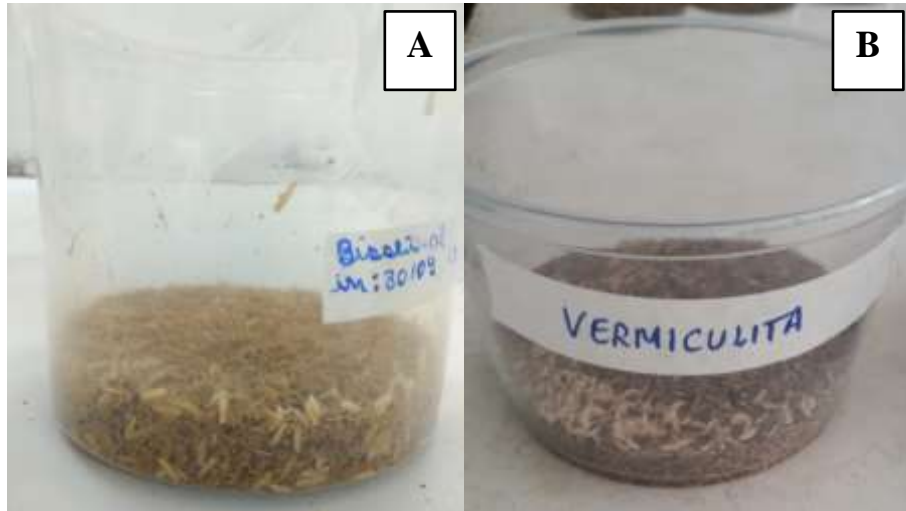
Journal:	Revista Ceres
Manuscript ID:	RCERES-2022-0111
Manuscript Type:	Original Article
Areas of Expertise:	Essential oils < Medicinal plants < Crop Production, Chemistry of natural products < Medicinal plants < Crop Production
Keyword:	bio extract, diptera, toxic effect, insecticidal potential, pupa

SCHOLARONE™
Manuscripts

ANEXO 2 – Resultado da análise química do óleo essencial, realizada na Universidade de São Paulo.



ANEXO 3 - Obtenção das larvas e pupas de *Ceratitis capitata*: a) larvas no 3º instar em alimentação; b) larvas na vermiculita, simulando o solo. **Fonte:** Autoria própria.



ANEXO 4 – Adulto de *Ceratitis capitata*: a) fêmea (ovopositor); b) macho. **Fonte:** Autoria própria.

