

**UNIVERSIDADE VILA VELHA - ES**  
**PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BIOTECNOLOGIA VEGETAL**

**ROQUE ALVES DA SILVA JÚNIOR**

**COMPOSIÇÃO QUÍMICA E TOXICIDADE DO ÓLEO ESSENCIAL DE  
*TITHONIA DIVERSIFOLIA* (HEMSL.) A. GRAY (ASTERACEAE) EM PRAGAS  
AGRÍCOLAS**

**VILA VELHA**  
**2024**

**ROQUE ALVES DA SILVA JÚNIOR**

**COMPOSIÇÃO QUÍMICA E TOXICIDADE DO ÓLEO ESSENCIAL DE  
*TITHONIA DIVERSIFOLIA* (HEMSL.) A. GRAY (ASTERACEAE) EM PRAGAS  
AGRÍCOLAS**

Tese apresentada à Universidade Vila Velha, como pré-requisito do Programa de Pós-graduação em Biotecnologia Vegetal, para a obtenção do grau de Doutor em Biotecnologia Vegetal.

**VILA VELHA  
2024**

Catálogo na publicação elaborada pela Biblioteca Central / UVV-ES

S586c Silva Junior, Roque Alves da.  
Composição química e toxicidade do óleo essencial de *Tithonia diversifolia* (Hemsl.) A. Gray (Asteraceae) em pragas agrícolas / Roque Alves da Silva Junior – 2024.  
91 f. : il.

Orientador: Tadeu Uggere de Andrade  
Coorientador: Hugo Bolsoni Zago.  
Tese (doutorado em Biotecnologia Vegetal) - Universidade Vila Velha, 2024.  
Inclui bibliografias.

1. Biotecnologia Vegetal. 2. Óleo essencial. 3. Ecologia agrícola. I. Andrade, Tadeu Ugere de. II. Zago, Hugo Bolsini. III. Universidade Vila Velha. IV. Título.

CDD 660.60

**ROQUE ALVES DA SILVA JÚNIOR**

**COMPOSIÇÃO QUÍMICA E TOXICIDADE DO ÓLEO  
ESSENCIAL DE *TITHONIA DIVERSIFOLIA* (HEMSL.) A. GRAY  
(ASTERACEAE) EM PRAGAS AGRÍCOLAS**

Tese apresentada à Universidade Vila Velha, como pré-requisito do Programa de Pós-graduação em Biotecnologia Vegetal, para a obtenção do grau de Doutor em Biotecnologia Vegetal.

Aprovada em 19 de Julho de 2024,

Banca Examinadora:

---

**Dr (a). Karla Oliveira dos Santos Cassaro (MULTIVIX)**

---

**Dr (a). Christiane Mielib Vasconcelos (UVV)**

---

**Dr. Kenner Moraes Fernandes (UFES)**

---

**Dr. Hugo Bolsoni Zago (UFES)**  
Coorientador

---

**Dr. Tadeu Uggere de Andrade (UVV)**  
Orientador

Documento original assinado eletronicamente, conforme MP 2200-2/2001, art. 10, § 2º, por:

**ROQUE ALVES DA SILVA JUNIOR**

CIDADÃO

assinado em 23/07/2024 15:04:30 -03:00

**TADEU UGGERE DE ANDRADE**

CIDADÃO

assinado em 23/07/2024 15:56:34 -03:00

**KARLA OLIVEIRA DOS SANTOS CASSARO**

CIDADÃO

assinado em 23/07/2024 16:17:12 -03:00

**CHRISTIANE MILEIB VASCONCELOS**

CIDADÃO

assinado em 24/07/2024 15:29:26 -03:00

**HUGO BOLSONI ZAGO**

CIDADÃO

assinado em 23/07/2024 15:15:17 -03:00

**KENNER MORAIS FERNANDES**

CIDADÃO

assinado em 23/07/2024 15:09:15 -03:00



**INFORMAÇÕES DO DOCUMENTO**

Documento capturado em 24/07/2024 15:29:26 (HORÁRIO DE BRASÍLIA - UTC-3)

por ROQUE ALVES DA SILVA JUNIOR (CIDADÃO)

Valor Legal: ORIGINAL | Natureza: DOCUMENTO NATO-DIGITAL

A disponibilidade do documento pode ser conferida pelo link: <https://e-docs.es.gov.br/d/2024-50QQJ9>

## AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente aos meus pais Roque Alves da Silva e Maria Schmidt Alves da Silva (*in memoriam*) por toda inspiração para o campo da ciência e respeito a natureza. À minha esposa Mariana Carneiro Capucho por todo apoio e paciência para a aquisição deste sonho, à Ana Luiza Haddman por todo cuidado a mim e meus queridos irmãos.

À toda equipe, professores e colegas do Programa de Pós graduação de Biotecnologia Vegetal, em especial ao meu orientador Prof. Tadeu Uggere de Andrade , a coordenadora Christiane Mileib Vasconcelos, ao meu coorientador Prof. Hugo Bolzoni Zago e todos os colegas do Núcleo de Desenvolvimento Científico e Tecnológico em Manejo Fitossanitário de Pragas e Doenças (NUDEMAFI), da UFES campus de Alegre, em especial ao Dr. Kenner Moraes Fernandes, Rodrigo Agostinho Marcos, Felipe Garcia Holtz, Thaize Altoé, Ana Beatriz Mamedes Piffer e Ricardo Schmidt Neto por me auxiliar na escolha do tema trabalhado neste projeto.

À FAPES pelo apoio com a bolsa de estudos e Secretaria de Educação (SEDU) pelo apoio com o programa de redução da minha carga horária como professor da rede para concluir meus estudos, além de minha remoção temporária para o município de Alegre para a realização dos experimentos no campus da UFES. À Madalena Capucho que me proporcionou um ambiente agradável e uma ótima companhia por todos os meses que estive longe da família e dos amigos, à equipe de professores e coordenadores da Escola Renato Pacheco em especial ao diretor Diassis de Cássia Ximenes, à coordenadora Andreia Rocha Miranda Dutra, à professora Djenane Soares Alves e aos meus queridos alunos

## RESUMO

SILVA JÚNIOR, Roque Alves da Silva, D.Sc, Universidade Vila Velha - ES, julho de 2024. **Composição química e toxicidade do óleo essencial de *Tithonia diversifolia* (Hemsl.) A. Gray (Asteraceae) em pragas agrícolas** Orientador: Tadeu Uggere de Andrade. Co-orientador: Hugo Bolsoni Zago

O óleo essencial de *Tithonia diversifolia* (Asteraceae), tem sido objeto de investigação recente na agricultura devido às suas potenciais propriedades inseticidas/acaricidas no controle de pragas agrícolas, mas apesar dos pesticidas botânicos serem considerados menos perigosos que os pesticidas químicos, sua toxicidade e eficiência precisam ser avaliadas. O propósito deste estudo foi analisar a composição química do óleo essencial das folhas de *Tithonia diversifolia* extraído por hidrodestilação, avaliar sua toxicidade em mamíferos utilizando *Caenorhabditis elegans* como modelo animal e investigar sua atividade pesticida por fumigação no controle do ácaro-rajado (*Tetranychus urticae*) e gorgulho-do-milho (*Sitophilus zeamais*) propondo a descoberta de moléculas de origem vegetal com eficiência pesticida. Os resultados obtidos por cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massas revelaram a presença majoritária de 32,67% de  $\beta$ -Pinoeno, 24,74% de  $\alpha$ -Pinoeno e 22,69% de Limoneno na composição do óleo essencial de *Tithonia diversifolia*, compostos já descritos na literatura como promissores no controle de pragas agrícolas. Os resultados obtidos nos testes de toxicidade e desenvolvimento com o modelo animal de *Caenorhabditis elegans* revelaram que o óleo essencial de *Tithonia diversifolia* não apresentou toxicidade e não alterou o desenvolvimento do nematoide nas concentrações utilizadas. Os ensaios por fumigação revelaram 52% de mortalidade no ácaro-rajado na concentração de 20 $\mu$ L/litro de ar e 96% em 80 $\mu$ L/litro de ar. Apesar dos ensaios em *Sitophilus zeamais* não apresentarem mortalidade nos insetos, os testes avaliando sua repelência apresentou resultados promissores com índice de repelência próximo a 100% na concentração de 10  $\mu$ L/L de ar. Esse estudo demonstra que o óleo essencial de *T. diversifolia* apresenta atividade contra as pragas agrícolas avaliadas e atoxicidade em mamíferos nas concentrações utilizadas.

**Palavras-chave:** *Tithonia diversifolia*, pesticidas botânicos, agroecologia, toxicidade, terpenos.

## ABSTRACT

SILVA JÚNIOR, Roque Alves, D.Sc, Vila Velha University - ES, July 2024. **Chemical composition and toxicity of the essential oil from *Tithonia diversifolia* (Hemsl.) A. Gray (Asteraceae) in agricultural pests.** Advisor: Tadeu Uggere de Andrade. Co-advisor: Hugo Bolsoni Zago

The essential oil of *Tithonia diversifolia* (Asteraceae) has been the subject of recent investigation in agriculture due to its potential insecticidal/acaricidal properties for pest control. Despite botanical pesticides being considered less hazardous than chemical pesticides, their toxicity and efficiency need evaluation. The purpose of this study was to analyze the chemical composition of *Tithonia diversifolia* leaf essential oil extracted by hydrodistillation, assess its toxicity in mammals using *Caenorhabditis elegans* as an animal model, and investigate its pesticidal activity via fumigation against the two-spotted spider mite (*Tetranychus urticae*) and maize weevil (*Sitophilus zeamais*), aiming to discover plant-derived molecules with pesticidal efficacy. Gas chromatography coupled with mass spectrometry revealed  $\beta$ -Pinene (32.67%),  $\alpha$ -Pinene (24.74%), and Limonene (22.69%) as the major constituents in *Tithonia diversifolia* essential oil, compounds previously noted in the literature for their promise in agricultural pest control. Toxicity and development tests using the *Caenorhabditis elegans* model showed no toxicity or developmental alterations at the concentrations tested. Fumigation assays demonstrated 52% mortality in the two-spotted spider mite at 20  $\mu$ L/liter of air and 96% at 80  $\mu$ L/liter of air. Although *Sitophilus zeamais* assays did not show significant mortality, repellency tests yielded promising results with a repellency index near 100% at 10  $\mu$ L/L of air concentration. This study demonstrates that *T. diversifolia* essential oil exhibits activity against the evaluated agricultural pests and is non-toxic to mammals at the concentrations tested.

**Keywords:** *Tithonia diversifolia*, botanical pesticides, agroecology, toxicity, terpenes.

## LISTA DE ILUSTRAÇÕES

<b>Figura 1.</b> Inluorecência de <i>Tithonia diversifolia</i> .....	19
<b>Figura 2.</b> Planta de <i>Tithonia diversifolia</i> .....	19
<b>Figura 3.</b> Ácido 3,5- dicafeoilquínico de <i>Tithonia diversifolia</i> .....	20
<b>Figura 4.</b> Ácido gálico e ácido elágico, precursores dos taninos hidrolisáveis.....	21
<b>Figura 5.</b> Estrutura química da Tagitinina C de <i>Tithonia diversifolia</i> .....	22
<b>Figura 6.</b> Ciclo de vida e características morfológicas do Ácaro-rajado ( <i>Tetranychus urticae</i> ).....	31
<b>Figura 7.</b> Sintomas e danos causados pelo ácaro-rajado <b>A-</b> Morangueiro altamente infestado pelo ácaro, com folhas bronzeadas e frutos mal desenvolvidos; <b>B</b> – Planta coberta com teia confeccionada pelo ácaro; <b>C</b> – Evolução do ataque, com folhas bronzeadas e secas; <b>D</b> – Detalhe dos ácaros nas folhas.....	32
<b>Figura 8.</b> Estrutura química da abamectina.....	33
<b>Figura 9.</b> Ciclo de vida e características morfológicas do Gorgulho-do-milho ( <i>Sitophilus zeamais</i> ).....	38
<b>Figura 10.</b> Sintomas e danos causados pelo gorgulho-do-milho ( <i>Sitophilus zeamais</i> ) em grãos de milho. ....	39
<b>Figura 11.</b> Estrutura química do clorpirifós.....	39
<b>Figura 12.</b> Câmara de fumigação para teste de toxicidade em <i>T. urticae</i> .....	47
<b>Figura 13.</b> Arenas para teste de repelência em <i>S. zeamais</i> do óleo essencial de <i>T. diversifolia</i> por fumigação.....	48
<b>Figura 14.</b> Sobrevivência e análises de desenvolvimento dos nematoides e após o protocolo de tratamento. <b>Painel A:</b> imagens obtidas em microscópio óptico com aumento de 10x do nematoide <i>C. elegans</i> após teste de toxicidade aguda das diferentes substâncias avaliadas. <b>Painel B:</b> barra gráfica da taxa de sobrevivência dos nematoides após 30 minutos de contato com as diferentes substâncias analisadas. <b>Painel C:</b> avaliação da área corporal dos animais após exposição aos diferentes tratamentos. Controle (C), Levamisol (L), D (DMSO), óleo de Neem (N), Vertimec® (V), óleo essencial de <i>T. diversifolia</i> na concentração de 0,3µL (T0,3) e 30µL (T30). Foi utilizada ANOVA unidirecional seguida pelo teste t de Tuckey. Os dados são expressos como média ± desvio padrão. Colunas identificadas pelas mesmas	

letras não são estatisticamente significativas ao nível de 5% de probabilidade.  
P<0.....52

**Figura 15.** Mortalidade do ácaro-rajado, *T. urticae* pelo óleo essencial de *T. diversifolia* após 48 horas de exposição em temperatura de  $25 \pm 1$  °C, U.R.  $70 \pm 10\%$  e fotofase de 12 h.....53

**Figura 16:** Efeito do óleo essencial de *T. diversifolia* sobre *S. zeamais*. **A** - índice de repelência com livre chance de escolha por *S. zeamais* em relação as diferentes concentrações do óleo essencial de *T. diversifolia* e **B** - porcentagem de insetos presentes no centro da arena (C) e nas diferentes arenas contendo concentrações do óleo essencial. Dados submetidos a análise de análise de variância de uma via (ANOVA), seguido pelo teste *Tukey* para comparações múltiplas. Letras diferentes indicam diferenças significativas ( $p<0,05$ ) .....54

## LISTA DE TABELAS

**Tabela 1.** Propriedades físicas e químicas da abamectina .....344

**Tabela 2.** Toxicidade da abamectina para alguns seres vivos .....36

**Tabela 3.** Condições climáticas locais no momento da coleta das folhas de *T. diversifolia*. Os dados são as médias de três repetições  $\pm$  seu desvio padrão. Onde a temperatura foi aferida em graus Celsius( $^{\circ}$ C), umidade relativa em porcentagem (%), velocidade do vento em metros por segundo (m/s), radiação solar em quilojoules por metro quadrado (KJ/m<sup>2</sup>) e precipitação em milímetros por metro quadrado .....49

**Tabela 4.** Resultados obtidos através da análise de solo e folhas de *T. diversifolia*. Os dados são as médias de três repetições  $\pm$  seu desvio padrão. Onde mg/dm<sup>3</sup> significa miligramas por decímetro cúbico, cmol c/dm<sup>3</sup> significa centimol por decímetro cúbico, dag/Kg significa decagrama por quilograma, g/Kg significa gramas por quilograma e mg/Kg significa miligramas por quilograma .....500

**Tabela 5.** Resultados da análise cromatográfica do óleo essencial das folhas de *T. diversifolia*.....500

# SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO .....	14
2. REVISÃO DA LITERATURA.....	16
2.1) Inseticidas botânicos.....	16
2.2) Caracterização botânica de <i>Tithonia diversifolia</i> .....	18
2.3) Composição química foliar de <i>Tithonia diversifolia</i> .....	22
2.4) Usos de <i>Tithonia diversifolia</i> :.....	22
2.4.1) Ação de <i>T. diversifolia</i> na agricultura como fertilizante.....	22
2.4.2) Ação <i>T. diversifolia</i> na agricultura como biopesticida .....	23
2.4.3) Ação de <i>T. diversifolia</i> como fonte de alimentação animal.....	25
2.4.4) Ação etnofarmacológica de <i>T. diversifolia</i> .....	26
2.5) <i>Caenorhabditis elegans</i> .....	29
2.6) Pragas agrícolas.....	30
2.7) Ácaro-rajado ( <i>Tetranychus urticae</i> ): Ciclo de vida e danos causados em culturas agrícolas.....	31
2.8) Estratégias de manejo químico do ácaro-rajado ( <i>Tetranychus urticae</i> ).....	33
2.9) Gorgulho-do-milho ( <i>Sitophilus zeamais</i> ): Ciclo de vida e danos causados em grãos armazenados.....	37
2.10) Estratégias de manejo químico do Gorgulho-do-milho ( <i>Sitophilus zeamais</i> )..	39
3. OBJETIVOS .....	40
3.1) Objetivo geral.....	40
3.2) Objetivos específicos.....	40
4. METODOLOGIA.....	41
4.1) Coleta de plantas e identificação etnobotânica.....	41
4.2) Dados edafoclimáticos.....	41
4.3) Análise foliar.....	42
4.4) Extração e análise do óleo essencial.....	42
4.5) Obtenção e criação de <i>T. urticae</i> .....	43
4.6) Obtenção e criação de <i>S. zeamais</i> .....	43
4.7) Ensaio.....	44
4.7.1) Ensaio de toxicidade no modelo animal <i>Caenorhabditis elegans</i> .....	44
4.7.2) Ensaio de toxicidade sobre <i>T. urticae</i> do óleo essencial de <i>T. diversifolia</i> via fumigação.....	46

4.7.3) Ensaio de toxicidade em <i>S. zeamais</i> do óleo essencial de <i>T. diversifolia</i> via fumigação.....	47
4.7.4) Ensaio de repelência em <i>S. zeamais</i> do óleo essencial de <i>T. diversifolia</i> via fumigação.....	47
4.8) Análise estatística.....	48
5. RESULTADOS.....	49
5.1) Dados edafoclimáticos e análise foliar de <i>T. diversifolia</i> .....	49
5.2) Análise química do óleo essencial.....	50
5.3) Ensaio de toxicidade e desenvolvimento utilizando o modelo animal <i>Caenorhabditis elegans</i> .....	51
5.4) Ensaio da atividade acaricida em <i>T. urticae</i> do óleo essencial de <i>T. diversifolia</i> via fumigação .....	52
5.5) Ensaio da atividade repelente em <i>S. zeamais</i> do óleo essencial de <i>T. diversifolia</i> via fumigação .....	53
6. DISCUSSÃO.....	54
7. CONCLUSÃO.....	60
8. REFERÊNCIAS.....	61

## 1. INTRODUÇÃO

O agronegócio é uma das principais atividades econômicas do mundo. A sua aplicabilidade estratégica assegura a disponibilidade de alimentos para os seres humanos e garante uma importante fonte de rendimento para milhões de pessoas. No entanto, esta atividade sofre enormes perdas causadas por aproximadamente 50.000 espécies de pragas, incluindo aproximadamente 9.000 espécies de insetos e ácaros (Zikankuba et al., 2019). Entre essas pragas destacam-se o ácaro-rajado (*Tetranychus urticae*), um fitoparasita de distribuição cosmopolita responsável por enormes prejuízos em mais de cem culturas agrícolas, principalmente (TABASHNIK et al., 2014), abacaxi, feijão, milho, melancia, maracujá entre outras de enorme importância econômica na agricultura tropical (Adesanya et al., 2021) e o gorgulho do milho (*Sitophilus zeamais*), principal praga de grãos, sementes e cereais em instalações de armazenamento como milho, arroz, sorgo, trigo e mandioca e acarretando em perdas quantitativas e qualitativas prejudicando a comercialização dos mesmos (Zhang et al., 2020).

Os pesticidas químicos são atualmente os mais comumente métodos utilizados para o controle de pragas agrícolas, mas são rotineiramente desafiados pelo desenvolvimento de resistência em pragas (Tabashnik et al., 2014), intoxicação humana (Rajmohan et al., 2020) e pelo impacto a organismos não alvo (Shimizu et al., 2022) quando utilizados fora dos padrões estabelecidos pelos órgãos reguladores.

De acordo com o relatório das Organização das Nações Unidas para a Alimentação e a Agricultura de 2022 (FAO), para aumentar a produtividade e reduzir as perdas causadas por doenças e pragas cerca de 2 milhões de toneladas de pesticidas são anualmente aplicadas em culturas em todo mundo sendo Brasil, Estados Unidos e China os mais utilizadores de pesticidas na agricultura mundial. Em 2020, as Américas, especialmente o Brasil, importaram o maior volume de pesticidas de outras regiões do mundo, no valor de US\$ 6,9 milhões (FAO). Devido às condições climáticas do Brasil, inseticidas/acaricidas tem ganhado destaque, sendo organofosforados, carbamatos, piretróides e avermectinas os mais comumente utilizados (Pignati et al., 2017).

A busca por compostos seguros e eficazes de fontes naturais, especialmente compostos derivados de plantas, tem sido incentivada nos últimos anos na agricultura como alternativa ao uso de produtos químicos tradicionais (Alonso-Gato et al., 2021). Nesse sentido, o óleo

essencial de diversas plantas tem apresentado resultados promissores no controle de pragas agrícolas (Silva e Farias, 2020; Pedrotti et al., 2019). Um exemplo é o óleo de neem, um biopesticida utilizado para controlar artrópodes que é considerado menos tóxicos que os produtos químicos tradicionais (Korkmaz e Örün, 2021), porém utilizado em pequena escala. Os óleos essenciais são metabólitos secundários vegetais com características voláteis e aromáticas obtidos de partes não lenhosas que contêm monoterpenos, diterpenos, sesquiterpenos e terpenóides em sua composição (Micić, et al., 2019) e funcionam na defesa das plantas contra fungos, artrópodes e herbívoros (Aslam et al., 2022) sendo mitos reconhecidos pela sua ação inseticida (Ma et al., 2020) e repelente (Pang et al., 2020; Santana et al., 2022).

O óleo essencial de uma mesma espécie vegetal pode variar em termos de composição química e rendimento (Da Cruz; Brandelli, 2017). Dependendo do local onde o material vegetal é coletado, o tipo de solo, clima, órgão da planta, idade, estágio do ciclo vegetativo e fatores abióticos como estresse hídrico podem afetar a concentração de metabólitos secundários, bem como a morfologia e características fisiológicas e conseqüentemente a ação bioativa do óleo (Monteiro, 2023).

Diversas famílias botânicas são consideradas importantes na produção de óleos essenciais bioativos. Em Asteraceae, *Tithonia diversifolia* demonstrou atividade biopesticida em estudos de laboratório e de campo, tornando-se uma alternativa promissora para o controle de diversos insetos e ácaros (Githinji et al., 2021). Outros estudos mostraram uma atividade repelente interessante do óleo essencial de *T. diversifolia* contra *Anopheles coluzzii* (Akeumbiwo et al., 2023), carrapatos (Maina et al., 2018) e pulgas (Wanzala et al., 2018), mas até agora, sua toxicidade em humanos para determinar seu uso seguro como biopesticida não foi avaliada.

Embora os modelos de mamíferos sejam a melhor opção para estudos de toxicidade devido à sua proximidade filogenética com os humanos, eles apresentam limitações, como implicações éticas, alto custo e infraestrutura de criação complexa (Lucanic et al., 2018). Para estas razões, modelos de invertebrados apresentam vantagens consideráveis, entre as quais o primeiro organismo multicelular a ter seu genoma totalmente sequenciado, o nematóide *Caenorhabditis elegans*, se destaca. Além da facilidade de manutenção em laboratório, curto ciclo de vida e genoma bem caracterizado (Salzer e Witting 2021), foi determinado que 38% dos genes codificadores de nematóides são ortólogos aos genes do

genoma humano (Silva, 2022) e que 60 a 80% dos genes humanos possuem um ortólogo no genoma de *C. elegans* (Hunt, 2017). Portanto, *C. elegans* se tornou um organismo modelo confiável para avaliar a toxicidade potencial de várias substâncias em humanos.

O objetivo deste estudo foi analisar a composição química do óleo essencial de *Tithonia diversifolia*, avaliar sua segurança como biopesticida comparando sua toxicidade com o biopesticida óleo de neem e o defensivo químico Vertimec® utilizando o nematóide *Caenorhabditis elegans* como modelo animal e posteriormente avaliar diferentes concentrações do óleo essencial de *Tithonia diversifolia* no controle do ácaro-rajado (*Tetranychus urticae*) e do gorgulho do milho (*Sitophilus zeamais*) ambos por método de fumigação.

## **2. REVISÃO DA LITERATURA**

### **2.1) Inseticidas botânicos**

O uso de inseticidas botânicos gira em torno de 2 mil anos atrás sendo utilizados na Índia, Grécia e China no controle de pragas agrícolas (Iqbal et al., 2021). Os vegetais produzem diversos metabólitos secundários associados ao controle de parasitas e variações climáticas auxiliando na sobrevivência ao estresse abiótico e atuando na defesa química (Prakash et al., 2022).

Desempenhando diversas funções fundamentais nas relações bióticas e abióticas nas plantas, entre elas resistência as variações climáticas, atração de polinizadores e defesa, os óleos essenciais são também de grande interesse para as indústrias cosmética e farmacêutica (Campolo et al., 2018). Podendo ser encontrados em diversas partes das plantas, esses compostos voláteis são produzidos por ductos de resina e nos tricomas glandulares das plantas e podem ser extraídos por prensagem a frio (cítricos), destilação a vapor e hidrodestilação (Benelli, 2016). Os terpenoides como os monoterpenos, diterpenos e sesquiterpenos encontrados em grande quantidade nos óleos essenciais possuem documentadas ações inseticidas, acaricidas e de repelência em insetos-praga de grãos armazenados (Campolo et al., 2018) fortalecendo as evidências de sua atividade neurotóxica, semelhante aos inseticidas sintéticos, ou seja, envolvendo o fechamento dos canais de sódio e cálcio, inibindo a enzima acetilcolinesterase, interagindo com os

receptores sinápticos do GABA levando os parasitas à paralisia e posteriormente a morte (Souto et al., 2021).

Os insetos têm resistência reduzida contra óleos essenciais devido à ação sinérgica entre as diferentes moléculas (Chowdary, 2021), e podem ser utilizados em alternância com inseticidas sintéticos para minimizar problemas relacionados a resistência (Benelli, 2016) e com a possível vantagem sobre os fumigantes sintéticos como menor toxicidade para mamíferos, um período de degradação rápida e fácil disponibilidade local (Isman 2000; Devi et al. 2020).

Diversos fatores podem influenciar na qualidade da produção dos óleos essenciais, entre eles estão os genéticos, os ambientais (como temperatura, luz, solo, latitude e altitude), além de interferir também a época e forma de colheita, espaçamento, transporte, secagem, armazenamento do material vegetal. Assim como na produção de óleos essenciais, as suas aplicações são restringidas devido às características como volatilidade, termo e fotosensibilidade, oxidação, solubilização mediada por solventes orgânicos e outras (Mossa, 2016).

Na literatura diversos trabalhos mostram a aplicação de óleos essenciais como biopesticidas. Eloh e colaboradores (2019) testaram a atividade nematicida de 10 óleos essenciais extraídos de plantas aromáticas aclimatadas no Togo (África), sendo que deste teste *in vitro* as amostras mais potentes foram *Ocimum sanctum* (LD50 = 282 ± 53 mg. L<sup>-1</sup>), *Cymbopogon schoenanthus* (LD50 = 288 ± 30 mg. L<sup>-1</sup>) e *Cinnamomum zeylanicum* (LD50 = 355 ± 126 mg. L<sup>-1</sup>).

Osório e colaboradores (2018) avaliaram o efeito dos óleos essenciais de capim-limão, citronela, chá mexicano e noni na germinação por urediniósporos de *Olivea neotectonae*, o agente responsável pela ferrugem em teca (*Tectona grandis* L.f.). Descobriram que os óleos essenciais de noni e capim-limão inibiam 100% de germinação de urediniósporos nas concentrações de 2000 e 1500 µL. L<sup>-1</sup>.

Uma das fontes mais conhecidas de produção de óleos essenciais com efeito biopesticida é o neem (*Azadirachta indica*), de origem asiática, que contém cerca de 135 compostos que podem ter ação contra insetos e outras pragas (Queiroz et al., 2020). Entre estes

compostos, destaca-se a azadiractina A (AZA) (Rodrigues et al., 2018). Em decorrência das suas características, o neem pode ser uma alternativa viável no controle de pragas, pois é um produto natural, não polui o meio ambiente e não causa resistência (Morán et al., 2018). As experiências realizadas com neem mostraram algumas propriedades acaricidas e inseticidas de seu óleo essencial (Costa et al., 2016). A árvore de neem consorciada com a pastagem pode ser um método alternativo de manejo integrado de pragas (Oliveira et al., 2018).

Os dados apresentados por WAFAA em 2020 indicaram que o óleo de neem causou alta mortalidade em ácaros-rajados. Esse resultado pode ser devido ao óleo de neem conter uma grande quantidade de azadiractina. Altas taxas de mortalidade foram encontradas em *Tetranychus urticae* alimentados com as folhas tratadas com óleo essencial de *A. indica*. Além disso, o mesmo óleo essencial reduziu significativamente a capacidade reprodutiva de ácaros, e a sobrevivência da progênie de fêmeas tratadas grandemente diminuída em comparação com o controle.

Apesar de uma vasta literatura sobre a utilização do óleo de neem contra insetos-praga e ácaros, Roubik e colaboradores em 2018 percebeu que seu uso intensivo pode estabilizar o composto no ambiente aumentando o efeito tóxico residual em organismos benéficos, dentre os quais merecem atenção as abelhas, devido ao seu importante papel ecossistêmico na polinização de espécies vegetais.

Para garantir sistemas sustentáveis de produção de alimentos e implementar práticas agrícolas robustas, a agenda 2030 proposta pela ONU pretende aumentar em todo mundo a produtividade e a produção de alimentos de uma forma sustentável. Várias famílias botânicas são consideradas de importantes na produção de bioativos, entre as quais encontra-se a Asteraceae, a qual pertence a espécie *Tithonia diversifolia*, conhecida como girassol-mexicano (Lorenzi; Souza 1999). Em laboratório e estudos de campo revelaram atividade biopesticida pelos extratos foliares, sendo uma alternativa promissora para o controle de diversos insetos e ácaros (Linthoingambi et al., 2013; Rodríguez et al., 2015; Githinji et al., 2018), porém estudos avaliando a eficiência do óleo essencial dessa planta como acaricida e inseticida precisam ser melhor avaliados.

## **2.2) Caracterização botânica de *Tithonia diversifolia***

*Tithonia diversifolia* (Hemsl.) A. Gray (Asteracea) também conhecida como girassol mexicano, margaridão, mão-de-deus, entre outros nomes populares, é uma planta arbustiva e perene da família Asteracea e amplamente distribuída por todas as regiões tropicais e subtropicais do planeta Terra (GBIF 2021). Podendo atingir entre 1,2 e 5 metros esta angiosperma apresenta folhas simples alternadas, pecioladas, com 7 a 20 cm de comprimento e com 4 a 20 cm de largura, bordas serradas e face abaxial vilosa. Suas flores são capítulos terminais solitários, com brácteas amarelo alaranjadas de 3 a 6 cm de extensão pode ser anual, bianual ou perene, dependendo de seu habitat (Alves; Roque, 2016). No Brasil é amplamente distribuída, colonizando ambientes abertos como matas ciliares, beira de estradas, capoeirões e terrenos baldios, facilitando dessa forma sua coleta e estudo.



**Figura 1:** Inflorescência de *Tithonia diversifolia*.



**Figura 2:** Planta de *Tithonia diversifolia*.

FONTE: Lima (2019)

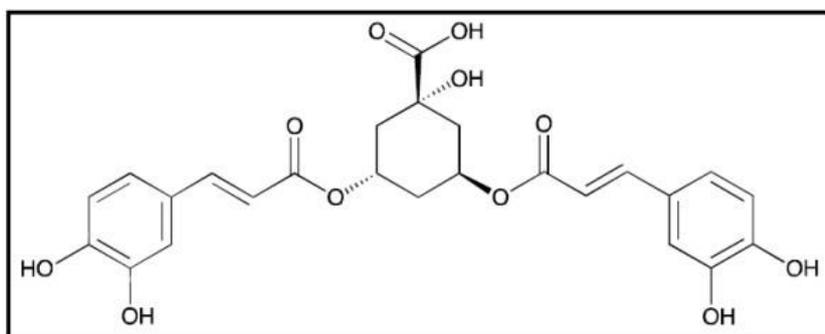
Na natureza, esta espécie se propaga por meio de sementes e em termos agronômicos e paisagísticos pode ser propagada também por estaquia (Rivera-Herrera et al., 2021). Nativa da América Central essa espécie foi introduzida em outras regiões do planeta como planta ornamental porém tornou-se uma planta invasora de rápida propagação e responsável pela mudança biodiversidade locais e seus respectivos serviços econômicos (Dai et al., 2021). Vários fatores favorecem a sua rápida expansão no globo terrestre, são eles: ser adaptável a solos com baixos índices de fósforo, altos teores de alumínio, ácidos e de baixa fertilidade, rápido crescimento (Witt et al., 2019), adaptação a diferentes condições ambientais (SantosGally et al., 2020), estratégias reprodutivas distintas, potencial alelopático inibindo o desenvolvimento de uma gama de culturas e plantas nativas, formando muitas vezes populações quase impenetráveis (Kato-Noguchi, 2020).

Como muitas outras plantas da família Asteraceae, *Tithonia diversifolia* mantém seu papel vital na fitomedicina devido a vários componentes químicos de relevância medicinal,

agrícola e etnofarmacológica, entre eles os pertencentes da classe dos compostos fenólicos, taninos (Alfred et al., 2022) e os considerados marcadores químicos característicos dessa família botânica, as lactonas sesquiterpênicas (Ejelonu et al., 2022).

Os compostos fenólicos são metabólitos secundários presentes em grande quantidade em diversos grupos de plantas, podem possuir um ou mais anéis aromáticos assim como grupos hidroxila. São classificados em ácidos fenólicos, lignanas, estilbenos e flavonoides (Michalska et al., 2010). Estes compostos desempenham uma importante função na absorção de comprimentos de onda dos raios UV nas plantas além de função imunossupressora, antioxidante e anti-inflamatória na saúde humana (Nunes et al., 2018).

O ácido 3,5- dicafeoilquínico é o principal composto fenólico presente em *Tithonia diversifolia* e apresenta significativas funções ecológicas (Zhao et al., 2012). Diferentes pesquisadores atestam que esses metabólitos estão intimamente ligados à defesa das plantas e apresentam atividade biológica contra herbívoros e micro-organismos, podendo ser utilizados como inseticidas e fungicidas (Nass, 2007; Tayz e Zeiger, 2004; Cruz, et. al, 2017).

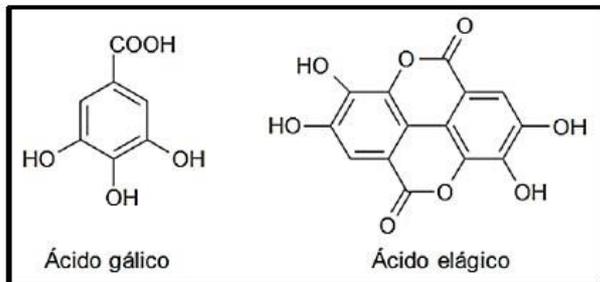


**Figura 3:** Ácido 3,5- dicafeoilquínico de *Tithonia diversifolia*.

FONTE: Zhao (2012)

Taninos vegetais são polifenóis naturais derivados do ácido benzoico, de considerável interesse devido a sua habilidade de ligar-se a proteínas e metais (Martinez-Casas, 2017). Estes componentes químicos largamente encontrados em *Tithonia diversifolia* são conhecidos por formar complexos enzimáticos que dificultam a digestão dos insetos (Mello; Silva-Filho, 2002; Taiz; Zeiger, 2003). Os taninos não necessariamente apresentam um recuo no consumo foliar, mas sim, contribuem para uma lentidão no tempo para metabolização dos nutrientes adquiridos (Breuer et al., 2003). Tirelli et al. (2010), relatam que, ao submeter a fase larval de *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith) (Lepidoptera:

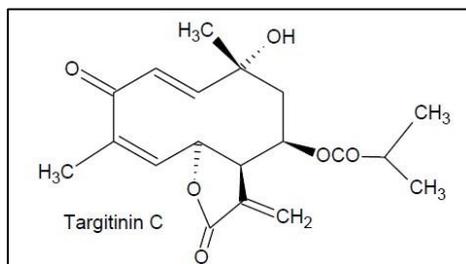
Noctuidae) a extratos com frações tânicas, estas, apresentaram uma redução no volume de fezes excretadas. O autor argumenta que, ao afetar a digestibilidade do inseto, o alimento passou uma maior quantidade de tempo no trato digestivo do inseto, o que, acarretou em uma menor viabilidade larval e pupal.



**Figura 4:** Ácido gálico e ácido elágico, precursores dos taninos hidrolisáveis. FONTE: Nozella (2001)

Os sesquiterpenoides, e principalmente as lactonas sesquiterpênicas compõem o grupo de metabólitos secundários mais prevalentes na família Asteraceae. Eles representam uma fração proporcional significativa do peso seco da planta e no caso de *Tithonia diversifolia* são encontradas principalmente nas folhas que apresentam células contendo os tricomas glandulares, principalmente nos meses que apresentam menor índice pluviométrico. Quando a planta é submetida a estresse biótico, outras células podem passar a sintetizar os sesquiterpenoides. Estes compostos são uns dos principais componentes do látex produzido pelas plantas para defendê-las contra insetos e pássaros herbívoros (Zhao et al., 2012).

A tagitinina C é um tipo de lactona sesquiterpênic e é o composto majoritário encontrado nos tricomas glandulares nas folhas de *T. diversifolia*. A tagitinina C contém duas duplas ligações conjugadas com um grupo cetona no carbono 3. A presença destes grupos cetonas insaturadas, que não são frequentes nas outras moléculas de tagitinina e são utilizadas para identificar e diferenciar a molécula de tagitinina C (Tagne et al., 2018; Sut et al., 2018). Lactonas sesquiterpênicas, incluindo tagitinina C, foram relatados como possuindo múltiplas atividades biológicas, como inseticida, atividades antifúngica, antimicrobiana, citotóxica e nas defesas vegetais contra a herbivoria (Tagne, 2018)



**Figura 5:** Estrutura química da Tagitinina C de *Tithonia diversifolia*.  
 FONTE: Goffin (2002)

### 2.3) Composição química foliar de *Tithonia diversifolia*

A análise da composição química do pó da folha da *Tithonia diversifolia* em porcentagem é: Umidade 11.88%, Proteína crua 22.07%, Extrato etéreo 8.12%, Fibra crua 6.74%, Cinza 12.47%, Carboidratos (por diferença) 38.72%, Cálcio<sup>1</sup> 390.60, Fósforo<sup>1</sup> 444.85, Vitamina A<sup>1</sup> 0.299, Taninos<sup>1</sup> 83.33, Carotenos<sup>2</sup> 130.94, Xantofilas<sup>2</sup> 333.93, Xantofilas hidrolisadas<sup>2</sup> 161.60. ((1): mg/100g de pó; (2)µg/100g de pó). Porém esse teor de proteína podem variar de acordo com a época que é realizada a análise bromatológica (González et al., 2020), Verdecia e colaboradores em 2011, por exemplo, quantificaram um valor de 28,9% de proteína nas folha de *T. diversifolia* no período chuvoso. Devido aos seus componentes químicos, alto teor de proteínas e fibras, rápido crescimento e reprodução, adaptabilidade a diferentes tipos de clima e resistência a seca, *Tithonia diversifolia* é uma planta promissora para sua utilização na agricultura, pecuária, medicina e etnofarmacologia (Silva et al., 2021).

### 2.4) Usos de *Tithonia diversifolia*:

#### 2.4.1) Ação de *T. diversifolia* na agricultura como fertilizante

São várias as formas com que *T. diversifolia* pode ser usada na produção agrícola, desde a utilização dos seus extratos e óleo essencial no controle de diversas pragas agrícolas quanto como fonte de fertilização do solo. Aboyeji (2019), por exemplo, que 10 toneladas por hectare de *T. diversifolia* como adubo orgânico obteve o mesmo desempenho de 200 kg ha<sup>-1</sup> de fertilizante NPK no crescimento e nos teores de vitamina C do rabanete (*Raphanus sativus* L.), sendo um fertilizante de boa qualidade, prontamente disponível, ecologicamente correto e com um custo muito menor. Essa mesma conclusão foi obtida por Gonçalves et al. (2020) que demonstraram que *T. diversifolia* é uma alternativa promissora para utilização como adubo verde na cultura do milho, principalmente para pequenos

produtores devido a redução dos custos, sendo que no Quênia, em Malawi e no Zimbabué é considerada a principal fonte de nutrientes para as plantas de milho (Opala et. al., 2015). Martins (2022) verificou um melhor crescimento e desenvolvimento do capim elefante, muito utilizado na alimentação de ruminantes, utilizando *T. diversifolia* como fertilizante. Rusmayadi (2023) e Ilhamdi (2020) utilizaram o produto da fermentação das folhas da mesma planta usando EM4 (biofertilizante) e água de coco como bioativadores para a produção de um fertilizante líquido para o cultivo de alface verde (*Lactuca sativa* L.) e pimentão, respectivamente e em ambas culturas o procedimento apresentou impacto substancial no crescimento e na produção dessas hortaliças em condições de hidroponia.

Além de um biofertilizante para a melhoria do solo na agricultura *T. diversifolia* também pode auxiliar na fitoextração de metais pesados de solos poluídos. Um estudo conduzido por Adesodun (2010) apresentou resultados que indicaram que *T. diversifolia* absorveu concentrações substanciais de Chumbo e Zinco na biomassa acima do solo implicando na eficiência dessa planta na limpeza dos solos contaminados na fase inicial do seu crescimento.

#### **2.4.2) Ação *T. diversifolia* na agricultura como biopesticida**

Como citado anteriormente, um dos fatores que possibilitaram a grande irradiação de *T. diversifolia* a diferentes ambientes se deve aos componentes químicos presentes principalmente nos tricomas glandulares das folhas da planta que permitem uma proteção contra fatores abióticos e bióticos nos ecossistemas, e esses mesmos componentes favorecem a utilização da planta como um possível biopesticida no controle de várias pragas agrícolas. Zhao et al. (2020) evidenciaram que a tagitina A, composto sesquiterpênico derivado de *T. diversifolia*, apresentou efeitos inibitórios de até 78,5% em efeito curativo e protetor contra ortotospovírus da murcha-do-tomateiro, parasita responsável por infectar mais de 1000 espécies vegetais, ocupando o segundo lugar entre os 10 principais vírus de plantas.

A atividade antibacteriana *in vivo* de *T. diversifolia* também foi relatada por Opondo (2023) contra *Ralstonia solanacearum* em mudas de tomateiros em que extratos etanólicos, obtidos por maceração usando o método de inoculação de raiz, demonstraram-se eficientes, baratos e potentes biopesticidas no controle dessa bactéria responsável por grandes prejuízos nessa cultura.

A murcha de fungos do gênero *Fusarium* pode causar perdas severas em muitos vegetais, flores e plantações. Awere et al. (2021) avaliaram a potência de *T. diversifolia* no controle do fungo patógeno vegetal *F. oxysporum*, e a análise fitoquímica dos extratos vegetais demonstraram a presença de saponinas, taninos, terpenoides, flavonoides, glicosídeos e fenólicos, alcaloides e esteroides, que de acordo com esses pesquisadores apresentaram atividade antifúngica, podendo ser usados no manejo de doenças fúngicas.

A exploração dos metabólitos nematocidas do *T. diversifolia* na agricultura tem sido avaliada nos últimos anos (Aswini et. al., 2022; Nguyen, 2023), sendo observado uma inibição 64,2% da eclosão de ovos para estágios juvenis de *M. incognitae*, nematoide que afeta cerca de 2.000 plantas em todo o mundo, responsáveis por causar cerca de 5% das perdas globais de colheitas (Nguyen, 2023)

Pulido (2020) avaliou o efeito inseticida de diferentes extratos (apolares e polares) das folhas secas de *T. diversifolia* nas formigas operárias de colônias de *Atta cephalotes* (L.) (Hymenoptera: Formicidae) em laboratório, tanto por ingestão, quanto por contato. Os resultados foram promissores, mostrando uma taxa de mortalidade de 90% das formigas operárias após sete dias de tratamento. Esses resultados foram atribuídos à presença das lactonas sesquiterpênicas em *T. diversifolia*, substâncias que provavelmente inibem a enzima acetilcolinesterase, similar ao princípio ativo presente na maioria dos pesticidas químicos carbamatos e organofosforados. Esse resultado está em linha com o estudo de Valderrama (2006), que observou uma redução de até 83,3% no fungo alimentar de colônias de formigas que se alimentaram de *T. diversifolia*. Além disso, os extratos etanólicos das folhas secas do girassol mexicano foram responsáveis por uma mortalidade de 100% das formigas cortadeiras em apenas oito dias.

O estudo conduzido por Devi et. al., (2021) demonstrou que o óleo essencial extraído de *T. diversifolia* possui uma notável capacidade de toxicidade por fumigação contra duas pragas comuns de grãos armazenados: o gorgulho do arroz, *Sitophilus oryzae* (L.) (Coleoptera: Curculionidae) e o besouro vermelho da farinha, *Tribolium castaneum* (Herbst.) (Coleoptera: Tenebrionidae). Isso sugere que essa substância pode ser uma alternativa viável aos fumigantes sintéticos tradicionais. Além disso, em outro estudo realizado por Gitahi et. al., (2021), foi evidenciada a atividade pesticida por contato em insetos de grãos armazenados, especificamente *Sitophilus zeamais* Mots. (Coleoptera: Curculionidae),

utilizando extratos de diclorometano e acetato para isolar os fitoquímicos ativos das folhas secas da planta.

### **2.4.3) Ação de *T. diversifolia* como fonte de alimentação animal**

A pesquisa sobre os sistemas de alimentação em climas quentes indica que a sustentabilidade desses sistemas depende em grande parte da utilização de recursos biológicos locais como alternativas para alimentar animais (VERDECIA et al., 2018). Isso implica em expandir o uso da diversidade de espécies para fornecer grandes volumes de ração para os animais. Dada a variedade de espécies forrageiras disponíveis, é crucial estudar e recomendar aquelas que são promissoras para ambientes agroecológicos específicos e sistemas de produção de biomassa, levando em consideração principalmente seu valor nutricional (HERRERA et al., 2017). Nesse contexto, *T. diversifolia*, apresenta uma alta produção de biomassa e uma composição química favorável em comparação com a maioria das espécies de plantas forrageiras que, em condições tropicais, podem ser utilizadas na alimentação animal.

Riviera et al. (2021), com objetivo de determinar a produção de biomassa e a qualidade nutricional para nutrição de ruminantes de sete genótipos de *T. diversifolia* comparando o desempenho destes genótipos com gramíneas normalmente oferecidas para os animais em condições tropicais, demonstraram que composição química da alimentação com *T. diversifolia* foi adequada para ser oferecida aos ruminantes, principalmente, devido ao elevado teor de proteína bruta, o baixo teor de fibra, concluindo que existem genótipos de *T. diversifolia* com capacidade de apresentar bom desempenho para ser utilizados na alimentação de ruminantes e produtividade e adaptabilidade para sua utilização em zonas de alta e baixa altitude com solos de baixa fertilidade. Pazla et al. (2021) demonstrou bons resultados na utilização de *T. diversifolia* na alimentação animal evidenciando que a mesma ainda pode ajudar a otimizar a síntese de populações microbianas no organismo de animais ruminantes. Bons resultados foram demonstrados por outros pesquisadores (Villegas et. al., 2020; Akanmu e Hassen, 2017; Ribeiro et. al., 2016) no uso de *Tithonia* para nutrição de ruminantes evidenciando um alto teor de proteína bruta em comparação com as forragens tropicais comumente utilizadas para pastagem, porém caracterizando a manutenção desse alto valor nutricional durante as estações secas.

O metano, gás liberado na digestão de ruminantes, tem 25 vezes o potencial de aquecimento global do dióxido de carbono (CO<sub>2</sub>), e sua liberação para atmosfera por meio de práticas agrícolas são responsáveis por aproximadamente 10-12% das emissões antropogênicas globais (Broucek, 2014) e estima-se que sua produção por ruminantes represente uma perda de energia entre 2–12% da ingestão total de energia (Johnson, 1995). *T. diversifolia*, além de uma ótima fonte alternativa para ruminantes possui uma grande importância ecológica como potencial redutor metanogênico (Berends et al., 2014). Holtshausen et al. (2009) relataram que a introdução de *T. diversifolia* na alimentação de ruminantes reduziu a produção de metano em 6 vezes quando comparado a alimentação tradicional devido a taninos e saponinas presentes nas folhas da planta responsáveis diminuir a produção de metano devido aos seus efeitos inibitórios sobre os protozoários ciliados do rúmen.

Díaz-echeverría (2023) investigou os efeitos de diferentes dietas contendo *T. diversifolia* na produção de ovos em galinhas e observou que o consumo de ração aumentou nas aves que receberam dietas com 20% e 30% de *T. diversifolia*, além de apresentarem uma taxa de postura mais elevada, ovos e gemas mais pesados. Além disso, notaram que a cor da gema se intensificou à medida que a quantidade de *T. diversifolia* na dieta aumentou por apresentar maior proporção de xantofilas, pigmento responsável pela cor e elevação dos nutrientes da gema do ovo, em comparação com os indivíduos alimentados da forma tradicional (Jáuregui et al., 2019; Medina, 1999; NgouopO, 2021).

#### **2.4.4) Ação etnofarmacológica de *T. diversifolia***

A família Asteraceae é conhecida pelo seu efeito terapêutico como anti-helmíntico, anti-inflamatório, adstringente, antiespasmódico, colestérico, antioxidante, anti-hemorragico, antimicrobiano, diurético e analgésico (Farias et al., 2019). *T. diversifolia*, com seus mais de 150 tipos de metabólitos secundários já isolados, também é descrita por vários pesquisadores como uma planta com propriedades medicinais (Miranda et al., 2015) (Wahyuningsih et al., 2013) entre elas anticarcinogênicas (Liao et al., 2012).

O câncer colorretal é um tumor maligno comum do sistema digestivo responsável por aproximadamente 600 mortes por ano no mundo. No entanto, a eficácia da cirurgia e da quimioterapia é limitada. A ferroptose é uma forma de morte celular regulada dependente de ferro e espécies reativas de oxigênio e desempenha um papel vital na supressão

tumoral. Wei e colaboradores em 2021 investigaram o mecanismo de ação da tagitinina C, uma lactona sesquiterpênica isolada de *T. diversifolia*, como novo indutor de ferroptose na supressão tumoral e os resultados obtidos foram que a Tagitinina C induziu a ferroptose em células de câncer colorretal e pode ser um quimiossensibilizador eficaz que pode expandir a eficácia para uma gama de agentes quimioterápicos. No Vietnã, Thuy e colaboradores também apresentaram o potencial anticancerígeno de três lactonas sesquiterpênicas isoladas da parte aérea de *T. diversifolia*, a tagitinina A, 1 $\beta$ -hidroxitirodina-3-O-metil éter e a tagitinina C e perceberam que essas substâncias isoladas diminuíram significativamente o número de células de uma linha celular de leucemia mieloide aguda, promovendo a apoptose e causando a parada do ciclo celular da célula cancerosa em concentrações consideradas muito baixas 2,5  $\mu\text{g/mL}$  (tagitinina A) e 0,25  $\mu\text{g/mL}$  (tagitinina C). Além disso, neste mesmo estudo, os três compostos apresentaram atividade citotóxica contra cinco linhagens celulares de câncer humano sugerindo que os mesmos podem ser potenciais agentes terapêuticos anticancerígenos.

*T. diversifolia* também pode ser usada na prevenção de doenças cardiovasculares e na manutenção da saúde. Ide et al., (2020) isolou a orizabina a partir de *T. diversifolia*, sendo considerada como um novo composto funcional com atividade antiaterosclerótica. A orizabina suprimiu a captação de lipoproteínas oxidadas de baixa densidade (LDL) em macrófagos e a fosforilação de Akt, também conhecida como proteína quinase B, que desempenha um papel crucial na regulação da homeostase energética e no controle da síntese e degradação de gordura, e viabilizou a possibilidade de que a orizabina derivada de *T. diversifolia* seja um novo composto antiaterosclerótico importante para manutenção da saúde vascular.

Bons resultados foram obtidos por Muniroh et al., (2022) avaliando o efeito do extrato de *T. diversifolia* nas concentrações de leptina (hormônio conhecido por regular o apetite e o peso corporal, além de desempenhar um papel no metabolismo da glicose), adiponectina (hormônio que possui efeitos benéficos no metabolismo da glicose e na sensibilidade à insulina) e receptores de insulina em ratos diabéticos. A administração de extratos de *T. diversifolia* a 100 mg/kg de peso corporal durante 7 dias diminuiu significativamente a leptina e aumentou as concentrações de adiponectina. Além disso, o tratamento com *Tithonia* aumentou significativamente os receptores de insulina renais e diminuiu a expressão de CD14 em macrófagos (responsáveis por contribuir para a disfunção das células beta no pâncreas), além de suprimir a necrose dos tecidos pancreáticos em ratos

diabéticos. Istikharah et al. (2022) examinaram a atividade antidiabética de extratos de *T. diversifolia* e seus efeitos sobre a resistência à insulina e ao número de cópias do DNA mitocondrial nos músculos sóleos e gastrocnêmios de ratos. Os resultados mostraram melhora nos níveis de glicemia e aumento de até 3 vezes no DNA mitocondrial nos músculos em todos os grupos tratados com *T. diversifolia* demonstrando forte potencial para ser utilizado como agente antidiabético.

*T. diversifolia*, tem sido utilizada na medicina popular como anti-inflamatório em vários países. Broering et al. (2019) demonstraram os efeitos *in vivo* e *in vitro* do extrato etanólico no mecanismo de tráfego de neutrófilos do sangue para o tecido inflamado e na secreção de mediadores químicos derivados de células e os efeitos na resolução inflamatória e na dor inflamatória em camundongos. Os dados deste estudo mostraram que o extrato apresentou atividade anti-inflamatória por inibir a produção de citocinas e óxido nítrico, e também a migração de leucócitos para o tecido inflamado, a atividade pró-resolução e conseqüentemente a anti-hipersensibilidade. Propriedades antiinflamatórias de *T. diversifolia* também foram documentadas por Hanh et al., (2024) e Diyatri et al., (2023).

A malária é uma doença potencialmente fatal causada por protozoários do gênero Plasmodium e transmitida através da picada de fêmeas mosquito anófeles. *T. diversifolia* tem sido tradicionalmente empregada na medicina popular africana para o tratamento de diversas doenças, inclusive a malária (Afolayan et al., 2016). Um estudo conduzido por Oyewole et al., (2008) investigou as propriedades antimaláricas desta planta em animais experimentais e voluntários humanos, em ambiente laboratorial. Comparando a eficácia da cloroquina com extratos aquosos e metanólicos da planta, observou-se que a cloroquina eliminou o parasita em 100% dos casos, enquanto os extratos aquosos e metanólicos mostraram eficácia de 50% e 74%, respectivamente. Notavelmente, os extratos demonstraram maior eficácia quando administrados antes do início da infecção, sugerindo uma dependência temporal dos efeitos antimaláricos. A aplicação precoce dos extratos no início dos sintomas da malária resultou em significativa redução da parasitemia em poucos dias. Além disso, a administração dos extratos durante o episódio de malária também foi eficaz, especialmente quando prolongada. A LC50 do extrato aquoso em camundongos foi determinada como 1,2 ml/100g de peso corporal, enquanto a Dose Máxima Tolerada (MTD) foi de 1,0 ml/g. Estudos subsequentes corroboraram esses achados, como o realizado por Deborah et al. (2020), que investigou a atividade antimalárica da *T. diversifolia* utilizando extratos das folhas em diclorometano como solvente. Este estudo revelou atividade

antiplasmodial contra *Plasmodium berghei* em camundongos infectados, demonstrando uma taxa de quimiossupressão de 43,90% no teste supressivo. A atividade antimalárica do extrato de folhas de *T. diversifolia* em diclorometano foi sequencialmente relatada por Ngarivhume et. al (2021) e foi atribuída à orizabina e à tagitinina C.

Após a malária, a leishmaniose figura como o segundo parasito mais letal globalmente (Mutoro et al., 2018). Atualmente, a ausência de vacinas eficazes ou intervenções terapêuticas efetivas destaca uma lacuna significativa na gestão desta doença. As plantas medicinais representam uma promissora alternativa como agentes anti-Leishmania, dadas suas características de segurança relativa, disponibilidade local e acessibilidade. Um estudo conduzido por Momanyi et al. (2022) investigou a atividade antileishmania de extratos de *T. diversifolia* contra os principais parasitos do gênero Leishmania, revelando valores de LC50 variando de 0,03 a 4,89 mg/ml. Estes resultados posicionam *T. diversifolia* como uma potencial fonte de compostos para a formulação de medicamentos destinados ao tratamento desta doença.

## **2.5) *Caenorhabditis elegans***

O nematódeo *Caenorhabditis elegans* é um modelo de experimental *in vivo* que tem sido utilizado em pesquisa para rastrear a farmacologia e toxicologia de diversos produtos (Dal Forno et al., 2016), sendo considerado uma excelente alternativa ao uso de mamíferos. Atende aos princípios éticos da experimentação em animais e, ainda, oferece vantagens como a redução do custo e do tempo de pesquisa (Hunt, 2017). Os *C. elegans* são vermes pequenos, com cerca de 1mm de comprimento, apresentam ciclo de vida de aproximadamente 3 dias, ocorrem normalmente na natureza e se alimentam de fungos, bactérias e frutos em decomposição (Peterson; Pukkilaworley, 2018). No entanto, para fins de pesquisa, esses animais são alimentados com *E. coli* e cultivados em meios axênicos, para evitar qualquer interferência na obtenção dos resultados (Hunt, 2017).

O *C. elegans* é um modelo experimental considerado fácil de ser utilizado em laboratório e de baixo custo para manutenção, sendo mantido com dieta a base de *Escherichia coli*. O curto ciclo de vida do hermafrodita (aproximadamente 3 dias) e o grande número de descendentes (300) de *C. elegans* permitem a produção em larga escala de animais em um curto período de tempo (Dal forno et al., 2016). O corpo transparente também permite a observação clara de todas as células de animais maduros e em desenvolvimento. *C.*

*elegans* mostra uma forte conservação das vias moleculares e celulares em relação aos mamíferos. A comparação entre os genomas humano e do *C. elegans* confirmou que a maioria dos genes humanos e das vias envolvidas em doenças estão presentes no verme (González-manzano et al., 2012).

Fuentes et al. (2022) avaliaram a toxicidade de óleos essenciais de espécies vegetais amplamente utilizadas em produtos alimentícios, farmacologia e agricultura utilizando *C. elegans*. Os resultados mostraram que todos os componentes tiveram um efeito dependente da concentração na sobrevivência dos nematóides em concentrações moderadas a altas. Henrique e colaboradores em 2023 demonstraram as propriedades antioxidantes e antienvhecimento do óleo essencial de alecrim-de-tabuleiro (*Lippia origanoides*) utilizando *C. elegans* como modelo animal de toxicidade e verificaram que o óleo essencial melhorou parâmetros fisiológicos como bombeamento faríngeo, locomoção e tamanho corporal, indicando que não é tóxico para o nematódeo. Lanzerstorfer e colaboradores em 2021, forneceram uma estratégia para investigação detalhada do impacto do óleo essencial de alecrim, frutas cítricas e eucalipto comumente usado em doenças agudas, toxicidade, bem como na irritação das membranas mucosas utilizando o modelo *in vivo* *Caenorhabditis elegans* e todos os óleos essenciais em estudo exibiram um potencial tóxico. Esse resultado demonstra que os óleos essenciais podem apresentar propriedades tóxicas mesmo em baixas concentrações. Portanto, uma avaliação toxicológica detalhada é altamente recomendada para cada óleo essencial antes da sua aplicação contra pragas agrícolas.

## **2.6) Pragas agrícolas**

Assim como ocorre em qualquer parte do mundo, à medida que a atividade agrícola expande, o mundo enfrenta problemas para sustentar esse crescimento devido, principalmente, ao aumento do número de pragas e, conseqüentes, perdas e prejuízos nesse setor que variam de 20 a 30%, desde a produção até o armazenamento (Savary et al., 2019). Dentre essas pragas pragas agrícolas se destaca o ácaro-rajado (*Tetranychus urticae*) (Acari: *Tetranychidae*), que é uma praga grave de culturas em todo o mundo, prejudicando o desenvolvimento e crescimento cerca de 1.200 espécies de plantas em mais de 250 famílias botânicas (Zhu, 2024) e em relação ao armazenamento dos alimentos, em especial grãos, o inseto praga mais conhecido é *Sitophilus zeamais* (Coleoptera: Curculionidae) também conhecido como gorgulho-do-milho, causador de enormes

prejuízos em cilos de armazenamento de grãos espalhados por todo mundo (Singh et al., 2021).

## 2.7) Ácaro-rajado (*Tetranychus urticae*): Ciclo de vida e danos causados em culturas agrícolas.

O ácaro-rajado, *Tetranychus urticae* Koch (Acari:Tetranychidae), é considerado uma das mais importantes pragas de artrópodes do ponto de vista econômico. Esse ácaro infestou mais de 1275 espécies de plantas, incluindo cereais, leguminosas (com referência especial à soja), plantações em estufas, plantas ornamentais e árvores frutíferas (Shang et al., 2022). As fêmeas deste ácaro geralmente medem em torno de 0,5 mm de comprimento e apresentam dois pares de manchas escuras no dorso. Esse ácaro forma colônias numerosas na face inferior das folhas, recobertas com apreciável quantidade de teia. Seus ovos apresentam coloração amarelada, esféricos e de difícil visualização a olho nu (Hernández-Rivera et al., 2021).

As larvas são incolores e translúcidas, com três pares de pernas e de tamanho semelhante ao do ovo. Sua coloração muda gradativamente à medida que se alimentam. Em seguida, passam pelas fases de protoninfa e deutoninfa, que diferem entre si somente pelo tamanho. É na fase de deutoninfa que se iniciam as distinções entre fêmeas (cerca de 0,46 mm de comprimento e com manchas dorsais mais pronunciadas) e machos (aproximadamente 0,26 mm de comprimento e com o corpo afilado posteriormente). O dorso das formas adultas, de coloração amarela-esverdeada escura, apresenta-se coberto por longas setas e duas manchas escuras em cada lado (Born, 2022).



**Figura 6:** Ciclo de vida e características morfológicas do Ácaro-rajado (*Tetranychus urticae*).

Fonte: Koopert (2020).

Apesar de ter seu ciclo de vida reduzido devido ao aumento da temperatura, o ciclo de vida do ácaro-rajado dura de 11 a 20 dias, possuindo em climas tropicais (28-32°C) um período de ovo a adulto inferior a uma semana, sendo que os machos possuem um desenvolvimento um pouco mais rápido que as fêmeas. A postura de ovos é feita na parte inferior das folhas, geralmente próximo às nervuras. (Casuso, Smith & Lopez, 2020).

A dispersão dos ácaros pode ocorrer de forma ativa, através do seu próprio caminhar, por forese (transporte por outros organismos) ou por dispersão aérea através das correntes de ar. Em temperaturas próximas a 25°C uma única fêmea é capaz de ovopositar 150 ovos em um período de aproximadamente 20 dias. Possuindo uma preferência por folhas mais velhas na fase adulta e de protoninfa, esses parasitas introduzem seus estiletes nas células vegetais, ingerindo o conteúdo celular extravasado (Castilho et al., 2021).

Redução de crescimento das plantas e formação de teias, o que deprecia o produto final (principalmente no caso de ornamentais) são outros danos causados às plantas pelo ácaro. Os principais danos são caracterizados através de formação de manchas branco-prateadas na face inferior das folhas abertas, e na face superior áreas cloróticas, que passam a se tornar bronzeadas podendo haver intensa formação de teia (Figura 2) até as folhas secarem e entrarem em processo de abscisão. Em casos de alta infestação da praga, pode haver redução na produtividade em até 80%, afetando a quantidade e a qualidade de frutos. Sua ocorrência é maior em condições de temperatura elevada e baixa umidade pois a praga é favorecida pela presença de poeira e durante o período seco (Hernández-Rivera et al., 2021).

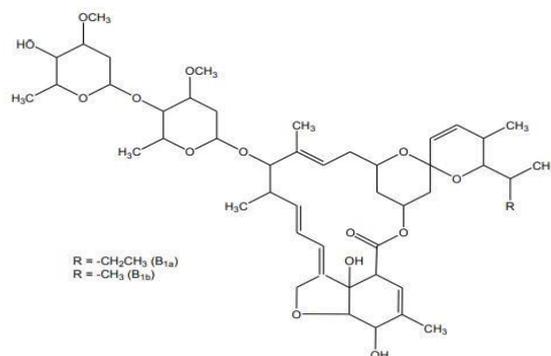


**Figura 7 (A-D).** Sintomas e danos causados pelo ácaro-rajado **A-** Morangueiro altamente infestado pelo ácaro, com folhas bronzeadas e frutos mal desenvolvidos; **B** – Planta coberta com teia confeccionada pelo ácaro; **C** – Evolução do ataque, com folhas bronzeadas e secas; **D** – Detalhe dos ácaros nas folhas. FONTE: Ribeiro (2019).

## 2.8) Estratégias de manejo químico do ácaro-rajado (*Tetranychus urticae*).

De acordo com o Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA) um dos métodos de controle do ácaro-rajado é o químico Vertimec a base de abamectina, tem classificação toxicológica em extremamente tóxico, em relação ao ambiente (Bula do produto). Os produtos químicos utilizados na agricultura são classificados pelo Instituto Brasileiro de Meio Ambiente (Ibama), em relação aos riscos ao meio ambiente: produto altamente perigoso (classe I), produto muito perigoso (classe II), produto perigoso (classe III) e produto pouco perigoso (classe IV). De acordo com os registros do MAPA, a abamectina é um produto perigoso (grupo III) em relação ao ambiente sendo causador de toxicidade aguda e há suspeita de toxicidade reprodutiva do seu ingrediente ativo (IA) e de seus metabólitos, tendo seu uso proibido na comunidade europeia desde o ano de 2008 (Dos Santos et al., 2023).

Abamectina é ingrediente ativo de vários produtos usados como: acaricidas, inseticidas, nematicida, com modo de ação por contato e ingestão para o controle de pragas em diversas culturas. É possível encontrar mais de 300 produtos registrados no Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento, com este ingrediente ativo (Santos, 2020). A abamectina é uma mistura de avermectina B 1a (80%) e avermectina B 1b (20%), ambas com propriedades biológicas e toxicológicas similares, e são produtos de fermentação natural da bactéria *Streptomyces avermitilis* (Kim et al. 2017). As avermectinas são lactonas macrocíclicas que foram descobertas em 1975 (Ōmura et al., 1979) e em 1985 a abamectina foi comercializada como um defensivo agrícola (Brooks & Roberts, 1999). A figura abaixo representa a estrutura química da abamectina.



**Figura 8:** Estrutura química da abamectina.

FONTE: ANVISA, 2013.

As propriedades físicas e químicas da abamectina estão representados na Tabela 1.

**Tabela 1:** Propriedades físicas e químicas da abamectina.

<b>Propriedade</b>	<b>Valor</b>
Fórmula molecular	<b>C<sub>48</sub>H<sub>72</sub>O<sub>14</sub></b>
Massa molar	<b>873,09 g mol<sup>-1</sup></b>
Solubilidade em água (20°C)	<b>1,21 mg L<sup>-1</sup></b>
Solubilidade em tolueno (20°C)	<b>23,0 g L<sup>-1</sup></b>
Solubilidade em acetona (20°C)	<b>72 g L<sup>-1</sup></b>
Solubilidade em acetato de etila (20°C)	<b>160 g L<sup>-1</sup></b>
Solubilidade em octanol (20°C)	<b>83 g L<sup>-1</sup></b>
Ponto de fusão	<b>161,8 °C</b>
Ponto de ebulição	<b>Decompõe-se antes de ferver</b>
Densidade	<b>1,18g mL<sup>-1</sup></b>
Pressão a vapor a 20°C	<b>3,70×10<sup>-3</sup> mPa</b>

FONTE: VSDB, 2019

A base para geração de bioeletricidade nos processos orgânicos é realizado por canais de íons que são ativados por neurotransmissores e possibilitam o transporte de íons inorgânicos (Na<sup>+</sup>, K<sup>+</sup>, Ca<sup>2+</sup> e Cl<sup>-</sup>) através das membranas celulares (Salgado, 2013). Esses canais de íons transmembrana desempenham várias funções, como regulação do pH e resposta sensorial (Dermauw et al., 2012). Os quatro principais neurotransmissores encontrados nos insetos são a acetilcolina, o glutamato, a octopamina e o ácido gama-aminobutírico, ou GABA (Irac, 2018).

A abamectina é o principal representante comercial de inseticidas conhecidos como avermectinas que atuam como moduladores nos canais de cloreto mediados pelo glutamato, ligando-se a um sítio secundário do canal (ou seja, de forma alostérica) e ativando-os de forma ininterrupta (Salgado, 2013). A ativação dos canais de cloreto tem um efeito inibitório na célula nervosa. Como esses canais mediados pelo glutamato estão espalhados por todos os músculos e células nervosas dos insetos, a sua ativação contínua leva o organismo à morte por paralisia generalizada (Pozebon et al., 2021). Ao contrário de muitas espécies de insetos que possuem uma única subunidade de canal de cloreto, seis unidades ortólogas foram identificadas no genoma de *T. urticae* (Dermauw et al. 2012).

De acordo com os registros no MAPA, a aplicação do Vertimec para controle do ácaro-rajado (*Tetranychus urticae*) na produção de morango é feita por meio de duas aplicações de 50 - 75 ml/100 L água, utilizando de 1.000 a 1.250 litros de calda/ha. A primeira aplicação é realizada no início da infestação e a reaplicação obrigatoriamente em uma semana depois, sendo que a cobertura total da planta é essencial para um bom controle de acordo com a bula da empresa fabricante.

A abamectina é categorizado como um produto irritante ocular e seus efeitos agudos de intoxicação observados em animais de laboratório são tremores musculares, ataxia, midríase e irritação ocular em dosagem oral maior que 300 mg/Kg, a intoxicação dermal ocorre em concentração de 2150 mg/Kg e inalatória de 29,18 mg/Kg para machos e 18,31 mg/Kg para fêmeas. Seus efeitos crônicos de intoxicação em animais de laboratório foram: dilatação das pupilas, perda de peso, letargia e tremores, porém ratos testados em todos os níveis de dose exibiram significativo ganho de peso, maior do que os controles (MAPA, 2013). Nos mamíferos, os canais iônicos mediados pelo GABA só estão presentes no cérebro e a abamectina dificilmente atravessa a barreira hematoencefálica em situações normais, o que pode acontecer em casos de intoxicação com altas doses do produto; além disso, os nervos e as células musculares dos mamíferos não apresentam canais de cloreto controlados por glutamato (Mohapel et al., 2019).

A Resolução Nº 442 publicada no Diário oficial da união pelo Ministério da Saúde e Agência Nacional de Vigilância Sanitária em 09 de dezembro de 2020 inclui o nível aceitável de exposição ocupacional agudo da abamectina de 0,0025 mg/kg de peso corpóreo em humanos pela suspeita de causar toxicidade reprodutiva mais precisamente sob suspeita de causar efeito adverso na lactação, podendo ser nocivo às crianças alimentadas com leite materno, segundo o anexo IV da Resolução de Diretoria Colegiada - RDC nº 296, de 2019.

Agrotóxicos como a abamectina apesar de contribuir no controle do ácaro-rajado, apresenta efeitos letais em espécies de ácaros predadores do mesmo, como *P. macropilis* e *N. californicus*. A aplicação leva a possíveis desequilíbrios na relação de inimigos naturais e têm potencial de influenciar a interação predador-presa (Alhewairini et al., 2023). Al-Azzazy e colaboradores evidenciaram em 2018, que a abamectina comumente utilizada em pomares de citros, é tóxica para um grande número de ácaros predadores, que poderiam estar contribuindo para o controle biológico natural dos ácaros nocivos como o ácaro-rajado.

É recomendado através de estudos que na produção de morango com liberação de *P. macropilis*, devem ser evitadas aplicações com inseticidas ou acaricidas de elevada toxicidade ao predador (ex.: abamectina, milbemectina, clorfenapir, etoxazol, organofosforados, piretroides) (Adesanya et al., 2021).

Estudos realizados por Gomes e colaboradores informam que outros organismos não-alvos afetados pelo uso exacerbado dos agrotóxicos como a abamectina são os polinizadores, fundamentais a agricultura e sua produtividade sendo esses produtos uma das principais causas do declínio dos polinizadores nas áreas agrícolas. Além dos polinizadores a abamectina apresenta toxicidade para vários organismos de outras espécies. A tabela abaixo apresenta a toxicidade da abamectina para alguns seres vivos.

**Tabela 2:** Toxicidade da abamectina para alguns seres vivos.

Propriedade	Valor
Mamíferos (rato) -DL50 oral agudo	8,70 mg Kg <sup>-1</sup>
Mamíferos (rato) -DL50 dérmico	>330 mg kg <sup>-1</sup> de peso corporal
Pássaro ( <i>Anas platyrhynchos</i> ) -DL50 agudo	<= 77,0 mg Kg <sup>-1</sup>
Peixe ( <i>Oncorhynchus mykiss</i> ) -DL50 agudo	3,60 µg L <sup>-1</sup>
Invertebrados aquáticos ( <i>Daphnia pulex</i> ) - DL50 agudo de 48 h	0,100 µg L <sup>-1</sup>
Abelhas ( <i>Apis mellifera</i> ) - DL50 agudo contato de 48h	2,20 ng abelha <sup>-1</sup>
Abelhas ( <i>Apis mellifera</i> ) - DL50 agudo oral de 48h	>11,0 ng abelha <sup>-1</sup>

FONTE: VSDB, 2019.

O uso excessivo e descontrolado nas lavouras tem sido considerado um importante agente de contaminação do solo e da água (Soares et al., 2017). Vários são os defensivos utilizados que podem contaminar a água, e a abamectina está entre eles. Essas informações constam, inclusive, na bula do produto: se utilizada incorretamente pode contaminar reservatórios de água, rios, recursos hídricos e bacias fluviais, podendo interferir nos organismos vivos aquático. No estudo de Figueiredo et al. (2021), utilizou-se os mesocosmos para avaliar o lixiviado em diferentes tempos e duas temperaturas diferentes (23 e 33°C). Esses sistemas foram preenchidos com solo e contaminados com abamectina e difenoconazol e suas misturas que são usados na cultura do morango. Posteriormente, estudou a toxicidade do lixiviado nos organismos *Ceriodaphnia silvestrii* e *D. similis* e da alga *Raphidocelis subcapitata*. O inseticida abamectina apresentou toxicidade para as duas espécies da ordem cladocera (ordem de pequenos crustáceos, denominadas pulgas

d'água), afetando a mobilidade e a taxa de alimentação desses organismos nas duas temperaturas estudadas. Santos e colaboradores observaram em 2023 que peixes-zebra (*Danio rerio*) apresentaram alterações na movimentação, na postura corporal, atividade opercular, coloração e comportamento em ambientes contendo abamectina.

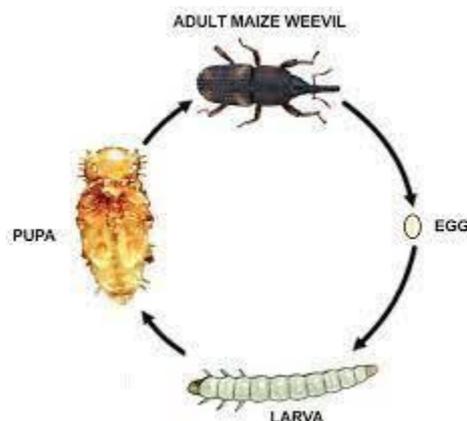
Com relação ao solo, pode-se afirmar que a abamectina causa impactos negativos, podendo acarretar a seleção de organismos ampliando o desequilíbrio e resultando em maiores prejuízos ambientais. O uso do agrotóxico também pode diminuir a variabilidade genética das espécies vegetais e animais que estão presentes no ambiente em que são utilizados (Soares et al., 2017). Uma revisão de literatura realizada por Giacomet em 2022 abrangendo 34 artigos publicados entre 1997 a 2019 descobriram que além de contaminação dérmica, digestiva e respiratória a exposição dos agricultores aos pesticidas está diretamente associada à déficits na função cognitiva e psicomotora pois inibem a acetilcolinesterase, receptores do GABA e da acetilcolina que são importantes neurotransmissores associados a depressão, evidenciando uma relação entre o uso elevado de agrotóxicos, muitas vezes utilizados sem os equipamentos de proteção individual adequados, a depressão e a um aumento da taxa de suicídio em regiões rurais.

## **2.9) Gorgulho-do-milho (*Sitophilus zeamais*): Ciclo de vida e danos causados em grãos armazenados**

O gorgulho-do-milho, *Sitophilus zeamais* é um inseto da ordem Coleoptera, sendo considerada uma das principais pragas cosmopolita que afetam grãos em processo de armazenamento sendo considerado uma praga primária no Brasil e em alguns países com climas tropical (Barros et al., 2022).

Medindo cerca de 3mm de comprimento os adultos do gorgulho-do-milho possuem coloração escura com manchas avermelhadas em seus élitros estriados, se tornando visíveis após sua emergência. As peças bucais estão inseridas em um rostro recurvado e possuem cabeça projetada para frente (Fig 4). As larvas têm coloração amarelo-claro com pontas escuras na cabeça, e as pupas são esbranquiçadas. Possuem a habilidade de voar, por isso podem voar dos celeiros para os campos, onde começam as infestações, que podem continuar após colheitas e se tornar uma praga destrutiva no armazém (Devi et al., 2017; Kumari et al., 2022). Ao infestar os grãos, os estágios imaturos do inseto se

desenvolvem, além de contribuir para a entrada de pragas secundárias, ácaros e fungos, resultando em quedas no valor de mercado local e internacional (Barros et al., 2022).



**Figura 9:** Ciclo de vida e características morfológicas do Gorgulho-do-milho (*Sitophilus zeamais*). Fonte: Solomon, W. J (2019)

Os ovos são colocados em pequenas cavidades perfuradas pela fêmea adulta. Após a oviposição, essas cavidades são fechadas por uma substância mucilaginosa secretada pela mesma. Logo, essa substância endurece, deixando uma pequena área elevada na superfície dos grãos, indicando que o grão está infestado (Fig 5). Os ovos recém-colocados são translúcidos e tornam-se opacos (Devi et al., 2017). O período médio de incubação do ovo é de 6 a 9 dias a 25 °C. As larvas adentram os grãos, onde se alimentam e completam seu estágio larval (quatro instares) dentro do grão. Em seguida, empupam-se até a emergência e saída do adulto (Kumari et al., 2022). O gorgulho-domilho apresenta comportamento canibal entre indivíduos, por isso raramente emerge mais de um indivíduo adulto por grão (Faroni et al., 2006).

O desenvolvimento desta praga da fase larval até a fase adulta é de cerca de 30 dias, e os indivíduos adultos possuem longevidade de 3 a 6 meses (Correas, 2020). Os danos causados aos grãos em armazenamento se devem principalmente a postura dos ovos que eclodem em larvas no interior dos grãos e também a sua alimentação favorecendo a instalação de outros parasitas deixando os grãos destruídos e esvaziados reduzindo seus valores nutricionais, tornando-se inviáveis para a comercialização e germinação (Martins, et al., 2022). Essa espécie apresenta características como: alta capacidade de reprodução, facilidade de penetração na massa de sementes (Rodrigues et al., 2019), número elevado de hospedeiro, além de conseguir sobreviver em grandes profundidades no produto armazenado (Carneiro, 2019).



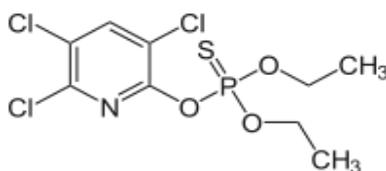
**Figura 10:** Sintomas e danos causados pelo gorgulho-do-milho (*Sitophilus zeamais*) em grãos de milho.

Fonte: Obembe, O.M. (2017)

### 2.10) Estratégias de manejo químico do Gorgulho-do-milho (*Sitophilus zeamais*)

O controle do *S. zeamais* é feito, comumente, por inseticidas químicos sintéticos à base de organofosforados e fumegantes à base de fosfina (Scopel et al., 2018), devido à facilidade na aplicação, rapidez de ação e baixo custo financeiro (Zilch, 2021), contudo, mesmo sendo eficazes podem causar intoxicação aos aplicadores, originar insetos-pragas resistentes, contaminar os grãos com resíduos tóxicos e impactar negativamente o meio ambiente (Rodrigues et al., 2019).

O organofosforado clorpirifós (IUPAC nome: O,O-dietil O-3,5,6-tricloropiridin-2-ol fosforotioato) é um inseticida amplamente utilizado para controlar uma variedade de pragas agrícolas, incluindo o gorgulho do milho (*Sitophilus zeamais*) e atua como um inseticida de contato e ingestão, interferindo com o sistema nervoso dos insetos, levando à paralisia e morte (Drosdoski et al., 2024). Nos estudos de toxicidade aguda, o clorpirifós apresentou toxicidade alta, moderada e baixa quando administrado pelas vias oral, cutânea e inalatória, respectivamente, sendo classificado como “tóxico por ingestão” e “nocivo em contato com a pele” pela agência europeia. Na Europa, o Clorpirifós teve sua aprovação expirada em 2020 devido a preocupações com aspectos toxicológicos, como potencial genotóxico e neurotoxicidade para o desenvolvimento. A agência europeia concluiu que não era possível estabelecer valores de referência toxicológicos para avaliações de risco (EFSA, 2019).



**Figura 11:** Estrutura química do clorpirifós. Fonte: Sigma-aldrich, 2016

Os fumigantes sintéticos são medidas mais eficazes em todos os estágios de desenvolvimento dos insetos dentro das instalações de armazenamento, devido à facilidade de difusão em locais fechados, mantendo a integridade dos alimentos para comercialização (Nayak et al., 2020; Singh et al., 2021).

O fumigante à base de fosfina mais comumente utilizado no controle de *Sitophilus zeamais*, o gorgulho do milho, é o fosfeto de alumínio (AIP), que libera fosfina (PH<sub>3</sub>) quando entra em contato com a umidade do ar. A fosfina é altamente eficaz no controle de uma variedade de pragas de grãos armazenados, incluindo o gorgulho do milho, devido à sua ação tóxica no sistema respiratório dos insetos. Porém o produto é considerado fatal se ingerido ou inalado e é nocivo em contato com a pele. Pode provocar danos ao Sistema Nervoso Central, coração, pulmões, trato gastrointestinal, fígado e rins (ANVISA, 2023).

Apesar da eficácia dos produtos sintéticos, a aplicação em larga escala resultaram em efeitos adversos sobre organismos não-alvo e no meio ambiente, bem como no desenvolvimento de resistência entre insetos-pragas. Portanto, é necessário buscar alternativas mais seguras, como a utilização de produtos de origem vegetal, como é o caso dos inseticidas botânicos (Nayak et al., 2020; Singh et al., 2021).

### **3. OBJETIVOS**

#### **3.1) OBJETIVO GERAL**

Avaliar a toxicidade do óleo essencial de *Tithonia diversifolia* (Hemsl.) A. Gray em pragas agrícolas.

#### **3.2) OBJETIVOS ESPECÍFICOS**

- A. Determinar os principais componentes químicos do óleo essencial de *T. diversifolia*
- B. Realizar testes de toxicidade do óleo essencial *Tithonia diversifolia* em modelo animal *C. elegans* e comparar com as substâncias comercialmente (óleo de neem e Vertimec).

- C. Avaliar a toxicidade via fumigação do óleo essencial de *Tithonia diversifolia* no controle do ácaro-rajado (*Tetranychus urticae*).
- D. Avaliar a toxicidade via fumigação do óleo essencial de *Tithonia diversifolia* no controle do Gorgulho-do-milho (*Sitophilus zeamais*).

## **4. METODOLOGIA**

### **4.1) Coleta de plantas e identificação etnobotânica.**

As folhas *Tithonia diversifolia* foram coletadas em 30 de agosto de 2022, na Fazenda São Jorge (latitude: 19.503 S, longitude: 41.065 W e altitude: 193 m) localizada no Município de Itaguaçu, sudeste do Estado do Espírito Santo, Brasil. O estudo começou com a retirada de 10 kg de folhas antes do período de floração, permitindo que um maior nível de metabólitos secundários se concentrasse nas folhas (Gama, 2014). A identificação taxonômica da planta foi realizada no Herbário Mello Leitão Museu de Biologia, com o exemplar número de registo MBML 55380. O uso popular de *T. diversifolia* como biopesticida contra pragas nas plantações motivou a seleção desta planta para estudo (Ajao et al., 2021).

### **4.2) Dados edafoclimáticos**

Os dados climatológicos no momento da coleta foram extraídos pelo Instituto Capixaba de Pesquisa, Assistência Técnica e Extensão Rural (INCAPER) na estação mais próxima do local de coleta no município de Aimorés (MG), localizado a 59,7 km da Fazenda São Jorge. Amostras de solo para análise foram coletadas entre as plantas utilizadas para extração do óleo essencial em três pontos considerando o raio da distância entre a planta e a projeção da sua copa no solo. A espectrofotometria de absorção atômica foi utilizada para a determinação de cálcio e magnésio, esse método ocorre através da atomização da amostra, absorção de luz específica pelos elementos em um espectrômetro, e quantificação baseada na intensidade de absorção comparada a padrões de calibração. A espectrometria de emissão atômica com plasma indutivamente acoplado (ICP-AES óptico) foi utilizada para a quantificação de enxofre, cobre, potássio, manganês, ferro e zinco, esse método consiste na excitação dos átomos dos elementos pela energia do plasma, seguida pela medição da luz emitida em comprimentos de onda específicos correspondentes aos elementos analisados. A colorimetria foi utilizada para determinação de matéria orgânica, boro

(colorimetria azometina-H) efósforo (colorimetria ortofosfórica) no solo baseando-se na formação de complexos coloridos cuja intensidade é proporcional à concentração do analito, medida por espectrofotometria e o pH foi determinado pelo método eletrométrico que ocorre através da medição do potencial elétrico entre um eletrodo de vidro e uma referência, enquanto a acidez potencial utiliza titulação para quantificar a acidez ativa e trocável no solo. Todas as análises seguiram os métodos de Raij et al. (2001) e Teixeira (2017).

#### **4.3) Análise foliar**

Para análise química das folhas foram escolhidas 3 plantas, e 5 folhas recém-maduras do terço superior da copa foram coletadas de cada planta com base no método de Reuter (2021), que envolve a coleta padronizada de uma quantidade específica de folhas de uma planta, geralmente selecionando folhas maduras e saudáveis de diferentes partes da planta, como ramos principais e secundários, para representar de forma adequada o estado nutricional da planta como um todo. Os minerais analisados foram N, P, K, Ca e Mg, onde o N foi analisado pelo método Kjeldahl que envolve a digestão ácida da amostra, liberação do amoníaco, captura em solução ácida e titulação para determinar a concentração de nitrogênio, já o P por colorimetria em que a amostra foliar é digerida e o fosfato resultante reage com reagentes específicos para formar um complexo colorido, cuja intensidade é medida por espectrofotometria. O K, Ca e Mg por absorção atômica onde a amostra é digerida em ácido e os íons liberados são detectados pela absorção de luz em comprimentos de onda característicos para cada elemento. As análises foram realizadas de acordo com os métodos da Association of Official Analytical Chemists – AOAC (2016). As análises de solo e foliar foram realizados no Laboratório FULLIN (Análise Agronômica e Ambiental LTDA).

#### **4.4) Extração e análise do óleo essencial**

Dez quilogramas de folhas foram coletados, triturados e armazenados em freezer, em blocos de 1 kg a -20 °C por 3 dias. Então, o óleo essencial foi obtido por meio de destilação a vapor em aparelho tipo Clevenger, a 60 °C entre 3-4 h de duração (Oliveira et al. 2020) com balão de 5 litros. Após a extração, o óleo foi armazenado em frasco de vidro âmbar na geladeira a -5°C até a análise. Para calcular o rendimento do óleo foi utilizada a equação 1 (Santos et al. 2004).

$$TO = \frac{Vo}{Bm - \left(\frac{Bm \times U}{100}\right)} \times 100 \quad (1)$$

onde:

TO = teor de óleo (mL de óleo essencial em 100 g de biomassa seca) ou rendimento de extração (%)

Vo = volume de óleo extraído (ml)

Bm = biomassa vegetal (folhas) (gramas)

U = umidade da biomassa, base úmida (%)

A análise dos componentes voláteis do óleo essencial de *T. diversifolia* foi realizado no Laboratório Central de Análises 1 (UFES/Alegre) por cromatografia gasosa (Shimadzu GCMS-QP2010 SE; Japão) com coluna capilar (Support Rx-5Sil MS; 30 mx 0,25 mm, espessura de filme 0,25 µm). As análises cromatográficas foram realizados com vazão de gás de arraste (hélio) de 1 ml/min e uma proporção de divisão de 1:10. Após 1 min a 60°C, a temperatura foi elevada para 250°C (4°C/min) e mantida a 250°C durante 15 min. Os espectros de massa foram obtidos a 70 eV. Para análise, 30 µL de óleo essencial puro foi diluído em 970 µL de hexano, e 1 µL desta solução foi injetado no dispositivo. A identificação dos constituintes voláteis foi feita com base nos seus índices de retenção (Kovats, 1965) e nos seus espectros de massa, que foram comparados com dados de referência (Adams, 2001).

#### **4.5) Obtenção e criação de *T. urticae***

A população de *T. urticae* utilizada nos bioensaios foi estabelecida a partir de coletas em plantios de morango em 2011 no município de Guaçuí - ES (20° 46' 36,48" S e 41° 40' 37,92" O) e a criação foi mantida a 25 ± 1 °C, U.R. 70 ± 10% e fotofase de 12 h, em plantas de feijão-de-porco, *Canavalia ensiformes* L. DC (Fabaceae) que eram substituídas a cada cinco dias por plantas saudas.

#### **4.6) Obtenção e criação de *S. zeamais***

A coleta dos insetos foi realizada em plantio de milho no município de Alegre em 2012. A criação e manutenção dos insetos foi realizada a partir de populações puras obtidas no laboratório do Núcleo de Desenvolvimento Científico e Tecnológico em Manejo de Pragas

e Doenças (NUDEMAFI) no Centro de Ciências Agrárias e Engenharia da Universidade Federal do Espírito Santo (CCAUE-UFES) em Alegre, Espírito Santo, Brasil, localizado nas coordenadas latitude 20° 45' 49" S e longitude 41° 31' 58" W. Para a sincronização da idade dos gorgulhos, foram utilizados 6 recipientes de vidro com capacidade para 2 litros contendo 100g de milho branco e 50 insetos adultos não sexados para efetuarem a postura. Para evitar a fuga dos insetos os recipientes de criação foram fechados com tecido tipo organza, permitindo assim a respiração dos mesmos. Os recipientes contendo os insetos foram mantidos em temperatura 26°C ( $\pm 2$  °C) e umidade relativa de 70% e fotofase de 12 horas. Após o período de 10 dias de confinamento, os gorgulhos adultos foram retirados dos recipientes de vidro e descartados, em seguida os recipientes contendo sementes com a postura foram estocados até a emergência da próxima geração (Rossetto, 1972).

## 4.7) Ensaios

### 4.7.1) Ensaio de toxicidade no modelo animal *Caenorhabditis elegans*

Para avaliar a toxicidade do óleo essencial de *T. diversifolia*, no nematóide *C. elegans*, este foi criado no Laboratório LabCardio da Universidade Vila Velha, foi utilizado como organismo modelo. Os vermes foram criados em placas contendo meio de crescimento para nematóides, semeados com *Escherichia coli* OP50 e incubados a 20 °C (Brenner, 1974). Para obtenção dos nematóides no primeiro estágio larval (L1), os vermes foram transferidos para três placas contendo meio de cultura e solução contendo *E. coli* NA22 por 48 h em demanda biológica de oxigênio (BOD) incubadora (modelo TE-371/240 L, Tecnal) a uma temperatura de 20°C para estimular a reprodução. O processo de sincronização dos nematóides no estágio L1 foi iniciado lavando as placas com água autoclavada e transferindo os vermes para tubos de 15 ml para que a centrifugação e deposição dos vermes grávidos no fundo dos tubos pudessem ser realizadas. O próximo passo para a obtenção de vermes no estágio L1 foi a liberação de ovos de nematóides grávidos (Augusti et al., 2017; Rangsinth et al., 2019). Para isso, uma solução de lise contendo 10 ml de alvejante, 5 mg de hipoclorito (NaOCl), 1,2 g de NaOH e 3 ml de água autoclavada foram adicionados aos tubos, que foram agitados por 6 min e depois centrifugados por 6 min. Após a remoção do sobrenadante, o pellet foi lavado com água estéril e centrifugado por 6 minutos. Após o descarte da água os ovos sedimentados foram ressuspensos em solução tampão M9 (Rangsinth et al., 2019) e colocados em placas contendo meio de

crescimento de nematóides sem adição de bactérias em incubado por 16h para eclosão dos ovos.

Uma vez coletados os nematóides no primeiro estágio larval, 50 µL de cada tratamento e controles positivos e negativos foram aplicados em microtubos contendo aproximadamente 1.000 vermes, e estes foram completados com tampão M9 até que o volume final em cada microtubo fosse de 1.000 µL, em seguida foram agitados durante 30 min para testes de toxicidade aguda. Foram realizadas três repetições com duas replicatas contendo cada um dos seguintes tratamentos: duas concentrações diferentes de óleo essencial de *T. diversifolia* (0,3 µL e 30 µL) dissolvido em 0,1 ml de dimetilsulfóxido (DMSO) em 10 ml de água autoclavada, resultando nas concentrações finais de 0,3 e 30µL de óleo essencial por minilitro da solução. Já o óleo de neem foi utilizado conforme especificado na bula do fabricante numa concentração de 5 ml por litro de água contendo 300 µL de azadiractina resultando na concentração 0,3 µL/ml, concentração essa que foi usada como base nas duas concentrações do óleo essencial de *T. diversifolia* neste ensaio, e o pesticida químico Vertimec® na concentração de 4,79 ml de abamectina por litro (conforme especificado na bula do fabricante) e 0,1 ml de DMSO (para avaliar se o solvente pode ser tóxico nesta concentração). Cinquenta microlitros do vermífugo levamisol diluídos em 950 µL de M9 foram utilizados como controle positivo e 1000 µL de tampão M9 foram utilizados como controle negativo. Após os vermes terem estado em contato com os diferentes produtos testados por 30 min, os microtubos foram centrifugados (para manter os vermes no fundo do microtubo), 500 µL do sobrenadante foram removidos e a mesma quantidade de M9 foi adicionada para homogeneização (este procedimento foi repetido três vezes para garantir que nenhuma das substâncias avaliada entrasse em contato com os vermes). Finalmente os vermes foram colocados em placas de Petri separadas por tratamento contendo 10 µL de *E. coli* OP50 (Augusti et al., 2017), e a taxa de mortalidade dos vermes foi avaliada usando um microscópio após mantê-los na incubadora BOD por 24 horas (Charão et al., 2015).

Após 48 h de exposição aos diferentes tratamentos, o desenvolvimento dos nematóides foi avaliado utilizando um microscópio (microscópio Leica DMLS, Alemanha) medindo a área corporal (µ<sup>2</sup>) dos vermes adultos. As placas contendo os vermes expostos aos diferentes tratamentos nos testes de toxicidade aguda foram lavadas com água autoclavada, e os vermes foram transferidos para tubos plásticos, os quais permaneceram mantidos em repouso até a decantação dos mesmos. Para remover as bactérias que permaneceram no

meio de cultura do nematóide, o sobrenadante foi descartado e o processo repetido até que uma solução límpida fosse obtida. Para tirar fotos, 15 µl da solução com os nematoides foram colocados em uma lâmina coberta de agarose, e 30µl de levamisol a 2,25% foi adicionado. Dez vermes submetidos a cada tratamento foram fotografados, e o contorno de seus corpos medidos usando o software AxioVision versão 4.8.2 (Augusti et al., 2017; Charão et al., 2015).

#### **4.7.2) Ensaio de toxicidade sobre *T. urticae* do óleo essencial de *T. diversifolia* via fumigação**

Para avaliar o efeito acaricida do óleo de *T. diversifolia*, foram realizados os ensaios para análise da toxicidade via fumigação do óleo essencial *T. diversifolia* em fêmeas adultas de *T. urticae*, sendo conduzidos na temperatura de  $27,4 \pm 1,9^{\circ}$  C, umidade relativa de  $61,5 \pm 7,0\%$  e fotofase de 12 h no Núcleo de Desenvolvimento Científico e Tecnológico em Manejo Fitossanitário de Pragas e Doenças (NUDEMAFI) localizado no campus de Alegre da Universidade Federal do Espírito Santo. Discos foliares de feijão-de-porco de 3 cm de diâmetro foram acondicionados em copos plásticos de 50 ml forrados internamente com uma fina camada de algodão úmido, para que os discos foliares permanecessem turgidos durante o teste e para que impedisse a fuga dos ácaros da área foliar. Posteriormente 10 fêmeas adultas de *T. urticae* entre 24 e 48 horas de idade foram transferidas cuidadosamente da criação para os discos foliares localizado no fundo dos copos plásticos, em seguida os pequenos copos plásticos com os discos foliares com as fêmeas adultas de *T. urticae* foram colocadas no fundo de recipientes de vidro de 120 ml e utilizadas como câmaras de fumigação. O óleo essencial de *T. diversifolia* foi aplicado com pipetador automático, em papéis filtro com 18 cm<sup>2</sup>, fixados na superfície inferior da tampa dos recipientes de vidro (câmara de fumigação) permanecendo os ácaros expostos ao vapor do óleo essencial por 48 horas. Para a vedação, os potes de vidro (câmaras de expurgo) foram envolvidos com plástico filme de PVC. Decorridos 48 horas de exposição ao óleo, foi contabilizado o número de ácaros vivos e mortos. Os ensaios foram realizados por delineamento inteiramente casualizado com cinco doses do óleo essencial de *T. diversifolia* (5 µL / L, 10 µL / L, 20 µL / L, 40 µL / L e 80 µL / L de ar) e um controle negativo (sem óleo essencial), sendo cada tratamentos com cinco repetições, as doses foram determinadas através de ensaios preliminares. Para avaliação da mortalidade dos ácaros foi utilizado um estereomicroscópio binocular (ECZ-BLACK) com aumento de 80x e os ácaros que não

apresentaram movimento após um leve toque com uma pinça em seu cefalotórax foram considerados mortos.



Figura 12: Câmara de fumigação para teste de toxicidade em *T. urticae*. FONTE: Autor

#### 4.7.3) Ensaio de toxicidade em *S. zeamais* do óleo essencial de *T. diversifolia* via fumigação

Para avaliação do efeito fumigante do óleo essencial de *T. diversifolia* sobre adultos de *S. zeamais* foi utilizada a metodologia descrita por Aslan et al. (2004) com adaptações. No interior de recipientes de vidro de 500 ml foram adicionados 15 g de milho branco, *Zea mays* L. (Poaceae) e os mesmos foram infestados com 20 adultos não sexados de *S. zeamais* com 0 a 15 dias de idade. Na parte inferior da tampa dos recipientes foram pipetados 5 concentrações diferentes do óleo essencial de *T. diversifolia* (5  $\mu$ L / L, 10  $\mu$ L / L, 20  $\mu$ L / L, 40  $\mu$ L / L e 80  $\mu$ L / L de ar) e um controle negativo (sem óleo essencial) e os recipientes devidamente tampados e as tampas vedadas por plástico filme, as concentrações utilizadas foram determinadas de acordo com as utilizadas nos testes de fumigação usadas nos testes de mortalidade utilizadas no controle do ácaro-rajado. Após 48 horas foi feita a contagem de insetos vivos e mortos e determinadas as porcentagens de mortalidade de insetos, sendo considerados mortos os indivíduos que não se moviam ao serem tocados com um pincel.

#### 4.7.4) Ensaio de repelência em *S. zeamais* do óleo essencial de *T. diversifolia* via fumigação

Neste ensaio foram realizados dois testes com livre chance de escolha empregando-se uma metodologia adaptada de Nunes e Rizental (2015). No primeiro teste foram utilizadas seis arenas plásticas de 120 ml, interligados simetricamente a um recipiente central do mesmo volume por tubos plásticos. Na arena central foram liberados 20 insetos adultos de *S.*

*zeamais*, todos com idade de 5 a 10 dias e nas outras seis arenas interligados a esta foram adicionados 10g de milho. O lado inferior das tampas das seis arenas periféricas contendo milho receberam folhas de papel filtro de 2 cm<sup>2</sup> onde foram pipetados (pipeta automática), cinco diferentes concentrações do óleo essencial de *T. diversifolia* (5, 10, 20, 40 e 80µL/L de ar) e o controle (sem óleo essencial). Após 24 horas de exposição foi contabilizado a quantidade de insetos atraídos para o controle negativo e para as diferentes concentrações do óleo essencial sendo três repetições utilizadas neste primeiro ensaio para a realização do cálculo de índice de repelência. O índice de repelência (IR%) foi calculado para cada uma das doses do óleo essencial pelo modelo de equação adotado por Guerra e colaboradores em 2019 através da seguinte equação:

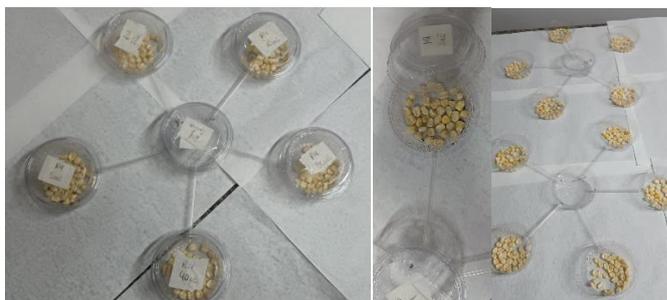
$$IR(\%) = 100 - \left[ \left( \frac{T}{T + C} \right) * 100 \right]$$

Onde: IR (%) = índice de repelência.

T = número de insetos sobre a superfície tratada.

C = número de insetos sobre a superfície controle

Já para o segundo teste de repelência, foram utilizados cinco recipientes plásticos interligados a um central, neste segundo teste foram feitas cinco repetições com as mesmas concentrações do óleo essencial de *T. diversifolia* do teste anterior porém sem o controle negativo. Este segundo teste foi realizado para determinar a concentração mínima do óleo essencial suportável pelos insetos. Após 24 horas foram observadas a quantidade de insetos atraídos para as diferentes concentrações do óleo essencial.



**Figura 13:** Arenas para teste de repelência em *S. zeamais* do óleo essencial de *T. diversifolia* por fumigação. FONTE: Autor

#### 4.8) Análise estatística

Para avaliação da toxicidade e desenvolvimento do óleo essencial de *Tithonia diversifolia* sobre o organismo modelo *Caenorhabditis elegans* foi realizada a análise de variância unidirecional (ANOVA), e o teste de Tukey foi utilizado para comparar médias utilizando o software GraphPad Prism 6.0. Já os resultados obtidos através da toxicidade por fumigação do óleo essencial sob o ácaro-rajado e testes de repelência sob *Sithophilus zeamais* foram submetidos à análise de variância e os ajustes de modelo de regressão linear ou quadrático com nível de significância de 5%, com auxílio do programa estatístico GraphPad Prism 6.0 software.

## 5. RESULTADOS:

### 5.1) Dados edafoclimáticos e análise foliar de *T. diversifolia*

A Tabela 3 e 4 apresentam respectivamente as condições climáticas locais no momento da coleta das folhas de *Tithonia diversifolia* e os valores obtidos da análise de solo e análise foliar no momento da coleta.

**Tabela 3.** Condições climáticas locais no momento da coleta das folhas de *T. diversifolia*. Os dados são as médias de três repetições  $\pm$  seu desvio padrão. Onde a temperatura foi aferida em graus Celsius, umidade relativa em porcentagem, velocidade do vento em metros por segundo, radiação solar em quilojoules por metro quadrado e precipitação em milímetros por metro quadrado.

Data	Tempo	Temperatura média (°C)	Umidade relativa (%)	Velocidade do vento (m/s)	Radiação solar (KJ/m <sup>2</sup> )	Chuva (mm/m <sup>2</sup> )
30/08/2022	09:00	18,5	87	3,2	92	0
	10:00	19,3	88	1,6	241	0
	11:00	20,9	88	1,6	334	0
		19,5 $\pm$ 1,2	87,6 $\pm$ 0,5	2,1 $\pm$ 0,9	222,3 $\pm$ 122	0

A Tabela 4 apresenta os resultados da análise de solo e da análise química das folhas de *T. diversifolia*, informando-nos sobre os nutrientes mais importantes para o desenvolvimento das plantas (N, K, P, Ca, Mg e S), conhecidos como macronutrientes (Du et al., 2020) e aqueles encontrados em menores quantidades (Fe, Mn, B, Zn e Cu), conhecidos como micronutrientes, que, apesar de serem encontrados em menores quantidades, são fundamentais para catalisar reações químicas essenciais ao desenvolvimento das plantas (Broadley et al., 2012), além do teor de matéria orgânica do solo e do potencial de hidrogênio (pH), que foi ligeiramente ácido.

**Tabela 4:** Resultados obtidos através da análise de solo e folhas de *T. diversifolia*. Os dados são as médias de três repetições  $\pm$  seu desvio padrão. Onde mg/dm<sup>3</sup> significa miligramas por decímetro cúbico, cmol c/dm<sup>3</sup> significa centimol por decímetro cúbico, dag/Kg significa decagrama por quilograma, g/Kg significa gramas por quilograma e mg/Kg significa miligramas por quilograma.

Análise de solo		Análise foliar	
Potássio (K)	176 mg/dm <sup>3</sup> $\pm$ 72,02	Nitrogênio (N)	38,24 g/Kg $\pm$ 2,58
Ferro (Fe)	117,33 mg/dm <sup>3</sup> $\pm$ 66,42	Potássio (K)	28,12 g/Kg $\pm$ 12,4
Manganês (Mn)	43,33 mg/dm <sup>3</sup> $\pm$ 30,02	Cálcio (Ca)	21,51g/Kg $\pm$ 1,81
Fósforo (P)	18 mg/dm <sup>3</sup> $\pm$ 22,60	Magnésio (Mg)	6,94 g/Kg $\pm$ 1,16
Enxofre (S)	8,66 mg/dm <sup>3</sup> $\pm$ 4,72	Fósforo(P)	3,66 g/Kg $\pm$ 0,71
Sódio (Na)	5,33 mg/dm <sup>3</sup> $\pm$ 0,57	Enxofre (S)	3,48 g/Kg $\pm$ 0,13
Zinco (Zn)	3,93 mg/dm <sup>3</sup> $\pm$ 2,12	Ferro (Fe)	226 mg/Kg $\pm$ 69,39
Cobre (Cu)	0,3 mg/dm <sup>3</sup> $\pm$ 0,17	Manganês (Mn)	170 mg/Kg $\pm$ 81,29
Boro (B)	0,16 mg/dm <sup>3</sup> $\pm$ 0,02	Boro (B)	129 mg/Kg $\pm$ 13,11
Cálcio (Ca)	2 cmol c/dm <sup>3</sup> $\pm$ 1,03	Zinco (Zn)	78 mg/Kg $\pm$ 16
Magnésio (Mg)	1,16 cmol c/dm <sup>3</sup> $\pm$ 0,72	Cobre (Cu)	11 mg/Kg $\pm$ 2,64
Alumínio (Al)	0,06 cmol c/dm <sup>3</sup> $\pm$ 0,11		
Matéria Orgânica	1,4 dag/Kg $\pm$ 0,5		
pH	6 $\pm$ 0,7		

## 5.2) Análise química do óleo essencial

A extração do óleo essencial de *T. diversifolia* apresentou rendimento de 0,02% e na tabela 6 estão presentes os resultados da análise cromatográfica do mesmo. Os principais componentes foram  $\beta$ -pineno,  $\alpha$ -pineno e limoneno, que juntos perfazem 80,1% dos componentes do óleo.

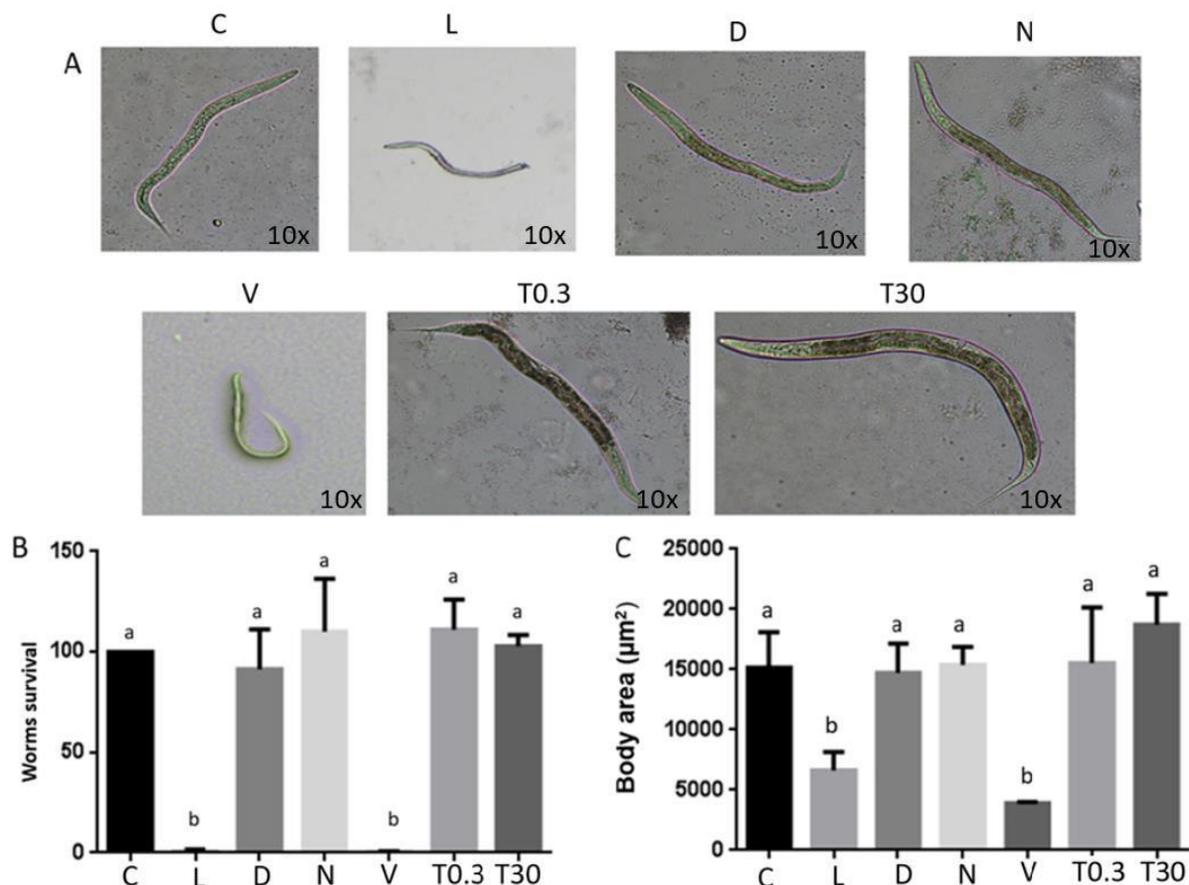
**Tabela 5.** Resultados da análise cromatográfica do óleo essencial das folhas de *T. diversifolia*.

Composto	Tempo de retenção (RT)	Kovats calculado	Nota (%)
$\beta$ -pineno	10,69	977	32,67
$\alpha$ -pineno	8,85	935	24,74
Limoneno	13,16	1030	22,69
(E)- $\beta$ -ocimeno	13,75	1043	5,64
Sabineno	10,61	975	5,03
Bornéol	19,98	1170	2,38

Canfeno	9,45	950	2,21
Espatulenol	38,23	1582	1,58
$\beta$ -cariofileno	31,52	1420	1.14
Total	-	-	98,08

### 5.3) Ensaio de toxicidade e desenvolvimento utilizando o modelo animal *Caenorhabditis elegans*

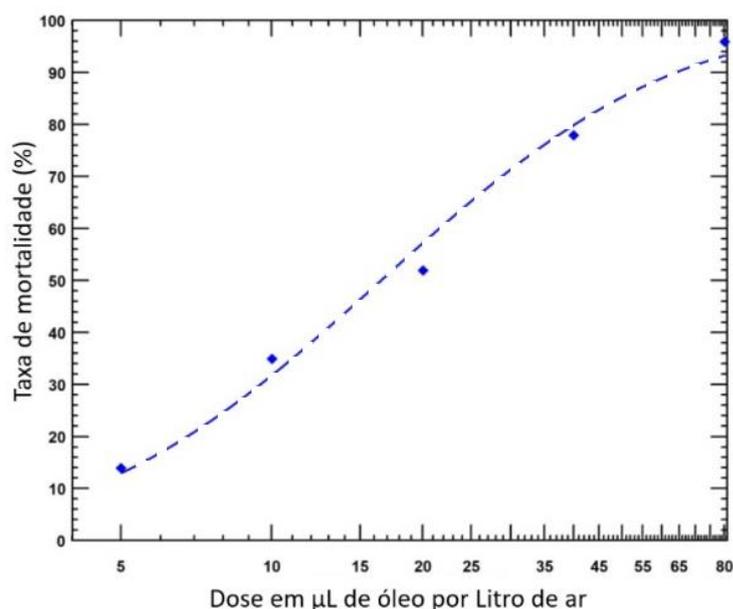
A Figura 14 (Painel A) mostra imagens com ampliação de 10x da variação no desenvolvimento do nematóide *C. elegans* 48 h após exposição aos diferentes tratamentos e controles por 30 minutos. O desenvolvimento do nematóide não mostrou diferença significativa entre o controle negativo (C), solvente DMSO (D), óleo de neem na concentração de 30  $\mu$ L de azadiractina (N) e óleo essencial de *T. diversifolia* nas concentrações de 0,3  $\mu$ L (T0,3) e 30  $\mu$ L (T30). No entanto, os nematóides apresentaram uma redução significativa no desenvolvimento em comparação como tratamento com 50  $\mu$ L levamisol (L), utilizado como controle negativo, e o tratamento com 4,79 mg/L de abamectina, composto encontrado no pesticida químico Vertimec® (V) (Painel C). A taxa de sobrevivência do organismo modelo é mostrada no Painel B, demonstrando que os nematóides não sobreviveram à exposição ao levamisol (L) e ao pesticida Vertimec® (V) e tiveram uma taxa de sobrevivência quase zero em comparação com o controle (C) e o outros tratamentos.



**Figura 14.** Sobrevivência e análises de desenvolvimento dos nematoides e após o protocolo de tratamento. **Painel A:** imagens obtidas em microscópio óptico com aumento de 10x do nematoide *C. elegans* após teste de toxicidade aguda das diferentes substâncias avaliadas. **Painel B:** barra gráfica da taxa de sobrevivência dos nematoides após 30 minutos de contato com as diferentes substâncias analisadas. **Painel C:** avaliação da área corporal dos animais após exposição aos diferentes tratamentos. Controle (C), Levamisol (L), D (DMSO), óleo de Neem (N), Vertimec® (V), óleo essencial de *T. diversifolia* na concentração de 0,3µL (T0,3) e 30µL (T30). Foi utilizada ANOVA unidirecional seguida pelo teste t de Tukey. Os dados são expressos como média ± desvio padrão. Colunas com letras diferentes indicam diferenças significativas ( $p \leq 0,05$ ).

#### 5.4) Ensaio da atividade acaricida em *T. urticae* do óleo essencial de *T. diversifolia* via fumigação

Os resultados obtidos da atividade acaricida por fumigação das diferentes concentrações do óleo essencial de *T. diversifolia* podem ser evidenciados no gráfico 1 em escala logarítmica de base 10.

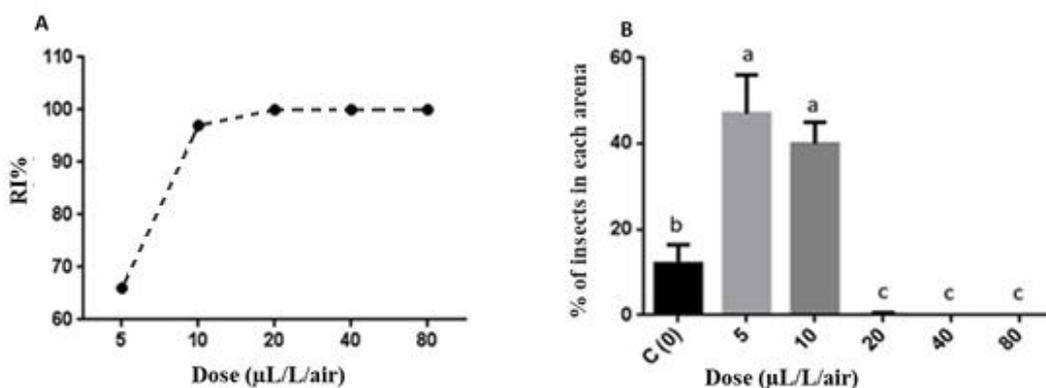


**Figura 15:** Mortalidade do ácaro-rajado, *T. urticae* pelo óleo essencial de *T. diversifolia* após 48 horas de exposição em temperatura de  $25 \pm 1$  °C, U.R.  $70 \pm 10\%$  e fotofase de 12 h.

Os resultados obtidos demonstram que as porcentagens da taxa de mortalidade de *T. urticae* são proporcionais ao aumento da concentração do óleo essencial de *T. diversifolia* a partir de 5 µL por litro de ar e estabilizando-se a partir da dose de 80 µL por litro de ar, no teste por fumigação após as 48 horas de exposição.

### 5.5) Ensaio da atividade repelente em *S. zeamais* do óleo essencial de *T. diversifolia* via fumigação

Após a avaliação inseticida por fumigação do óleo essencial de *T. diversifolia* não apresentar mortalidade nos insetos-praga (*S. zeamais*) de grãos armazenados (dados não mostrados), os testes de repelência apresentaram resultados promissores. Os resultados referentes ao índice de repelência em *S. zeamais* em relação as diferentes concentrações do óleo essencial de *T. diversifolia* e a porcentagem de insetos presentes em cada uma das arenas contendo as diferentes concentrações do óleo essencial estão demonstrados nos Gráficos 2, respectivamente.



**Figura 16:** Efeito do óleo essencial de *T. diversifolia* sobre *S. zeamais*. **A** - índice de repelência com livre chance de escolha por *S. zeamais* em relação as diferentes concentrações do óleo essencial de *T. diversifolia* e **B** - porcentagem de insetos presentes no centro da arena (C) e nas diferentes arenas contendo concentrações do óleo essencial. Dados submetidos a análise de análise de variância de uma via (ANOVA), seguido pelo teste *Tukey* para comparações múltiplas. Letras diferentes indicam diferenças significativas ( $p \leq 0,05$ ).

## 6. DISCUSSÃO

Os metabólitos secundários, especialmente os terpenos, desempenham um papel crucial na resposta de defesa das plantas contra ácaros e insetos parasitas. Esses compostos químicos voláteis e não voláteis são sintetizados e acumulados em diferentes tecidos vegetais como uma estratégia adaptativa contra herbívoros (Dias et al., 2012). Os terpenos atuam como agentes repelentes, tóxicos ou inibidores de alimentação para uma variedade de organismos herbívoros, interferindo em seus processos fisiológicos, comportamentais e metabólicos. Além disso, a diversidade estrutural dos terpenos permite que as plantas modifiquem suas respostas defensivas de forma específica, ajustando a produção e composição desses compostos em função do tipo e intensidade do ataque herbívoro. Essa interação planta-herbívoro, mediada pelos terpenos e outros metabólitos secundários, exemplifica a complexidade das estratégias de defesa das plantas na ecologia química (Ninkuu et al., 2021).

O método da hidrodestilação, como o realizado nas folhas de *T. diversifolia* neste estudo, é o principal método de extração de óleos essenciais que favorece a concentração de terpenos devido à sua utilização de vapor d'água como solvente e as características químicas dos terpenos como a lipofilia e volatilidade (Ye et al 2023). Devido a isso muitos

óleos essenciais de uma diversidade de plantas são investigados no controle de pragas agrícolas (Chaudhari et al 2021; Dassanayake et al 2021; Fierascu et al 2020).

Entre os terpenos, os monoterpenos, por serem moléculas menores apresentam maior volatilidade sendo capazes de serem detectados pelos insetos e ácaros através do olfato (Branco et al., 2023), como é o caso do  $\alpha$ -pineno,  $\beta$ -pineno, limoneno entre outros monoterpenos identificados no óleo essencial de *T. diversifolia* sendo cotidianamente utilizados como fonte de pesquisa na produção de inseticidas botânicos (Cossetin et al., 2021; Liao et al., 2022; Wang 2023). Esses compostos podem agir exercendo um fenômeno de antixenose, um mecanismo que perturba o modo de vida dos artrópodes, interferindo em seus sistemas sensoriais ou como moduladores de neurotoxinas prejudicando uma diversidade de artrópodes através do seu sistema nervoso (Glas et al., 2012). Esses moduladores agem principalmente interferindo nos canais de sódio dos neurônios dos insetos que são responsáveis por regular a entrada de íons sódio nas células nervosas, desempenhando um papel crucial na transmissão dos impulsos nervosos (Cáceres et al., 2023). Essas neurotoxinas, que são compostos naturais descobertos na década de 40 e com o passar dos anos transformadas em versões mais estáveis e eficazes no controle de pragas agrícolas. Essas substâncias são consideradas inofensivas ao meio ambiente, possuem baixa toxicidade para mamíferos, como demonstrado neste trabalho nos ensaios de avaliação de toxicidade em mamíferos utilizando o modelo animal *C. elegans* e, portanto, utilizado como ingrediente ativo na maioria dos inseticidas comerciais (Rodas, 2023).

A triagem fitoquímica do óleo essencial em estudo corrobora com análises anteriores realizadas por Ajao e Moteetee (2017) e Tagne et al. (2018), mas difere dos resultados de Lamaty et al. (1991), que identificaram 40,2% de (Z)- $\beta$ -ocimeno na amostra analisada. O rendimento do óleo essencial de *T. diversifolia* (0,02%) foi o mesmo encontrado por Akeumbiwo et al. (2023) mas diferiu novamente do resultado encontrado por Lamaty et al. (1991) para a plantas coletadas em Camarões, que teve resultado de 0,01%. Essa descoberta indica uma diferença nos rendimentos e composição química dependendo da localização, qualidade do solo, condições climáticas na época da colheita, condição das folhas, época e técnica de extração (Oyewole et al. 2008). Afa e colaboradores em 2015 destacaram em seus trabalhos o papel do ambiente na composição química e atividade biológica do óleo essencial de *T. diversifolia*.

Através deste trabalho foi constatado que o óleo essencial de *T. diversifolia* possui atividade acaricida em *T. urticae* por fumigação e a de repelência no coleóptero *S. zeamais* a partir do aumento da concentração do mesmo em ambiente controlado. Devi e colaboradores também demonstraram em 2022 esta atividade fumigante do óleo essencial desta mesma planta contra adultos do gorgulhodo-arroz, *Sitophilus oryzae* L., (Coleoptera: Curculionidae) em concentrações 95,77 e 74,68 µL/L e para o besouro castanho *Tribolium castaneum* Herbst (Coleoptera: Tenebrionidae) em concentrações de 102, 98 e 81µL/L de ar de após 24, 48 e 72 h respectivamente, demonstrando que o óleo essencial de *T. diversifolia* poderia ser utilizado no manejo desses insetos que são considerados causadores de grandes prejuízos em grãos armazenados.

Njuguna et al. (2022) demonstraram a ação dos monoterpenos do óleo essencial de *T. diversifolia* por meio de testes de em três parasitas de plantas com resultados satisfatórios: piolho-do-algodão *Aphis gossypii* Glover (Homoptera: Aphididae), tripés-do-tabaco *Thrips tabaci* Lind (Insecta: Thripidae) e mosca branca *Bemisia tabaci* Gennad (Hemiptera: Aleyrodidae). Essa atividade biopesticida do óleo essencial também foi identificada sobre bactérias (*Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae* e *Pseudomonas fuscovaginae*) na concentração de 125 µg/mL e fungos (*Bipolaris oryzae* e *Fusarium moniliforme*) em 5000 µg/mL, que são pragas agrícolas que acometem sementes de arroz em armazenamento, demonstrando que o óleo essencial de *T. diversifolia* pode ser usado como alternativa aos fumigantes sintéticos (Dongmo et al. 2021). Arantes e colaboradores em 2024 também evidenciaram a atividade pesticida dos componentes majoritários do óleo essencial de *T. diversifolia* ( $\alpha$ -pineno e  $\beta$ -pineno) no controle do carrapato-do-boi (*Rhipicephalus* (Boophilus) *microplus*).

A atividade repelente do óleo essencial de *T. diversifolia* também foi evidenciado por meio dos ensaios realizados em *S. zeamais* neste trabalho. Os dados obtidos corroboram com o estudo de Oyewole et al. (2008) em que o óleo essencial da folhas de *T. diversifolia* apresentou atividade repelente em diferentes concentrações contra picadas de *Anopheles gambiae* Giles (Diptera: Culicidae), *Aedes aegypti* L. (Diptera: culicidade) e *Culex quinquefasciatus* L. (Diptera: culicidade), e o autor atribuiu essa repelência a presença de monoterpenos como o  $\alpha$ -pineno,  $\beta$ -pineno, Limoneno, (E)- $\beta$ -ocimeno, Sabineno, canfeno, Espatulenol e  $\beta$ -cariofileno encontrados na composição do óleo essencial de *T. diversifolia*. O  $\beta$ -pineno, composto majoritário encontrado no óleo essencial da planta em estudo, exibiu repelência contra a Barata-germânica *Blattella germanica* (Blattodea: Blattellidae) em estudos realizados por Han e colaboradores em 2012.

A atividade inseticida do  $\beta$ -pineno,  $\alpha$ -pineno e Sabineno foram avaliadas por Cossetin et al (2021) através do óleo essencial da semente de *Myristica fragrans* (Houtt), (Noz-moscada) contra a moscadoméstica (*Musca domestica*) e a mosca cinzenta (*Chrysomya albiceps*); ambas importantes vetores de doenças infecciosas patogênicas. As concentrações de 26, 10,5 e 9,1% de  $\beta$ -pineno,  $\alpha$ -pineno e Sabineno respectivamente apresentaram concentração letal a 50% para os insetos expostos ao papel impregnado de óleo na concentração de 27,4  $\mu\text{cm}^2$ .

O limoneno também apresentou potente atividade repelente no besouro-da-farinha *Tribolium confusum* DuVal (Coleoptera: Tenebrionidae), praga de grãos armazenados por Liao e pesquisadores em 2023, e em 2022 este mesmo pesquisador avaliou a atividade fumigante do óleo essencial de *Taxodium zhongshansha* e do seu principal componente ativo, o limoneno, contra *Sitophilus zeamais* evidenciando os mecanismos moleculares que medeiam a atividade fumigante desse monoterpeneo no coleoptero. O limoneno presente no óleo essencial de *Taxodium zhongshansha* apresentou forte atividade fumigante contra *Sitophilus zeamais*, com concentração letal de 50% em 9,93  $\mu\text{L}$  por litro de ar em 24 h e o fosfeto de alumínio, usado como controle positivo foi de 1,91  $\mu\text{L}$  por litro de ar. E realizando uma análise transcriptômica nos insetos os pesquisadores deste estudo verificaram 3.982 genes regulados positivamente e 3.067 genes regulados negativamente em *S. zeamais* fumigados com limoneno, correspondendo esses genes regulados à desintoxicação metabólica. As concentrações do limoneno, presente em 22% do óleo essencial de *T. diversifolia*, utilizadas nos testes de repelência *S. Zeamais* neste estudo, foram 0,52  $\mu\text{L}$ , 1,05  $\mu\text{L}$  e 2,1  $\mu\text{L}$  por litro de ar nas concentrações de 20, 40 e 80  $\mu\text{L}$  respectivamente nas arenas contendo 120mL, insuficientes o bastatante para gerar mortalidade nos insetos, como na concentração de 9,93  $\mu\text{L}$  no óleo essencial de *Taxodium zhongshansha*, porém suficientes para causar repelência de 100% a partir da concentração de 20  $\mu\text{L}$  do óleo essencial de *T. diversifolia* no gorgulho-do-milho e concentração letal de 50% no ácaro rajado em observado neste trabalho. Isso classifica o limoneno como um terpeno que demonstra uma atividade biopesticida considerável e que mais estudos devem ser realizados com essa substância no controle de pragas agrícolas.

Pavela e Benelli (2016) associam os compostos majoritariamente encontrados no óleo essencial de *T. diversifolia*, como  $\beta$ -pineno,  $\alpha$ -pineno e limoneno, a distúrbios fisiológicos na respiração celular, sinapses e digestão, levando à morte da praga como verificado com o ácaro-rajado e também causando repelência como evidenciado no gorgulho-do-milho no

presente estudo, desta forma esses monoterpenos interferem nos sistemas sensoriais dos insetos, tornando o ambiente menos atraente para os mesmos.

A pesquisa sobre terpenos como ingrediente ativo no desenvolvimento de pesticidas tem visto um ressurgimento global devido ao seu baixo risco para o meio ambiente e para a saúde humana (Połec et al 2021). Testes para avaliação se uma determinada substância é segura para a utilização no controle de pragas agrícolas é essencial para e para ampliar o nosso conhecimento sobre a mesma avaliando sua utilização segura e possível comercialização. Os resultados dos testes de toxicidade e desenvolvimento realizados utilizando *C. elegans* como organismo modelo mostraram que as duas concentrações de óleo essencial de *T. diversifolia* não foram tóxicas ao nematoide e não apresentaram diferença significativa no desenvolvimento em relação ao controle negativo (M9) e ao biopesticida comercial óleo de neem. O solvente DMSO na diluição utilizada (0,3%) também não apresentou ser tóxico para *C. elegans*. Alokda et al. (2022) descobriram através de diversos testes que concentrações de DMSO de até 2% de DMSO não afetaram a longevidade em vermes do tipo selvagem, enquanto concentrações de até 0,5% de DMSO foram compatíveis com tempos normais de desenvolvimento. 0,5% de DMSO também teve efeito mínimo na fertilidade e no movimento. Em contrapartida, o pesticida químico Vertimec® 18 demonstrou alta toxicidade ao nematóide e alteração drástica do desenvolvimento, tendo resultados semelhantesA ao vermífugo levamisol.

Assim como as diferentes concentrações do óleo essencial de *T. diversifolia* foram testadas no organismo modelo *C. elegans*, o óleo de neem também foi avaliado de forma comparativa. O óleo de neem é um biopesticida que contém muitos constituintes bioativos, incluindo terpenóides, e a azadiractina, que é o principal ingrediente ativo, é um exemplo de triterpeno (Gupta et al., 2017). Vários relatórios detalharam as atividades antialimentar, ovicida, larvicida, reguladora do crescimento e repelente do óleo de neem contra uma grande variedade de insetos e pragas (Gökçe et al., 2011; Benelli et al., 2015; Kala et al., 2019). Porém, Araújo et al. (2010) relataram que o óleo de neem apresenta uma diminuição em sua atividade biopesticida ao longo do tempo devido a reações oxidativas com o meio ambiente causadas por processos de degradação acelerados pelo ar, metais, luz e calor. A degradação relativamente rápida do óleo de neem também foi observada por Bejaoui e colaboradores em 2021 através da diminuição da sua estabilidade durante o período de armazenamento de grãos armazenados, primeiramente pela degradação dos ácidos graxos poliinsaturados seguido dos ácidos graxos monoinsaturados e saturados. Esta baixa

persistência dos compostos do óleo de neem, devido à decomposição pela luz solar, também foi relatada por Isman em 1997 e está diretamente envolvida no seu alto custo de utilização em larga escala, sendo essas limitações encontradas na utilização de óleos essenciais no controle de pragas agrícolas. Apesar disso o estudo com óleos essenciais é válida pois através da descoberta de moléculas presentes nas plantas e seus respectivos óleos essenciais podemos produzi-las sinteticamente, como é o caso da azadiractina que enfrenta desafios significativos devido à sua complexidade estrutural, especificidade biológica e requisitos técnicos e regulatórios rigorosos (Kilani-morakchi et al., 2021).

A abamectina, um dos principais métodos de controle químico do ácaro-rajado e centenas de outras pragas agrícolas, é o ingrediente ativo do pesticida químico Vertimec®, que é um modulador alostérico e tem como alvo os canais de cloreto controlados pelo glutamato (GluCl) em artrópodes (Clark et al., 1995; Dent et al., 2000; Ludmerer et al., 2002; Mermans et al., 2017; Sparks et al., 2021) e mutações nestes genes que controlam tais moduladores estão diretamente associadas à resistência às avermectinas e já foram identificadas em *Drosophila melanogaster*, *Plutella xylostella* e no ácaro *Tetranychus urticae* (Riga et al., 2017; Wang et al., 2018; Xue et al., 2021). Por meio do processo de seleção natural, essas mutações levam ao surgimento de cepas de artrópodes resistentes ao princípio ativo do agrotóxico Vertimec®, causando perda de produtividade ou induzindo os agricultores a utilizarem o agrotóxico químico com maior frequência e quantidade, que, como foi relatado, causa danos à saúde dos consumidores, aos agricultores responsáveis pela aplicação dos agrotóxicos e ao meio ambiente. Vários casos de intoxicação com Vertimec® foram diagnosticados, um deles foi relatado por Pirasath et al., (2021), em que os agricultores que aplicaram o produto químico apresentaram náuseas intensas.

Em relação aos danos ambientais, a abamectina contida no Vertimec® causou toxicidade ao sistema respiratório das carpas ao desencadear estresse oxidativo, inflamação e apoptose e inibir a autofagia. Feng et al., (2023) demonstraram por meio de análises histológicas que a abamectina apresenta profunda toxicidade ao sistema respiratório dos peixes, demonstrando os riscos que os agrotóxicos lixiviados pela água da chuva representam aos sistemas aquáticos. Concentrações letais médias de pesticidas, incluindo abamectina, bem como níveis de atividades de acetilcolinesterase (AChE) e celulase, foram medidos em minhocas (*Eisenia fetida*) por Teng et al., (2022). À medida que a concentração de abamectina aumentou, as atividades de AChE e celulase diminuíram significativamente.

Este estudo forneceu dados básicos para avaliar cientificamente o risco ambiental e a segurança do uso do princípio ativo do pesticida Vertimec®.

Ao contrário dos pesticidas químicos que têm como princípio ativo a abamectina, os artrópodes não desenvolvem resistência ou apresentam resistência reduzida aos óleos essenciais devido à ação sinérgica entre as diferentes moléculas e apresentam menor toxicidade para mamíferos, conforme verificado em testes com o nematóide *C. elegans*, a alta volatilidade bem como rápida degradação ambiental, apesar de ser uma limitação no uso de óleos essenciais a agricultura também favorecem a eficiência de sua ação pesticida e a redução de risco a saúde dos produtores rurais e ao ecossistema (Devi et al., 2022).

## 7. CONCLUSÃO

Através deste estudo verificamos que a composição química do óleo essencial de *T. diversifolia* apresenta predominantemente a presença de monoterpenos como  $\beta$ -pineno,  $\alpha$ -pineno e limoneno. De acordo com os ensaios utilizando o organismo modelo *Caenorhabditis elegans* como modelo animal para avaliação da toxicidade, os resultados obtidos mostraram que as duas concentrações testadas de óleo essencial de *T. diversifolia* assim como o óleo de neem não foram tóxicas e não alteraram o desenvolvimento do nematoide. O ensaio relacionado a atividade acaricida por fumigação do óleo essencial sobre o ácaro-rajado (*T. urticae*) foi verificada, assim como os testes da atividade repelente do óleo no gorgulho-do-milho (*S. zeamais*) possibilitando mais estudos para a utilização dos componentes químicos presentes no óleo essencial de *T. diversifolia* no controle de artrópodes. Diante dos dados apresentados, concluímos que o óleo essencial de *T. diversifolia* não apresenta toxicidade ao homem nas concentrações testadas. Esse estudo contribui para aprimorar o conhecimento e a utilização de biomoléculas encontradas em plantas com potencial eficiência no controle de pragas agrícolas para obtermos as mesmas futuramente de forma sintética e assim contribuir para a substituição da utilização de alguns defensivos químicos nocivos a saúde humana e causadores de danos ambientais.

## 8. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABAMECTIN NORTOX- RECEITUÁRIO. Registrado no Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento – **MAPA** sob nº 05501, 14p. Disponível em: <http://www.adapar.pr.gov.br/arquivos/>

File/defis/DFI/Bulas/Inseticidas/abamectinnortox1117.pdf Acesso em: 13 de abril de 2020.

ABOYEJI, C.M., ADEKIYA, A.O., DUNSIN, O. *et al.* Crescimento, produtividade e teor de vitamina C do rabanete (*Raphanus sativus* L.) em função da biomassa verde de *Parkia biglobosa* e *Tithonia diversifolia*. **Agroflorestal Syst** 93, 803–812 (2019). <https://doi.org/10.1007/s10457-017-0174-6>

ACHIMÓN, F.; PESCHIUTTA, M. L.; BRITO, V. D.; BEATO, M.; PIZZOLITTO, R. P.; ZYGADLO, J. A.; ZUNINO, M. P. Exploring contact toxicity of essential oils against *Sitophilus zeamais* through a MetaAnalysis Approach. **Plants**, v. 11, n. 22, p. 3070, 2022. <https://doi.org/10.3390/plants11223070>.

ADAMS, R. P. Identification of essential oil components by gas chromatography/mass spectrometry (Ed. 4). **Allured Publishing Corporation**; 2017.

ADESANYA, A.W.; LAVINE, M.D.; MOURAL, T.W.; LAVINE, L.C.; ZHU, F.; WALSH, D.B. Mechanisms and management of acaricide resistance for *Tetranychus urticae* in agroecosystems. **Journal of Pest Science**, v.94, p.639-663, 2021. <https://link.springer.com/article/10.1007/s10340021-01342-x#citeas>.

ADESODUN, J.K., ATAYESE, M.O., AGBAJE, T.A. *et al.* Phytoremediation Potentials of Sunflowers (*Tithonia diversifolia* and *Helianthus annuus*) for Metals in Soils Contaminated with Zinc and Lead Nitrates. **Water Air Soil Pollut**, v.207, p.195–201,2010. <https://doi.org/10.1007/s11270-009-0128-3>.

AFA, B.F., WOGNIN, E. & TONZIBO, Z. F. Variabilidade química de *Tithonia diversifolia* (hemsl.) A. Folha cinzenta e óleo de caule da Costa do Marfim. **Int. J. Farmacêutica. Ciência. Res.** v.6(5), p. 2214–2222. 2015. [https://doi.org/10.13040/IJPSR.0975-8232.6\(5\).2214-22](https://doi.org/10.13040/IJPSR.0975-8232.6(5).2214-22).

AFOLAYAN, F.I.D., ADEGBOLAGUN, O. M., IRUNGU, B., KANGETHE, L. N., ORWA, J. A. AND ANUMUDU, C. I. Antimalarial actions of *Lawsonia inermis*, *Tithonia diversifolia*, and *Chromolaena odorata* in combination. **Journal of Ethnopharmacology**. v.191, p.188-194, 2016. [doi: 10.1016/j.jep.2016.06.045](https://doi.org/10.1016/j.jep.2016.06.045).

AGÊNCIA DE DEFESA AGROPECUÁRIA DO PARANÁ, ADAPAR, 2020. **Fiscalização para coibir a deriva de agrotóxicos**. Disponível em <http://www.adapar.pr.gov.br/modules/noticias/article.php?storyid=46>. Acesso em 22 de julho de 2023.

AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA – ANVISA. Disponível em: <http://portal.anvisa.gov.br>. Acesso em: 22 de fevereiro de 2023.

AGUIAR, D. L. **Utilização de óleos essenciais como tecnologia alternativa aos inseticidas sintéticos para o controle do *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae)**. Dissertação (Mestrado em Ciências e tecnologia Ambiental) - Universidade Estadual da Paraíba, Campina Grande, 2011. <http://tede.bc.uepb.edu.br/tede/jspui/handle/tede/1664>

AJAO, AA & MOTEETEE, AN. *Tithonia diversifolia* (Hemsl) A. Gray. (Asteraceae: Heliantheae), uma planta invasora de significativa importância etnofarmacológica: Uma revisão. **África do Sul. J. Bot.** v.113, p.396–403, 2017. <https://doi.org/10.1016/j.sajb.2017.09.017>.

AKANMU, A.M., HASSEN, A. The use of certain medicinal plant extracts reduced in vitro methane production while improving in vitro organic matter digestibility. **Anim. Prod. Sci.** v.58 n.5, p.900– 908, 2017. <https://doi.org/10.1071/AN16291>.

AKEUMBIWO et al. Composição química e atividade repelente de óleos essenciais de folhas de *Tithonia diversifolia* (Asteraceae) contra picadas de *Anopheles coluzzii*. **Anim. Prod. Sci.** v.13, n.16 2023. <https://doi.10.1038/s41598-023-31791-6>.

AL-AZZAZY, M.M., AL-REHIAYANI, S.M., e ABDEL-BAKY, N.F, Tabelas de vida do ácaro predador *Neoseiulus cucumeris* (Acari: Phytoseiidae) em dois ácaros pragas como presas,

*Aculops lycopersici* e *Tetranychus urticae*. **Archiv für Phytopathologie und Pflanzenschutz**, v. 51, p.1112, 2018. <http://dx.doi.org/10.1080/03235408.2018.1507013>.

ALFRED N. T. et al. Phenolic composition, antioxidant and enzyme inhibitory activities of *Parkia biglobosa* (Jacq.) Benth., *Tithonia diversifolia* (Hemsl) A. Gray, and *Crossopteryx febrifuga* (Afzel.) Benth, **Arabian Journal of Chemistry**, v.15, n.4, p.1878-5352, 2022. <https://doi.org/10.1016/j.arabjc.2021.103675>.

ALHEWAIRINI, S. S; AL-AZZAZY, M. M. Side effects of abamectin and hexythiazox on seven predatory mites **Braz. j. biol** .v.83, 2023. <https://doi.org/10.1590/1519-6984.251442>

ALMEIDA, ENRIK BARBOSA de. **Avaliação in vitro e in vivo da atividade antitumoral do extrato bruto obtido por fluido supercrítico da *Tithonia diversifolia* (Hemsl.) A. Gray** / Enrik Barbosa de Almeida; orientação [de] Prof. M.Sc. Padilha, Francine Ferreira – Aracaju: UNIT, 2018. Disponível em: <https://openrit.grupotiradentes.com/xmlui/handle/set/3130>. Acesso em 13 de março de 2024.

ALMEIDA, F. A.C., PESSOA, E, B.; GOMES, J.P.; SILVA, A.S, Utilização de extratos vegetais no controle de fases imaturas e adultas de *Sitophilus zeamais*. **Revista Agropecuária Técnica**, v. 26, n.1, p.46–53, 2005.

ALMEIDA, F.A.C et al. Efeitos de extratos alcoólicos de plantas sobre o gorgulho do feijão vigna (*Callosobruchus maculatus*). *Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental*, v. 9, n. 4, p. 585-590, 2005. <https://doi.org/10.1590/S1415-43662005000400023>

ALMEIDA, R. C. et al. **Avaliação da atividade inseticida de extrato de *Tithonia diversifolia*** Congresso interinstitucional de iniciação científica, p.9, 2015.

ALOKDA, A., VAN, R., JEREMY M. Effect of DMSO on lifespan and physiology in *C. elegans*: Implications for use of DMSO as a solvent for compound delivery. **microPublication Biology**, v. 2022, 2022. doi: [10.17912/micropub.biology.000634](https://doi.org/10.17912/micropub.biology.000634)

ALONSO-GATO, M. et al., Óleos essenciais como antimicrobianos na proteção de cultivos.

**Antibióticos**, v.10, n.1, p.1-12, 2021. <https://doi.org/10.3390/antibiotics10010034>.

ALVES, M.; ROQUE, N. Flora da Bahia: Asteraceae – Tribo Heliantheae. **SITIENTIBUS série Ciências Biológicas**, v. 16, p. 63, 2016. <http://orcid.org/0000-0003-0852-7504>.

ANVISA -Agência Nacional de Vigilância Sanitária, 2023- Folheto do produto - Acessado em 18 de julho. Disponível em: [https://www.syngenta.com.br/sites/g/files/kgtney466/files/media/document/2022/05/06/vertimec\\_18\\_ec.pdf](https://www.syngenta.com.br/sites/g/files/kgtney466/files/media/document/2022/05/06/vertimec_18_ec.pdf).

ANVISA -AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA. Análise dos ingredientes ativos detectados em alimentos para consumo humano, no período de 2001 a 2015, com base no **Programa de Análise de Resíduos de Agrotóxicos em Alimentos (PARA)**. Brasil, 2019.

ARANTES, A.C.S., RIBEIRO, J.C.S., SOARES, D.S. Alpha- and beta-pinene isomers act differently to control *Rhipicephalus microplus* (Acari: Ixodidae). **Parasitol Res** p.123-164, 2024. <https://doi.org/10.1007/s00436-024-08187-0>.

ASLAM, MF, IRSHAD, G., NAZ, F. E KHAN, MA, "Avaliação da atividade antifúngica de óleos essenciais contra *Alternaria alternata* causando podridão de frutos de *Eriobotrya japonica*" Turkish **Journal of Biochemistry**, v. 47, n. 4, p. 511-521, 2022. <https://doi.org/10.1515/tjb-2021-0225>

ASLAN, I.; ÖZBEK, H.; ÇALMASUR, Ö.; AHIN, F. Toxicity of essential oil vapours to two greenhouse pests, *Tetranychus urticae* Koch and *Bemisia tabaci* Genn. **Industrial Crops and Products**, Amsterdam, v.19, n.2, p.167-173, 2004. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2003.09.003>.

ASWINI, B., ANITA, B., & SHARMILA, A. S. D. J. S. Nematicidal potential of mexican sunflower (*Tithonia diversifolia*) against the root-knot nematode *Meloidogyne incognita*. **The Pharma Innovation Journal**, v.11, n.8, p. 963-967,2022. [doi: 10.9790/2380-1105012229](https://doi.org/10.9790/2380-1105012229).

AUGUSTI, P. R., BRASIL, A. V. S., SOUTO, C., GÖETHEL, G., DE OLIVEIRA RIOS, A., EMANUELLI, T., BÜRGER, M. E., & GARCIA, S. C. Microcystin-LR exposure induces

oxidative damage in *Caenorhabditis elegans*: Protective effect of lutein extracted from marigold flowers. **Food and Chemical Toxicology**, v.109, p. 60–67, 2017. <https://doi.org/10.1016/j.fct.2017.08.045>.

AUGUSTI, P.R. et al. A exposição à microcistina-LR induz dano oxidativo na *Caenorhabditis elegans*: Efeito protetor da luteína extraída das flores de calêndula. **Toxicologia Alimentar e Química**, v.109, p.60–67, 2017. <https://doi.org/10.1016/j.fct.2017.08.045>.

AWERE, C. A., GITHA, E. W., & GICHUMBI, J. M. Phytochemical analysis and antifungal activity of *Tithonia diversifolia* and *Kigelia africana* extracts against *Fusarium oxysporum* in tomato. **African Journal of Agricultural Research**, v.17, n.5, p.726-732, 2021. [doi: 10.5897/ajar2020.15050](https://doi.org/10.5897/ajar2020.15050).

AWERE, C.A., GITHA, E.W., & GICHUMBI, J.M. Phytochemical analysis and antifungal activity of *Tithonia diversifolia* and *Kigelia africana* extracts against *Fusarium oxysporum* in tomato. **African Journal of Agricultural Research**, v.17, p.726-732, 2021. DOI:[10.5897/AJAR2020.15050](https://doi.org/10.5897/AJAR2020.15050)

BABU A., K. PERUMALSAMY, M. SANKARA RAMA SUBRAMANIAM AND N. MURALEEDHARAN Use of neem kernel aqueous extract for the management of red spider mite infesting tea in south India. **Journal of Plantation Crops**, v.36, n.3, p.393-397, 2008.

BAGNARELLO, G. et al. Actividad fagodisuasiva de las plantas *Tithonia diversifolia* y *Montanoa hibiscifolia* (Asteraceae) sobre adultos del insecto plaga *Bemisia tabaci* (Homoptera: Aleyrodidae). **Rev. biol. trop**, v. 57, n. 4, p. 1201-1215, 2009. <https://doi.org/10.15517/rbt.v57i4.5457>

BARROS S. et al. "Caracterização dos agrotóxicos utilizados em áreas agrícolas de fruticultura irrigada do Vale do São Francisco." **Fruticultura Irrigada: vulnerabilidades e perspectiva de produção sustentável**, v. 1, 2022. <https://doi.org/10.37885/230513223>

BARROS, F. A.; RADÜNZ, M.; SCARIOT, M. A.; CAMARGO, T. M.; NUNES, C. F.; DE SOUZA, R. R.; DAL MAGRO, J. Efficacy of encapsulated and non-encapsulated thyme essential oil (*Thymus vulgaris* L.) in the control of *Sitophilus zeamais* and its effects on the

quality of corn grains throughout storage. **Crop Protection**, v. 153, p. 105885. 2022. <https://doi.org/10.1016/j.cropro.2021.105885>.

BEJAOUI, S. et al. Efeito da temperatura e do tempo de armazenamento nos ácidos graxos e na qualidade nutricional do mexilhão comercial (*Mytilus galloprovincialis*). **Jornal de ciência e tecnologia de alimentos**, v.58, n.9, p.3493–3503, 2021. <https://doi.org/10.1007/s13197-02105008-5>

BENELLI, G., BEDINI, S., COSCI, F., TONIOLO, C., B. CONTI. Propriedades larvicidas e ovideterrentes do óleo de nim e frações contra o vetor da filariose *Aedes albopictus* (Diptera: Culicidae): uma bioatividade pesquisa em locais de produção. **Parasitol. Res.** v.114, p. 2015. <https://doi.org/10.1007/s13197-021-05008-5>.

BENELLI, G., PAVELA, R., CANALE, A., MEHLHORN, H., Tick repellents and acaricides of botanical origin: a green roadmap to control tick-borne diseases? **Parasitol. Res**, v.115, n.7, p. 2545-60, 2016. [doi: 10.1007/s00436-016-5095-1](https://doi.org/10.1007/s00436-016-5095-1).

BENELLI, G., PAVELA, R., CANALE, A., NICOLETTI, M., PETRELLI, R., CAPPELLACCI, L., GALASSI R., MAGGI, F. Isofuranodiene and *Smyrniololone* essential oil germacron as acaricides and oviposition inhibitors against *Tetranychus urticae*: impact of chemical stabilization of isofuranodiene by interaction with silver triflate. **J Pest Sci.** v.90, n.2, p. 693–699, 2017. DOI: <https://doi.org/10.1007/s10340-016-0829-5>

BERENDS, H., GERRITS, W.J.J., FRANCE, J., ELLIS, J.L., ZIJDERVELD, V.S.M., DIJKSTRA J. Evaluation of the SF6 tracer technique for estimating methane emission rates with reference to dairy cows using a mechanistic model. **J Theor Biol.** v.353, p.1–8, 2014. <https://doi.org/10.1016/j.jtbi.2014.02.040>.

BERENDSEN, B. J. A., MULDER, P. P. J., VAN RHIJN, H. A. The derivatisation of avermectins and milbemycins in milk: new insights and improvement of the procedure. **Analytica Chimica Acta**, v. 585, p. 126-133, 2007. <https://doi.org/10.1016/j.aca.2006.12.013>

BERETTA, M. E. et al. A família Asteraceae no Parque Estadual de Itapuã, Viamão, Rio Grande do

Sul, Brasil. **Revista Brasileira de Biociências**, v. 6, n. 3, 2008. <https://seer.ufrgs.br/index.php/rbrasbioci/article/view/114771>.

BFG - BRAZIL FLORA GROUP. Brazilian Flora 2020: Innovation and collaboration to meet Target 1 of the Global Strategy for Plant Conservation (GSPC) *Rodriguésia* v.69, p.1513-1527, 2018. <https://doi.org/10.1590/2175-7860201869402>.

BRANCO, L. A. et al. Atividades biológicas do óleo essencial de *Psidium* spp. **Peer Review**, v.5, n.8, p.335–345, 2023. <https://doi.org/10.53660/394.prw1003>

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Agrofit: **Sistema de agrotóxicos fitossanitários**. Disponível em: <https://www.gov.br/agricultura/pt-br/sistemas/orgaos/mapa/vegetal/agrofit-sistema-de-agrotoxicos-fitossanitarios>. Acesso em: 10 mar. 2024.

BREUER, M.; HOSTE, B.; DE LOOF, A.; NAGVI, S. N. H. Effect of *Melia azedarach* extract on the activity of NADPH-cytochrome c reductase and cholinesterase in insects. **Pesticide Biochemistry and Physiology**, v.76, n.1, p. 99–103, 2003. [https://doi.org/10.1016/S0048-3575\(03\)00067-1](https://doi.org/10.1016/S0048-3575(03)00067-1)

BROADLEY, M., BROWN, P., CAKMAK, I., RENGEL, Z., & ZHAO, F., Capítulo 7 — **Função dos nutrientes: Micronutrientes. Na nutrição mineral de plantas superiores de Marschner**. p.191248, 2012.

Broering, M.F. et al Effects of *Tithonia diversifolia* (Asteraceae) extract on innate inflammatory responses. **J Ethnopharmacol**. 2019. [doi: 10.1016/j.jep.2019.112041](https://doi.org/10.1016/j.jep.2019.112041).

BROERING, MILENA FRONZA. **Effects of *Tithonia diversifolia* (Asteraceae) extract on innate inflammation** - Itajaí, SC. 2019. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2019.112041>.

BROOKS, G.T., & ROBERTS, T.R. Pesticide Chemistry and Bioscience: The Food-Environment Challenge. **Royal Society of Chemistry**, 1999.

BROUCEK J. Production of Methane Emissions from Ruminant Husbandry: A Review. **J Environ Prot**. V.5, p.1482–1493, 2014. DOI: [10.4236/jep.2014.515141](https://doi.org/10.4236/jep.2014.515141).

BRUM, R.B.C.S; CASTRO, H.G; CARDON, C.H; PEREIRA, A.S; CARDOSO, D.P; SANTOS, G.R. Antifungal activity of essential oils on pathogenic fungi. **Plant Disease**. v. 26, n.3, p. 361–371, 2014. <https://doi.org/10.1094/PDIS-06-20-1401-RE>

CÁCERES, L., AYARZA, C., BERNAL, D. Evaluación de la eficacia biológica y de la sensibilidad de *Aedes aegypti* a los insecticidas piretroides deltametrina y ciflutrina durante el brote del virus Zika en Kuna Yala, Panamá. **Biomédica**, v. 43, n. 2, p. 222-243, 2023. <https://doi.org/10.7705/biomedica.6746>

CAMPOLO, O.; GIUNTI, G.; RUSSO, A., PALMERI, V.; ZAPPALÀ, L. Essential oils in stored product insect pest control. **Journal of Food Quality**, v. 2018, p. 1-18. 2018. <https://doi.org/10.1155/2018/6906105>

CARNEIRO, Z. F. **Resistência de variedades de milho crioulo ao gorgulho-do-milho *Sitophilus zeamais* (Coleoptera: Curculionidae)**. 2019. Dissertação de Mestrado. Universidade Tecnológica Federal do Paraná. Disponível em: [https://bdtd.ibict.br/vufind/Record/UTFPR12\\_7619de654d57d47f13e2cc0d3a2839ed](https://bdtd.ibict.br/vufind/Record/UTFPR12_7619de654d57d47f13e2cc0d3a2839ed). Acesso em: 23/08/2023.

CHARÃO, M. F., SOUTO, C., BRUCKER, N., BARTH, A., JORNADA, D. S., FAGUNDEZ, D., ÁVILA, D. S., EIFLER-LIMA, V. L., GUTERRES, S. S., POHLMANN, A. R., & GARCIA, S. C.. *Caenorhabditis elegans* as an alternative in vivo model to determine oral uptake, nanotoxicity, and efficacy of melatonin-loaded lipid-core nanocapsules on paraquat damage. **International Journal of Nanomedicine**, v.10, p. 5093–5106, 2015. <https://doi.org/10.2147/IJN.S84909>

CHARÃO, M.F. et al. *Caenorhabditis elegans* como um modelo alternativo in vivo para determinar a absorção oral, nanotoxicidade e eficácia de nanocápsulas de núcleo lipídico carregadas de melatonina em danos de paraquat. **Jornal Internacional de Nanomedicina**, v.10, p. 5093–5106. 2015. <https://doi.org/10.2147/IJN.S84909>.

CHAUDHARI, Anand Kumar et al. Essential oils and their bioactive compounds as eco-friendly novel green pesticides for management of storage insect pests: Prospects and

retrospects. **Environmental Science and Pollution Research**, v. 28, p. 18918-18940, 2021. <https://doi.org/10.1007/s11356-021-12841-w>

CHOWDARY, N. M. Botanical biopesticide combination concept - a viable option for pest management in organic farming. **Egyptian Journal of Biological Pest Control**, v. 31, n. 1, p. 1-10. 2021. DOI:[10.1186/s41938-021-00366-w](https://doi.org/10.1186/s41938-021-00366-w)

CLARK, J.M., SCOTT, J.G., CAMPOS, F., & BLOOMQUIST, JR, Resistência às avermectinas: extensão, mecanismos e implicações de gestão. **Revisão Anual de Entomologia**, v. 40, n.1, p.130, 1995.<https://doi.org/10.1146/annurev.en.40.010195.000245>.

CORREAS RODRIGUEZ, D. **Control biológico del gorgojo Sitophilus zeamais en arroz almacenado**. Trabalho de Conclusão de Curso. Universitat Politècnica de Catalunya. 2020. Disponível  
:<https://upcommons.upc.edu/bitstream/handle/2117/329046/memoria.pdf?sequence=1&isAllowed=y>. Acesso em: 22 de janeiro de 2024.

em

COSSETIN, L. F. et al. Comparing the efficacy of nutmeg essential oil and a chemical pesticide against *Musca domestica* and *Chrysomya albiceps* for selecting a new insecticide agent against synantropic vectors. **Experimental parasitology**, v. 225, p. 108-104, 2021. <https://doi.org/10.1016/j.exppara.2021.108104>

COSSETIN, Luciana F. et al. Comparing the efficacy of nutmeg essential oil and a chemical pesticide against *Musca domestica* and *Chrysomya albiceps* for selecting a new insecticide agent against synantropic vectors. **Experimental parasitology**, v. 225, p. 108104, 2021. <https://doi.org/10.1016/j.exppara.2021.108104>

COSTA, E. M. et al. Aqueous extract of neem seeds in the control of *Liriomyza sativae* (Diptera: Agromyzidae) in the melon. **Revista Ciência Agronômica**, v. 47, n. 2, p. 401-406, 2016.<https://doi.org/10.5935/1806-6690.20160048>.

CRUZ N. D. et al. Extração e quantificação de compostos fenólicos de folhas de eucalyptus spp.in: Anais Congresso Brasileiro de Ciência e Tecnologia da Madeira, **Anais eletrônicos**. Campinas,

Galoá, 2017. Disponível em:

<<https://proceedings.science/cbctem/trabalhos/extracao-equantificacao-de-compostos-fenolicos-de-folhas-de-eucalyptus-spp?lang=pt-br>>. Acesso em: 28 Jun. 2024.

DAI, G., WANG, S., GENG, Y., DAWAZHAXI, X., ZHANG, Z. Potential risks of *Tithonia diversifolia* in Yunnan Province under climate change. **Ecol. Res**, v.36, p. 129-144, 2021. <https://doi.org/10.1111/1440-1703.12182>.

DAL FORNO AH, CÂMARA D, PARISE B, RODRIGUES CF, SOARES JJ, WAGNER R, et al. Antioxidant and lipid lowering effects of dried fruits oil extract of *Pterodon emarginatus* in *Caenorhabditis elegans*. **Arab J Chem**, 2016. [doi:10.1016/j.arabic.2016.04.001](https://doi.org/10.1016/j.arabic.2016.04.001).

DASSANAYAKE, M.K. et al. Synergistic Field Crop Pest Management Properties of Plant-Derived Essential Oils in Combination with Synthetic Pesticides and Bioactive Molecules: A Review. **Foods**.; v.10, n.9, 2016. <https://doi.org/10.3390/foods10092016>

DEBORAH, A.F.I; AANUJOLUWAPO, O., EBUNOLUWA, F. Comparative in vivo antiplasmodial activities of different extracts of *Lawsonia inermis*, *Tithonia diversifolia* and *Nauclea latifolia* against *Plasmodium berghei*. **African Journal of Biological Sciences**, v. 2, n. 1, p. 9-17, 2020. DOI:[10.33472/AFJBS.2.1.2020.9-17](https://doi.org/10.33472/AFJBS.2.1.2020.9-17)

DENT, J.A., SMITH, M.M., VASSILATIS, D.K., & AVERY, L. A genética da resistência à ivermectina em *Caenorhabditis elegans*. **Anais da Academia Nacional de Ciências dos Estados Unidos da América**, v. 97, n.6, p. 2674–2679, 2000. [https://doi:10.1073/pnas.97.6.2674](https://doi.org/10.1073/pnas.97.6.2674).

DERMAUW, W. et al The cys-loop ligand-blocked ion channel gene family of *Tetranychus urticae*: implications for acaricide toxicology and a new mutation associated with abamectin resistance. **Insect Biochem**, v.42, p.455-465, 2012. <https://doi.org/10.1016/j.ibmb.2012.03.002>.

DEVI, M.A., NAMEIRAKPAM, B., DEVI, T.B. et al. Chemical compositions and insecticidal efficacies of four aromatic essential oils on rice weevil *Sitophilus oryzae* L. **J Trop Insect Sci**, v.40, p.549– 559, 2020. <https://doi.org/10.1007/s42690-020-00102-1>

DEVI, T.B., RAINA, V., SAHOO, D. et al. Chemical composition and fumigant toxicity of the essential oil from *Tithonia diversifolia* (Hemsl.) A. Gray against two major stored grain insect pests. **J Plant Dis Prot**, v.128, p.607–615, 2021. <https://doi.org/10.1007/s41348-020-00424-9>

DEVI, TB, RAINA, V., RAJASHEKAR, Y., Um novo biofumigante de *Tithonia diversifolia* (Hemsl.) A. Gray para controle de pragas de insetos de grãos armazenados. **Pestic Biochem Physiol**, v.184, 2022. <https://doi: 10.1016/j.pestbp.2022.105116>

DEVI, TB, RAINA, V., SAHOO, D. et al. Composição química e toxicidade fumigante do óleo essencial de *Tithonia diversifolia* (Hemsl.) A. Gray contra duas pragas de insetos de grãos armazenados. **J Plant Dis Prot** v.128, p. 607–615, 2021.

**DIÁRIO OFICIAL DA UNIÃO** Publicado em: 09/12/2020 | Edição: 235 | Seção: 1 | Página: 372 Órgão: Ministério da Saúde/Agência Nacional de Vigilância Sanitária/Diretoria Colegiada

DIAS, D.A., URBAN, S., ROESSNER, U. A historical overview of natural products in drug discovery. **Metabolites**, v.2, n.2, p.303-336, 2012. <https://doi.org/10.4155/fmc-2019-0307>.

DÍAZ-ECHEVERRÍA, V. F., VELMAR-CHAN, V., & SANTOS-RICALDE, R. H.). Production and egg quality in chicken layers fed with *Tithonia diversifolia*. **Veterinaria México OA**, v.10, 2023. <https://doi.org/10.22201/fmvz.24486760e.2023.1133>

DONGMO, A.N., NGUEFACK. J., DONGMO. J.B.L. Chemical characterization of an aqueous extract and the essential oil of *Tithonia diversifolia* and their biocontrol activity against seed-borne pathogens of rice. **J Plant Dis Prot**, v.128, p.703-713, 2021. <https://doi.org/10.1007/s41348-021-00439-w>

DOS SANTOS, A.; ZANETTI, R.; DOS SANTOS, J.C.; BIAGIOTTI, G.; EVANGELISTA, A.L.; SERRÃO, J.E.; ZANUNCIO, J.C. Persistence of fipronil residues in eucalyptus seedlings

and its concentration in the insecticide solution after treatment in the nursery. **Environ. Monit. Assess.** v.188, n.5, p. 314, 2016. [doi: 10.1007/s10661-016-5304-5](https://doi.org/10.1007/s10661-016-5304-5).

DROSDOSKI, S.D., SINÓPOLIS GIGLIOLLI, A.A., CABRAL, L.C. et al. Characterization of esterases in the involvement of insecticide resistance in *Sitophilus oryzae* and *Sitophilus zeamais* (Coleoptera: Curculionidae). **Int J Trop Insect Sci**, 2024. <https://doi.org/10.1007/s42690024-01209-5>.

DU, E., TERRER, C., PELLEGRINI, A.F.A., AHLSTRÖM, A., VAN LISSA, C.J., ZHAO, X., et al. Padrões globais de limitação de nitrogênio e fósforo terrestre. **Natureza Geociência**, v.13, n.3, p.221–226, 2020. <https://doi.org/10.1038/s41561-019-0530-4>

EJELONU OC, ELEKOFEHINTI OO, ADANLAWO IG, KUNDU R. DOI:[10.1016/j.phyplu.2021.100203](https://doi.org/10.1016/j.phyplu.2021.100203). **Phytomed Plus**, v.2, n.1, p.100203, 2022.

ELOH, K; KPEGBA, K; SASANELLI, N; KOUMAGLO, H.K; CABONI, P. Nematicidal activity of some essential plant oils from tropical West Africa. **International Journal of Pest Management**, p. 1-11, 2019. <https://doi.org/10.1080/09670874.2019.1576950>

FAO, 2022. **Indicadores de pesticidas**. Em: FAO. Roma. Citado em julho de 2023. Disponível em:<http://www.fao.org/faostat/en/#data/EP>. Acessado em 20 de julho de 2023.

**FAO**. Faostat 2020. Disponível em: Acesso em: 31 março de 2021.

FARONI, L. R. D.' A.; SOUSA, A. H. Aspectos biológicos e taxonômicos dos principais insetos-praga de produtos armazenados. **Tecnologia de Armazenagem em Sementes**. v. 1, p. 371-402, 2006.

FENG, H., ZHOU, P., LIU, F., ZHANG, W., YANG, H., LI, X., DONG, J. A abamectina causa toxicidade ao sistema respiratório da carpa ao desencadear estresse oxidativo, inflamação e apoptose e inibição da autofagia. **Environ Sci Pollut Res Int**. v. 30, n.19, p. 55200-55213, 2023. [doi: 10.1007/s11356-023-26166-3](https://doi.org/10.1007/s11356-023-26166-3).

FIERASCU, R., FIERASCU, I., DINU-PIRVU, C., FIERASCU, I. & PAUNESCU, A.). The application of essential oils as a next-generation of pesticides: recent developments and

future perspectives. **Zeitschrift für Naturforschung C**, v.75, n.7-8, p.183-204, 2020. <https://doi.org/10.1515/znc-2019-0160>

FIGUEIRÊDO, L. P. D. et al. Integrated ecosystem models (soil-water) to analyze pesticide toxicity to aquatic organisms at two different temperature conditions. **Chemosphere**, v. 270, p. e129422, 2021. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2020.129422>.

GAMA, R.M; GUIMARÃES, M.; ABREU, L.C; ARMANDO-JUNIOR. Triagem fitoquímica e atividade antioxidante do extrato etanólico de *Tithonia diversifolia* (Hemsl) A. Flores secas cinzentas. **J. Trop. Biomédica**, v.4, n. 9, p.740-742, 2014.<https://doi.org/10.12980/APJTB.4.2014APJTB-2014-0055>

GBIF - Global Biodiversity Information Facility (09 January 2021) GBIF Occurrence Download < <https://doi.org/10.15468/dl.naxj39>>

GIACOMET. CAMILA. Agrotóxicos e alterações neurocomportamentais: uma revisão de literatura. Centro Universitário Metodista- IPA, Brasil: **Revista Perspectiva: Ciência e Saúde**, v. 7, n. 2, 2022. <https://doi.org/10.31512/persp.v.45.n.169.2021.117.p.7-19>.

GITAH, S.M., NGUGI, M.P., MBURU, D.N., MACHOCHO, A.K. Efeitos de toxicidade de contato de extratos de folhas orgânicas selecionados de *Tithonia diversifolia* (Hemsl.) A. Gray e *Vernonia lasiopus* (O. Hoffman) contra *Sitophilus zeamais* Motschulsky (Coleoptera: Curculionidae). **International Journal of Zoology**, v. 2021, p.14, 2021. <https://doi.org/10.1155/2021/8814504>

GITHINJI, J.M., MAITHO, T., & MBARIA, J.M. Estudo Etnobotânico de Plantas Usadas no Controle de Ectoparasitas no Condado de Murang'a, Quênia. **Jornal IOSR de Farmácia e Ciências Biológicas**. v. 13, n. 4, p. 2319-7676, 2021.<https://DOI:10.9790/3008-1304025662>

GITHINJI, J.M., MAITHO, T., MBARIA, J.M. Actividade e segurança dos Antifleas *tithoniadiversifolia* e *sennadidymobotrya*, extractos. **Journal of Pharmacy and Pharmacology Research**, v. 2, p. 78–92, 2018. DOI:[10.26502/jppr.0012](https://doi.org/10.26502/jppr.0012)

GLAS, J.J., SCHIMMEL, B.C., ALBA, J.M. ESCOBAR-BRAVO, R., SCHUURINK, R.C., KANT, M.R. Plant glandular trichomes as targets for breeding or engineering resistance to herbivores. **Int. J. Mol. Sci**, v.13, p.17077–17103, 2012. DOI: [10.3390/ijms131217077](https://doi.org/10.3390/ijms131217077)

GOFFIN, E.; ZIEMONS, E.; DE MOL, P.; DE MADUREIRA, Maria do Céu; MARTINS, A. P.; DA CUNHA, A. P.; PHILIPPE, G.; TITS, M.; ANGENOT, L.; FREDERICH, MICHEL. In vitro antiplasmodial activity of *Tithonia diversifolia* and identification of its main active constituent: tagitinin C. **Planta Medica**, v. 68, n.6, p. 543-545, 2002. DOI:[10.1055/s-2002-32552](https://doi.org/10.1055/s-2002-32552).

GÖKÇE, A., ISAACS, R., WHALON, M.E. Atividades ovicidas, larvicidas e anti-oviposicionais de *Bifora radians* e outros extratos de plantas na traça da uva *Paralobesia viteana* (Clemens). **J. Pest. Ciência**, v.84, n.4, p. 2011. doi:[10.1007/s10340-011-0368-z](https://doi.org/10.1007/s10340-011-0368-z).

GOMES, I. N; VIEIRA, K. I. C; GONTIJO, L. M; RESENDE, H. C. Honeybee survival and flight capacity are compromised by insecticides used for controlling melon pests in Brazil. **Ecotoxicology**, v. 29, p. 97-107, 2020. DOI:[10.1007/s10646-019-02145-8](https://doi.org/10.1007/s10646-019-02145-8).

GONÇALVES, S. “**Agronegócio: os impactos da pandemia do coronavírus para o setor**”. 2020. Disponível em: <https://www.agazeta.com.br/es/agro/agronegocio-os-impactos-da-pandemia-docoronavirus-para-o-setor-0420>. Acesso em: 23/08/2020.

GONZÁLEZ, M. A. H., MOGOLLÓN, O. L. M., SAAVEDRA, Y. M. G., CASTAÑO, V. A. H. *In vitro* methane production from silages based on *Cenchrus purpureus* mixed with *Tithonia diversifolia* in different proportions. **Acta Scientiarum – Animal Sciences**, v. 43, n.1, p.1-11, 2020. <https://doi.org/10.4025/actascianimsci.v43i1.51322> .

GONZÁLEZ-MANZANO, S., et al Oxidative Status of Stressed *Caenorhabditis elegans* .Treated with Epicatechin. **J Agric Food Chem**, v. 60, n. 36, p.8911-8917, 2012. [doi:10.1021/jf3004256](https://doi.org/10.1021/jf3004256).

GUPTA, S.C., PRASAD, S., TYAGI, A.K., KUNNUMAKKARA, A.B., AGGARWAL, B.B. Neem (*Azadirachta indica*): Uma panacéia tradicional indiana com base molecular moderna. **Phytomedicine**, v.34, p.14-20, 2017. [doi: 10.1016/j.phymed.2017.07.001](https://doi.org/10.1016/j.phymed.2017.07.001).

HAN, Z.J., WANG, Z.D., JIANG, Z.K., QIAN, W.H., CHEN, J.Z., ZHENG, W.Q. Avaliação da atividade repelente de terpenoides contra baratas alemãs (em chinês) Chin. J. Hyg. **Inseto**. v.18, p. 290-295, 2012. <https://doi.org/10.3724/sp.j.1269.2011.00666>.

HERRERA, R. S., VERDECIA, D. M., RAMÍREZ, J. L., GARCÍA, M., & CRUZ, A. M. Relation between some climatic factors and the chemical composition of *Tithonia diversifolia*. **Revista Cubana de Ciencia Agrícola**, v.51, n.2, p. 271–279, 2017. <https://www.redalyc.org/articulo.oa?id=193057228013>

HOLTSHAUSEN, L. et al. Feeding saponin-containing *Yucca schidigera* and *Quillaja saponaria* to decrease enteric methane production in dairy cows. **J Dairy Sci**. v.92, p. 2809–2821, 2009. DOI: [10.3168/jds.2008-1843](https://doi.org/10.3168/jds.2008-1843)

HUNT, P.R. The *C. elegans* model in toxicity testing. **J Appl Toxicol** v.37, p.50–59. 2017. [doi:10.1002/jat.3357](https://doi.org/10.1002/jat.3357).

IDE, M. et. al. *Tithonia diversifolia*-derived orizabin suppresses cell adhesion, differentiation, and oxidized LDL accumulation by Akt signaling suppression via PTEN promotion in THP-1 cells. **J Food Biochem**. v.44, n.7, p.13268, 2020. [doi: 10.1111/jfbc.13268](https://doi.org/10.1111/jfbc.13268).

ILHAMDI, M. L.; KHAIRUDDIN, K.; ZUBAIR, M. Training on the use of liquid organic fertilizer (POC) as an alternative to ab mix nutrient solution in hydroponic system farming at Bon Farm Narmada. **Jurnal Pengabdian Masyarakat Sains Indonesia**, v. 2, n. 1, p. 40-44, 2020. <https://doi.org/10.29303/jpmsi.v2i1.20>

IQBAL, T.; AHMED; N.; SHAHJEER, K.; AHMED, S.; AL-MUTAIRI, K. A.; KHATER, H. F.; ALI, R. F. Botanical Insecticides and their Potential as Anti-Insect/Pests: Are they Successful against Insects and Pests? **Global Decline of Insects**. p.1-14, 2021. DOI:[10.5772/intechopen.100418](https://doi.org/10.5772/intechopen.100418).

KILANI-MORAKCHI, S.; MORAKCHI-GOUDJIL, H.; SIFI, K. Azadirachtin-based insecticide: Overview, risk assessments, and future directions. **Frontiers in agronomy**, v. 3, p. 676208, 2021. <https://doi.org/10.3389/fagro.2021.676208>

IRAC. 2018. Mode of Action Classification Scheme. Disponível em: <https://www.irac-online.org/documents/moa-structures-poster-english/?ext=pdf>

ISMAN, M.B. Pesticidas Neem. **Perspectivas de Pesticidas**. v.8, p.32–38, 1997.

ISMAN, M.B. Plant essential oils for pest and disease management. **Crop Prot**, v.19, p. 603–608, 2000. [https://doi.org/10.1016/S0261-2194\(00\)00079-X](https://doi.org/10.1016/S0261-2194(00)00079-X).

ISTIKHARAH, R., NUGRAHANINGSIH, D.A.A., SADEWA, A.H., WAHYUNINGSIH, M.S.H. Standardised Ethanol Extract of *Tithonia diversifolia* (Hemsley) A Gray Leaves Improve Insulin Sensitivity and Increase Mitochondrial DNA Copy Numbers in Skeletal Muscles of Streptozotocin- Nicotinamide-Induced Rats. **Malays J Med Sci**. v.29, n3, p.43-53. 2022. doi: [10.21315/mjms2022.29.3.5](https://doi.org/10.21315/mjms2022.29.3.5).

JOHNSON, K.A., JOHNSON, D.E. Methane emissions from cattle. **J Anim Sci.**; v.73, p.2483–2492, 1995. <https://doi.org/10.2527/1995.7382483x>

KALA, S., NAIK, S., PATANJALI, P., SOGAN, N. Comprimido dispersível em água com óleo de Neem como larvicida, ovicida e dissuasor de oviposição eficaz contra culicífacies de Anopheles. **South Afr. J. Bot.**, v.123, 2019. [10.21315/mjms2022.29.3.5](https://doi.org/10.21315/mjms2022.29.3.5).

KIM, K.H., KABIR, E., JAHAN, A.S. Exposição a pesticidas e efeitos associados à saúde humana. **Sci Total Environ** v.575, p. 525–535, 2017. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2016.09.009>

KIM, S.M. et al. Biossíntese projetada de milbemicinas na cepa *Streptomyces avermitilis* de alta produção de avermectinas. **Fábricas de células microbianas** v.16, n.9, 2017. <https://doi.org/10.29303/jpmsi.v2i1.20>

KORKMAZ, N., ÖRÜN, İ. Efeitos do pesticida NeemAzal-T/S na tireoide, no hormônio do estresse e em alguns níveis de citocinas na carpa comum de água doce, *Cyprinus carpio*. **Toxina Rev**. v.41, n.2, p.496-505, 2021 <https://doi.org/10.1080/15569543.2021.1895841>

LAMATY, G. et al. IPlantas aromáticas da África central tropical. III. Constituintes do óleo essencial das folhas de *Tithonia diversifolia* (Hemsl.) A. Gray dos Camarões. **J. Essente**. v.3, n.6, p.399–402, 1991. <https://doi.org/10.1080/10412905.1991.9697973>.

LANZERSTORFER, P., SANDNER, G., PITSCH, J. Acute, reproductive, and developmental toxicity of essential oils assessed with alternative in vitro and in vivo systems. **Arch Toxicol**, v.95, p.673– 691,2021. <https://doi.org/10.1007/s00204-020-02945-6>

LIAO M. et al. Identification of odorant receptors of *Tribolium confusum* in response to limonene repellent activity, **Pesticide Biochemistry and Physiology**, v. 195, 2023, <https://doi.org/10.1016/j.pestbp.2023.105555>.

LIAO, M. et al. Transcriptomic analysis of *Sitophilus zeamais* in response to limonene fumigation. **Pest Management Science**, v. 78, n. 11, p. 4774-4782, 2022. <https://doi.org/10.1002/ps.7097>

LIAO, M. H.; TSAI, Y. N.; YANG, C. Y.; JUANG, C. L.; LEE, M. Y.; CHANG, L. H.; WEN, H. C. Antihuman hepatoma Hep-G2 proliferative, apoptotic, and antimutagenic activity of tagitinin C from *Tithonia diversifolia* leaves. **J. Nat. Med.** V.6, n.1, p.98-106, 2012. DOI: [10.1007/s11418-012-06520](https://doi.org/10.1007/s11418-012-06520)

LIMA, A. D., SEOANE, C.E.S. Sistemas Agroflorestais: estocando carbono, regenerando o ambiente e gerando renda às famílias agricultoras. **Projeto Agroflorestar: Vale do Ribeira**. Paraná. 2019.

LINTHOINGAMBI., MUTUM, S.S. Atividades antimicrobianas de diferentes extratos de solventes de *Tithonia diversifolia* (Hemsl.) A. Gray. **Asian Journal of Plant Science and Research**, v. 3, n. 50-54, pp. 2249–7412, 2013.

LORENZI, H.; SOUZA, H. M. **Plantas ornamentais do Brasil**. Nova Odessa: Instituto Plantarum, 1999. <https://doi.org/10.14295/rbho.v20i2.727>.

LUDMERER., S.W. et al. Os receptores de ivermectina e ácido nodulisporico em *Drosophila melanogaster* contêm subunidades de canais de cloreto de GluCl $\alpha$  controladas por ácido  $\gamma$ -

aminobutírico e GluCl $\alpha$  controladas por glutamato. **Bioquímica**, v.41, n.20, p.6548–6560, 2002. DOI:[10.1021/bi015920o](https://doi.org/10.1021/bi015920o).

MAINA, G.J., TIMOTHY, M. & MUCHUNU, M.J. Atividade antifeas e segurança dos extratos de *Tithonia diversifolia* e *Senna didymobotrya*. **J. Farmacêutica**. v.2, n.3, p. 078-0922018. <https://doi.org/10.26502/jppr.0012>

MARTINEZ-CASAS, L.; LAGE-YUSTY, M.; LOPEZ-HERNANDEZ, J. Changes in Aromatic Profile, Sugars 576 and Bioactive Compounds When Purple Garlic Is Transformed into Black Garlic. **Food Chem.** v.6, n.1, p.98-106, 2017. DOI: [10.1007/s11418-012-0652-0](https://doi.org/10.1007/s11418-012-0652-0).

MARTINS, C. A. Estabelecimento de capim elefante com composto de *Tithonia diversifolia* (Hemsl.) A. Gray. **Asian Journal of Plant Science and Research** p. 43, 2022. <http://acervo.ufvjm.edu.br/jspui/handle/1/2889>

MARTINS, J. C.; SILVA, É. M.; SILVA, R. S.; FERREIRA, S. R.; PICANÇO, M. C. Copaiba oil and Neem extract can be a potential alternative for the behavioral control of *Sitophilus zeamais*. **Brazilian Journal of Biology**, v. 84, p. 1-6, 2022. <https://doi.org/10.1590/1519-6984.254628> .

MEDINA, M.L.B.; CARREÑO, R. J. D. Evaluation del material foliar de rayo de sol como posible fuente de xantofilas. **Agronomia Tropical**, v.49, p. 373-390, 1999. Disponível em: <http://saber.ucv.ve/bitstream/10872/5384/1/Agronom%20Tropical%2049%20%28rayo%20de%20sol%29.pdf>. Acesso em: Junho de 2023.

MELLO, M. O.; SILVA-FILHO, M. C. Plant-insect interactions: An evolutionary arms race between two distinct defense mechanisms. **Brazilian Journal of Plant Physiology**, v. 14, n. 2, p. 71-81, 2002. <https://doi.org/10.1590/S1677-04202002000200001>.

MERMANS, C., DERMAUW, W., GEIBEL, S., & VAN LEEUWEN, T., Uma substituição G326E no canal de cloreto controlado por glutamato 3 (GluCl $\beta$ ) do ácaro-rajado *Tetranychus urticae* abole a atividade agonística das lactonas macrocíclicas. **Ciência de Manejo de Pragas**, v.73, n.12, p.2413– 2418. 2017. <https://doi.org/10.1002/ps.4677>

MICHALSKA, M. et al. The role of polyphenols in cardiovascular disease. **Medical Science Monitor**, v. 16, n. 5, p. 110–119, 2010. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/20424562/>

MICIĆ, D. et al., Óleos essenciais de coentro e sálvia: Investigação de perfil químico, propriedades térmicas e Análise QSRR. **Ind Culturas Prod.** v. 138, p.111438. 2019. <https://doi:10.1016/j.indcrop..06.001>.

MIRANDA, M. A. F. M. **Atividades biológicas de duas espécies de *Myrsine L.* (Primulaceae) e de *Tithonia diversifolia* (Hemsl.) A. Gray (Asteraceae).** 2015. 115f. Tese Doutorado em Ecologia e Recursos Naturais) – Universidade Federal de São Carlos, São Carlos. 2015. Disponível em: <https://repositorio.ufscar.br/handle/ufscar/1855?show=full>, acesso em 14 de junho de 2024.

MOHAPEL, J.M.G., REGO, A.C. Huntington's Disease: A Review of Pathophysiological Features. **Rev. Neurocienc**;19: 724-34. 2019. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK559166/>

MOMANYI, THOMAS O. *et al.* Phytochemical composition and in vitro antileishmanial activity of *Bidens pilosa*, *Tithonia diversifolia* and *Sonchus oleraceus* extracts. **Journal of Medicinal Plants Research**, v. 16, n. 6, p. 205-213, 2022. <https://doi.org/10.5897/JMPR2019.6839>

MORÁN, C. S. et al. Uso de bioinsecticida a base de neem *Azadirachta indica* para el manejo de saltahoja en agroecosistema de caña de azúcar. **Revista de Investigación Científica**, v. 14, n. 1, p. 73-83, 2018. <https://dialnet.unirioja.es/servlet/articulo?codigo=8104310>.

MOSSA, ABDEL-TAWAB H. Green pesticides: Essential oils as biopesticides in insect-pest management. **J. Environ. Sci. Technol**, v.9, p.354-378, 2016. DOI: [10.3923/jest.2016.354.378](https://doi.org/10.3923/jest.2016.354.378).

MUNIROH, L., MAHMUDAH., SOLFAINE, R. Effect of *Tithonia diversifolia* Leaf Extract on Leptin, Adiponectin, and Insulin Receptor Levels in Diabetic Rats. **Prev Nutr Food Sci.** 2022 v.31, n.27, p.163-69. doi: [10.3746/pnf.2022.27.1.63](https://doi.org/10.3746/pnf.2022.27.1.63).

MUTORO, C, N., KINYUA, J. K., KARIUKI, D.W., INGONGA, J. M., ANJILI, C.O. (2018). In vitro study of the efficacy of *Solanum nigrum* against *Leishmania major*. **Research** v.7, p.1-17. <http://dx.doi.org/10.12688/f1000research.15826.1>

NAYAK, MANOJ, K.; DAGLISH, G. J.; PHILLIPS, T.W.; EBERT, P.R. Resistance to the fumigant phosphine and its management in insect pests of stored products: a global perspective. **Annual Review of Entomology**, v. 65, p. 333-350, 2020. <https://doi.org/10.1146/annurev-ento-011019025047>

NGARIVHUME, TALKMORE *et al.* Isolation and Antimalarial Activity of a New Flavonol from *Tithonia diversifolia* Leaf Extract. **Chemistry**, v. 3, n. 3, p. 854-860, 2021. <https://doi.org/10.3390/chemistry3030062>

NGOUOPO, M., *et al.* Effect of meal from the leaves of *Manihot esculenta* and *Tithonia diversifolia* as a protein substitute to soybean cake in the diet on growth and laying performances, egg quality of local hen (*Gallus gallus*) in the Sudano-guinean zone. **International Journal of Agronomy and Agricultural Research**, v.18, n.5, p.1-12, 2021.

NGUYEN, D., LUONG, T., NGUYEN, X., & JUNG, W. Nematicidal and antioxidant activities of the methanolic extract from *Tithonia diversifolia* grown in Vietnam. **Nematology**, v.25, n.6, p. 617-628, 2023. <https://doi.org/10.1163/15685411-bja10241>

NINKUU, V., ZHANG, L., YAN, J., FU, Z., YANG, T., ZENG, H. Biochemistry of Terpenes and Recent Advances in Plant Protection. **International Journal of Molecular Sciences**, v.22, n.11, p.57102021. <https://www.mdpi.com/1422-0067/22/11/5710>.

NJUGUNA, MJ, MURIUKI, M. E KARENGA, S. Toxicidade de contato de óleos essenciais de *Tithonia diversifolia* contra *Aphis gossypii*, *Thrips tabaci* e *Bemisia tabaci*. **Jornal Internacional de Pesquisa Avançada**, v.5, n.1, p.10-20, 2022. <https://doi.org/10.37284/ijar.5.1.534>.

NOZELLA, E. F. Determinação de taninos em plantas com potencial forrageiro para ruminantes. **Centro de Energia Nuclear na Agricultura**, v.25, n.6, p. 617-628, 2002. [doi:10.11606/D.64.2002.tde-11052003-084625](https://doi.org/10.11606/D.64.2002.tde-11052003-084625).

NUNES, A.R. *et al.* Photoprotective potential of medicinal plants from Cerrado biome (Brazil) in relation to phenolic content and antioxidant activity. **J. Photochem. Photobiol.** v.189, p. 119-123, 2018. [doi: 10.1016/j.jphotobiol.2018.10.013](https://doi.org/10.1016/j.jphotobiol.2018.10.013).

OBEMBE, O.M. Bio-insecticidal activity of *Delonix regia* oil extracts on maize weevil *Sitophilus zeamais* (Motschulsky, 1855) (Coleoptera: Curculionidae). **World Scientific News**, v.70, n.2, p.8696, 2017. <https://bazhum.pl/bib/article/594704/>

OLIVEIRA, G. et al., Caracterização química, atividade antimicrobiana e toxicidade de óleos essenciais de *Pimenta dioica* L. (pimenta da Jamaica) e *Citrus sinensis* L. Osbeck (laranja doce). **Revista Colombiana de Ciencias Químico Farmacêuticas**, v. n. 3, p. 641–655. 2020. <https://doi.org/10.33448/rsd-v9i7.4842>

OPALA, P. A., KISINYO, P. O., & NYAMBATI, R. O. Effects of *Tithonia diversifolia*, farmyard manure and urea, and phosphate fertiliser application methods on maize yields in western Kenya. **Journal of Agriculture and Rural Development in the Tropics and Subtropics**, 116(1), 1-9, 2015. <https://kobra.uni-kassel.de/handle/123456789/2015011347180>

OPONDO F. A., K'OWINO I. O., CHEPKWONY S. C., KOSGEI V. J., PILI N.N, In vivo antibacterial activity of extracts of *Tithonia diversifolia* against *Ralstonia solanacearum* in tomato. **Scientific African**, v.22, p. 2468-2276, 2023, <https://doi.org/10.1016/j.sciaf.2023.e01962>.

OYEWOLE, I. O. et al. Anti-malarial and repellent activities of *Tithonia diversifolia* (Hemsl.) leaf extracts. **Journal of medicinal plants Research**, v. 2, n. 8, p. 171-175, 2008.

OYEWOLE, I.O et al. Antimalarial and repellent activities of *Tithonia diversifolia* (Hemsl.) leaf extracts. **Journal of Medicinal Plants Reserve**, v. 2, p. 171 – 175, 2008.

PATIÑO-BAYONA, W. R.; NAGLES GALEANO, L. J.; BUSTOS CORTES, J. J.; DELGADO ÁVILA, W. A.; HERRERA DAZA, E.; SUÁREZ, L. E. C.; PATIÑO-LADINO, O. J. Effects of Essential Oils from 24 Plant Species on *Sitophilus zeamais* Motsch (Coleoptera, Curculionidae). **Insects**, v. 12, n. 6, p. 532, 2021. <https://doi.org/10.3390/insects12060532>.

PAVELA, R.; BENELLI, G. Essential oils as ecofriendly biopesticides? Challenges and constraints. **Trends in Plant Science**, v. 21, n. 12, p. 1000-1007, 2016. <https://doi.org/10.1016/j.tplants.2016.10.005>

PAZLA, R., JAMARUN, N., ZAIN, M., YANTI, G., CHANDRA, R.H. Quality evaluation of tithonia (*Tithonia diversifolia*) with fermentation using *Lactobacillus plantarum* and *Aspergillus ficuum* at different incubation times. **Biodiversitas**. v.22, n.9, p.3936–422021. <https://doi.org/10.13057/biodiv/d220940>

PEDROTTI, C., RIBEIRO, R., SCHWAMBACH, J. Controle da podridão fúngica pós-colheita em uvas através do uso de óleos essenciais de *Baccharis trimera* e *Baccharis dracunculifolia*. **Crop Protection**, v. 125,104912, 2019. <https://doi.org/10.1016/j.cropro.2019.104912>

PETERSON, N.D., PUKKILA-WORLEY, R. *Caenorhabditis elegans* in high-throughput screens for anti-infective compounds. **Curr Opin Immunol**. 2018 v.54, n.59-65, 2018. [doi: 10.1016/j.coi.2018.06.003](https://doi.org/10.1016/j.coi.2018.06.003).

PIGNATI, W.A et al. MG, 2017. Distribuição espacial do uso de agrotóxicos no Brasil: uma ferramenta para Vigilância de Saúde. **Ciência & Saúde Coletiva**, v.22, n.10, p.3281–3293. [https://doi:10.1590/1413-812320172210.1774201](https://doi.org/10.1590/1413-812320172210.1774201)

PIRASATH, S., NAGESWARAN, B., PATHIRANNAHALAGE, R., KARUNASENA, V. & GEVAKARAN, M. Toxicidade aguda da abamectina: um relato de caso. **Toxicology Communications**, v.5, n.1, p.66-68, ,2021. [https://doi:10.1080/24734306.2021.1881233](https://doi.org/10.1080/24734306.2021.1881233)

POŁEĆ, K. et al. The effect of major terpenes of the hop essential oil on the mixed monolayers and bilayers imitating bacteria membranes. In search of the natural pesticides. **Journal of Molecular Liquids**, v. 327, p. 114903, 2021. <https://doi.org/10.1016/j.molliq.2020.114903>

POZEBON, H.; ARNEMANN, J. A. Como funcionam os inseticidas avermectinas e piridinas? **Portal Mais Soja**. v. 12, n. 6, p. 532, 2021. <https://doi.org/10.1016/j.cropro.2019.104912>

PRAKASH, B.; SINGH, P. P.; KUMAR, A.; GUPTA, V. Botanicals for Sustainable Management of Stored Food Grains: Pesticidal Efficacy, Mode of Action and Ecological Risk Assessment Using Computational Approaches. **Anthropocene Science**, v. 1, n. 1, p. 62-79, 2022. <https://link.springer.com/article/10.1007/s44177-022-00016-2>

PULIDO P.K.D. et al Atividade inseticida e colinesterase de extratos diclorometanos de *Tithonia diversifolia* sobre formigas operárias *Atta cephalotes* (Formicidae: Myrmicinae). **Insetos**. v.11, n.3, p.180, 2020. <https://doi.org/10.3390/insects11030180>

QUEIROZ, T.et al. Extratos e óleos essenciais como alternativa no controle de *Sclerotinia sclerotiorum* e *Sclerotium rolfsii* isolados de soja (*Glycine max* L.). **Revista em Agronegócios e Meio Ambiente**, v. 13, n. 2, 2020. <https://doi.org/10.17765/2176-9168.2020v13n2p737-753>

RAIJ, B. VAN; ANDRADE, J.C. DE; CANTARELLA, H.; QUAGGIO, J.A., 2001. Análise Química para Avaliação de Fertilidade de Solos Tropicais. **Instituto Agrônômico**, p. 285. [https://lab.iac.sp.gov.br/Publicacao/Raij\\_et\\_al\\_2001\\_Metod\\_Anal\\_IAC.pdf](https://lab.iac.sp.gov.br/Publicacao/Raij_et_al_2001_Metod_Anal_IAC.pdf)

RAJMOHAN KS, Chandrasekaran R, Varjani S. A review on occurrence of pesticides in environment and current technologies for their remediation and management. **Indian J Microbiol**, v.60, n.2, p.125-38. 2020. <https://doi.org/10.1007/s12088-019-00841-x>

RANGSINTH, P., PRASANSUKLAB, A., DUANGJAN, C., GU, X., MEEMON, K., WINK, M., TENCOMNAO, T. O extrato de folhas de *Caesalpinia mimosoides* aumenta a resistência ao estresse oxidativo e prolonga a vida útil em *Caenorhabditis elegans*. **Altern Med**. v.19, n.1, p.164, 2019. DOI: [10.1186/s12906-019-2578-5](https://doi.org/10.1186/s12906-019-2578-5)

REUTER, R.L. Análise foliar como ferramenta de diagnóstico de eventuais deficiências nutricionais em trabalhos comerciais de soja. **Revista Multidisciplinar De Educação E Meio Ambiente**, v.2, n.3, p.17, 2021. <https://doi.org/10.51189/rema/1603>.

RIBEIRO, J. **Controle do ácaro-rajado (*tetranychus urticae koch*) com o uso de detergente neutro na cultura do morango. Dissertação (Mestrado em Agronomia)** Núcleo Interdisciplinar de Pesquisa do Centro Universitário ICESP de Brasília- Brasília, 2019. [http://nippromove.hospedagemdesites.ws/arquivos\\_up/documentos/8fd694cabce9e610992b43cd5925f55.pdf](http://nippromove.hospedagemdesites.ws/arquivos_up/documentos/8fd694cabce9e610992b43cd5925f55.pdf)

RIBEIRO, R.S. et al *Tithonia diversifolia* as a supplementary feed for dairy cows. **PLOS One**, v.11, n.12, <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0165751>.

RIGA, M., BAJDA, S., THEMISTOKLEOUS, C. et al. A contribuição relativa de mutações no localalvo em fenótipos complexos resistentes a acaricidas, avaliada por retrocruzamento assistido por marcador em *Tetranychus urticae*. **Sci Rep** 7, 2017. <https://doi.org/10.1038/s41598-017-09054-y>

RIVERA, J. E., RUÍZ, T. E., CHARÁ, J., GÓMEZ-LEYVA, J. F., & BARAHONA, R. Biomass production and nutritional properties of promising genotypes of *Tithonia diversifolia* (Hemsl.) A. Gray under different environments. **Tropical grasslands-Forrajes tropicales**, v.9, n.3, p.280-291, 2021. DOI:[10.17138/TGFT\(9\)280-291](https://doi.org/10.17138/TGFT(9)280-291)

RIVERA-HERRERA, J. E., et al. Phases of development and propagation of outstanding ecotypes of *Tithonia diversifolia* (Hemsl.) A. Gray. **Revista mexicana de ciencias pecuárias**, v.12, n.3, p.811-827, 2021. <https://doi.org/10.22319/rmcp.v12i3.5720>

RODAS, C. et al. Efecto letal y repelente del monoterpeno geraniol sobre ninfas de *Triatoma infestans* susceptibles y resistentes a deltametrina. **Ciencia y Agricultura**, v. 20, 2023. DOI: <https://doi.org/10.19053/01228420.v20.n1.2023.15045>.

RODRIGUES, A. C.; WIATER, G.; PUTON, B. M. S.; PEREIRA, A. A. M.; PAROUL, M.; CANSIAN, R. G. Atividade repelente e inseticida do óleo essencial de *Baccharis dracunculifolia* DC sobre *Sitophilus zeamais* Mots, 1855. 2019. [https://www.uricer.edu.br/site/pdfs/perspectiva/161\\_755.pdf](https://www.uricer.edu.br/site/pdfs/perspectiva/161_755.pdf)

RODRIGUES, L. C. et al. Ação repelente de óleo de neem durante o cultivo de duas espécies de *physalis*. **Anais Seminário de Iniciação Científica**, n. 20, 2018. DOI: <https://doi.org/10.13102/semic.v0i20.3085>.

RODRÍGUEZ, J.; MONTOYA-LERMA, J.; CALLE, Z. Effect of *Tithonia diversifolia* Mulch on *Atta cephalotes* (Hymenoptera: Formicidae) nests. **J. Insect. Sci.** v.15, p.32. 2015. doi: [10.1093/jisesa/iev015](https://doi.org/10.1093/jisesa/iev015)

ROUBIK, D. W., HEARD, T. A., KWAPONG, P. Stingless bee colonies and pollination. In: Roubik D.W. (Org.). The pollination of cultivated plants: A compendium for practitioners. **Roma: Food and Agriculture Organization of the United Nations**, 2018. <https://openknowledge.fao.org/server/api/core/bitstreams/df322384-1a19-4435-a1a2d7c4fa705566/content>

RUSMAYADI, G. et al. Nutrient film in hydroponic system providing organic fertilizer of the *Tithonia diversifolia* and ab mix for lettuce. **Nativa**, v.11, n.4, p. 470–475, 2023. <https://doi.org/10.31413/nat.v11i4.16456>.

SALGADO, V. L. BASF Insecticide Mode of Action Technical Training Manual. Disponível em: [https://www.researchgate.net/publication/275959530\\_BASF\\_Insecticide\\_Mode\\_of\\_Action\\_Technical\\_Training\\_Manual](https://www.researchgate.net/publication/275959530_BASF_Insecticide_Mode_of_Action_Technical_Training_Manual), 2013.

SANTOS K.P.E.D, et al. Abamectin promotes behavior changes and liver injury in zebrafish. **Chemosphere**. v.11, n.4, p. 470–475. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2022.136941>

SANTOS SILVA A. M. et al, Effects of irrigation and nitrogen fertilization rates on yield, agronomic efficiency and morphophysiology in *Tithonia diversifolia*, **Agricultural Water Management**, v.248, p. 106782, 2021. <https://doi.org/10.1016/j.agwat.2021.106782>.

SANTOS, A.S., ALVES, S.M., FIGUEIRÊDO, F.J.C.. Comunicado Técnico 99: Descrição de Sistema e de Métodos de Extração de Óleos Essenciais e Determinação de Umidade de Biomassa em Laboratório. **Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento**. 2004. Disponível em: <https://www.embrapa.br/busca-de-publicacoes/-/publicacao/402448/descricao-de-sistema-e-de-metodos-de-extracao-de-oleos-essenciais-e-determinacao-de-umidade-de-biomassa-em-laboratorio>. Acesso em 22 de julho de 2023.

SANTOS, C. D. G. Ação de extratos de plantas medicinais sobre juvenis de *Meloidogyne incognita* raça 2. **Revista Ciência Agronômica**, Fortaleza, v.47, n.1, p. 135-142, 2016. <https://www.scielo.br/j/rca/a/rb9ZBSHrN474QtwJ6szBtjJ/?format=pdf&lang=pt>

SANTOS, V. S. Contaminação ambiental por agrotóxicos. **Cad. saúde colet.** v.19, n.4, p. 435-442, 2011. <https://pesquisa.bvsalud.org/portal/resource/pt/lil-641465>

SANTOS-GALLY, R., MUÑOZ, M., FRANCO, G. Heteromorfismo de frutos e germinação sucesso no arbusto perene *Tithonia diversifolia* (Asteraceae). **Flora**, v. 271, 2020. <https://doi.org/10.1016/j.flora.2020.151686>.

SAVARY, S.; WILLOCQUET, L.; PETHYBRIDGE, S. J.; ESKER, P.; MCROBERTS, N.; NELSON, A. 2019. The global burden of pathogens and pests on major food crops. **Nature Ecology & Evolution**, v. 3, p. 430–439, 2019. <https://www.nature.com/articles/s41559-018-0793-y>

SCOPEL, W. et al. Bioatividade de macerados de *Anthemis* sp., *Coriandrum sativum* e *Piper nigrum* contra *Sitophilus zeamais* (Coleoptera: Curculionidae). **Evidência**, v. 18, n. 1, p. 95-109, 2018. <https://dialnet.unirioja.es/servlet/articulo?codigo=6911011>

SHIMIZU, M. Y.; MOURÃO, M. A. N. Gestão ambiental como ferramenta mitigadora de impactos ambientais provocados por pesticidas que afetam populações da espécie de abelha sem ferrão *Tetragonisca angustula* (Hymenoptera: Apidae). **Revista Ibero-Americana De Humanidades, Ciências e Educação**, v. 8, n. 4, p. 1731-1749, 2022. DOI: <https://doi.org/10.51891/rease.v8i4.5190>

SILVA, D. R.; JONSSON, C. M.; ASSIS, M. C.; QUEIROZ, S. C. N. Toxicidade de extratos de plantas em *Daphnias magna*. In: CONGRESSO INTERINSTITUCIONAL DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA, 10., , Campinas. **Anais...** Campinas: Embrapa Monitoramento por Satélite, 2016. Resumo 16403. 9p. 2016. <http://www.alice.cnptia.embrapa.br/alice/handle/doc/1064454>

SILVA, M.R.; FARIAS, P.M, O óleo essencial de *Pimenta racemosa* é inseticida eficiente para controle de *Sitophilus* spp. (Coleoptera: Curculionidae) em grãos armazenados. **Pesquisa Agropecuária Gaúcha**, v. 1, p. 7-17, 2020. <https://doi.org/10.36812/pag.20202617-17>.

SILVA, P. C. S. C. Efeito da variação sazonal na produção de compostos ativos em *Tithonia diversifolia* (HEMSL) Gray, utilizando ensaio com microorganismos. **Nature Ecology & Evolution**, v. 3, p. 430–439, 2004.

[https://bdtd.ibict.br/vufind/Record/USP\\_c31d0a37aa06a659dec6f7a9b4ca7830](https://bdtd.ibict.br/vufind/Record/USP_c31d0a37aa06a659dec6f7a9b4ca7830)

SILVA, R. S. F. Interação de *Streptococcus agalactiae* com o nematódeo *Caenorhabditis elegans*. 89, **Sci Rep** 7, v.3 , n.7, p. 330-349. 2020. <https://doi.org/10.1038/s41598-017-09054-y>.

SOARES, D.F; FARIA, A.M.; ROSA, A.H. **Análise de risco de contaminação de águas subterrâneas por resíduos de agrotóxicos no município de Campo Novo do Parecis (MT), Brasil.** Eng Sanit Ambient., v.22, n.2, p.277-284, mar/abr 2017. Disponível em: [http://www.scielo.br/pdf/esa/v22n2/1809-4457-esa-s1413\\_41522016139118.pdf](http://www.scielo.br/pdf/esa/v22n2/1809-4457-esa-s1413_41522016139118.pdf) Acesso em: Acessado em: 06 de abril de 2021.

SOLOMON, W. J. AND AZARE, B. A. Insecticidal Properties of Garlic (*Allium sativum*) Aqueous Extracts on Beans (*Phaseolus vulgaris*) and Maize (*Zea mays*). **Pest Direct Research Journal of Biology and Biotechnology**, v.5, n.2, p.24-33, DOI: <https://doi.org/10.5281/zenodo.3246737>

SOUTO, A. L.; SYLVESTRE, M.; TÖLKE, E. D.; TAVARES, J. F., BARBOSA-FILHO, J. M. 2021. CEBRIÁN-TORREJÓN, G. Plant-derived pesticides as an alternative to pest management and sustainable agricultural production: Prospects, applications and challenges. **Molecules**, v. 26, n. 16, p. 4835. DOI: [10.3390/molecules26164835](https://doi.org/10.3390/molecules26164835)

SPARKS, TC, STORER, N., PORTER, A., SLATER, R., & NAUEN, R. Gestão e indústria de resistência a inseticidas: As origens e evolução do comitê de ação de resistência a inseticidas (IRAC) e o modo de esquema de classificação de ações. **Ciência de Manejo de Pragas**, v.77, n.6, p.2609–2619, 2021.DOI:[10.1002/ps.6254](https://doi.org/10.1002/ps.6254).

SUT, S.; DALL'ACQUA, S.; BALDAN, V.; KAMTE, S.L.N.; RANJBARIAN, F.; NYA, P.C.B. VITTORI, S.; BENELLIE, G.; MAGGI, F.; CAPPELLACCI, L.; HOFER, A.; PETRELLI, R. Identification of tagitinin C from *Tithonia diversifolia* as antitrypanosomal compound using bioactivity-guided fractionation. **Fitoterapia**. v.124, p.145-151, 2018. <https://doi.org/10.1016/j.fitote.2017.11.002>

TABASHNIK, B. E.; MOTA-SANCHEZ, D.; WHALON, M. E.; HOLLINGWORTH, R. M.; CARRIÈRE, Y. Defining terms for proactive management of resistance to Bt crops and pesticides. **Journal of Economic Entomology**, Lanham, v. 107, n. 2, p. 496-507. 2014. DOI: [10.1603/ec13458](https://doi.org/10.1603/ec13458)

TAGNE, A.M.; MARINO, F.; COSENTINO, M. *Tithonia diversifolia* (Hemsl.) A. Gray as a medicinal plant: A comprehensive review of its ethnopharmacology, phytochemistry, pharmacotoxicology and clinical relevance. **J. Ethnopharmacol**, v.220, p.94–116, 2018. DOI: [10.1016/j.jep.2018.03.025](https://doi.org/10.1016/j.jep.2018.03.025)

TAGNE, M., MARINO, F. & COSENTINO, M. *Tithonia diversifolia* (Hemsl.) A. Gray como planta medicinal: Uma revisão abrangente de sua etnofarmacologia, fitoquímica, farmacotoxicologia e relevância clínica. **J. Ethnopharmacol**. 220, 94-116, 2018. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2018.03.025>.

TAIZ, L.; ZEIGER, E. **Fisiologia vegetal**. 3. ed. Porto Alegre: Artmed, 2004

TAIZ, L.; ZEIGER, E. **Fisiologia vegetal**. Porto Alegre: Artmed, ed. 5, 954 p., 2003.

TAOFIK, M.; et al. Isolasi dan identifikasi senyawa aktif Ekstrak air daun paitan (*Tithonia diversifolia*) sebagai bahan insektisida botani untuk pengendalian hama tungau Eriophyridae. **Alchemy**. 2(1):132–9. 2010.

TCHOUMBOUGNANG, F. Atividade larvicida contra *Anopheles gambiae* Giles e composição química de óleos essenciais de quatro plantas cultivadas em Camarões. **Biotecnologia**. v.13, n.1, p. 77–84, 2009

TEIXEIRA, PC;DONAGEMM, A, GK;FONTANA, A.;TEIXEIRA, WG (ED.)., 2017.Manual de métodos de análise de solo.3.ed. Rev. e ampl. Brasília, DF: Embrapa. 574 pág. il.color. Disponível em: <https://ainfo.cnptia.embrapa.br/digital/bitstream/item/181493/1/Manual-de-Metodos-de-Analise-deSolo.epub>.Acesso em 22 de julho de 2023.

TENG, M., ZHAO, X., WANG, C., ZHOU, L., WU, X., WU, F., Toxicidade combinada de clorpirifós, abamectina, imidaclopride e acetamipride em minhocas (*Eisenia fetida*). **Environ Sci Pollut Res Int**. v.29, n.36, p.54348-54358. 2022. [doi: 10.1007/s11356-021-18025-w](https://doi.org/10.1007/s11356-021-18025-w).

THUY T.T. et al. Sesquiterpenoids from *Tithonia diversifolia* (Hemsl.) A. Gray induce apoptosis and inhibit the cell cycle progression of acute myeloid leukemia cells. **J Biosci.** 2022 v.78, n.2, p.65-72. DOI: [10.1515/znc-2021-0154](https://doi.org/10.1515/znc-2021-0154)

TIRELLI, A.A.; ALVES, D.S.; CARVALHO, G.A.; SÂMIA, R.R.; BRUM, S.S.; GUERREIRO, M.C. Efeitos de frações tânicas sobre parâmetros biológicos e nutricionais de *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: noctuidae). **Ciência e Agrotecnologia**, v. 34, p. 1417-1424, 2010. <https://doi.org/10.1590/S1413-70542010000600009>.

VALDERRAMA-ESLAVA, E.; OLIVEIRA, C.; OLIVEIRA, J.; OLIVEIRA, A.; CALLE, Z. Guía para el establecimiento y manejo de colonias artificiales de Hormiga arriera *Atta cephalotes* (Hymenoptera: Myrmicinae). **Entomol.** V.7, p.9–16, 2006.

VERDECIA, D. M. Yield components, chemical characterization and polyphenolic profile of *Tithonia diversifolia* in Valle del Cauto, Cuba. **Cuban Journal of Agricultural Science**, v. 52, n.4, p. 457– 471. 2018. <https://bit.ly/3Az0bvi>

VERDECIA, D. M., RAMIREZ, J. L., LEONARD, I., ALVAREZ, Y., BAZÁN, Y., BODAS, R., ANDRÉS, S., ALVAREZ, J., GIRALDEZ, F. Nutritive value of the *Tithonia diversifolia* in a location of valle del cauto. **Revista Eletronica de veterinária**. v. 12, 2011. <https://digital.csic.es/handle/10261/108935?locale=en>

VILLEGAS, S.C., MALDONADO, H.G.M., MONTES, E.S., PEDROZA, S.I.M., RIOS, T.S., SANTIAGO, E.J. F., FUENTE, J.I.A. Use of *Tithonia diversifolia* (hemsl.) A. Gray in the diet of growing lambs. **Arq. Bras. Med. Veter. Zootec.** v.72, n.5, p.1929–1935, 2020. <https://doi.org/10.1590/1678-4162-11923>

VITORIA, R., A., DAL PIZZOL, G. E., FRIEDRICH, M. T., BERTOL, C. D., & ROSSATOGRANDO, L. G. Evaluation of residues of pesticides on humans from medium plant of Rio Grande do Sul, Brazil. **Brazilian Journal of Health and Biomedical Sciences**, v. 19, n.2, p.108–113. 2021. <https://doi.org/10.12957/bjhbs.2020.59714>

VSDB: Veterinary Substances DataBase. **Abamectin**. Hertfordshire, 2019. Disponível em: <https://sitem.herts.ac.uk/aeru/vsdb/Reports/8.htm>. Acesso em:03 abr. 2021.

WAFAA, M., GABER; HEBA, M., NASR, Comparison Between the Effect of Neem Oil and Neem Aqueous Extract on *Tetranychus urticae* Koch (Acari: Tetranychidae). **Acad. J. Biolog. Sci.** (F. Toxicology & Pest control) v. 12, n. 2, p.19- 23, 2020.

[https://eajbsf.journals.ekb.eg/article\\_108454\\_baf448d6409e641da4354e5b47dd96e3.pdf](https://eajbsf.journals.ekb.eg/article_108454_baf448d6409e641da4354e5b47dd96e3.pdf)

WANG, Jiulong et al. Preparation of Amide-Containing Insecticidal Derivatives from the Renewable Natural Product  $\beta$ -Pinene. **Journal of Renewable Materials**, v. 11, n. 5, 2023.

<https://doi.org/10.1177/1934578X21992218>

WANG, M.Y., LIU, X.Y., SHI, L., LIU, J.L., SHEN, G.M., ZHANG, P., LU, W.C., & HE, L. Análise funcional de UGT201D3 associada à resistência à abamectina em *Tetranychus cinna- barinus* (Boisduval). **Ciência dos Insetos**, v.27, p. 276–291, 2018.<https://doi.org/10.1111/17447917.12637>.

WANZALA, W., MUKABANA, R., HASSANALI, A., O efeito dos óleos essenciais de *Tagetes minuta* e *Tithonia diversifolia* no comportamento do hospedeiro do carrapato da orelha marrom *Rhipicephalus appendiculatus*. **Pecuária Res. Desenvolvedor Rural**, v.30, n.6, 2018. <https://ainfo.cnptia.embrapa.br/digital/bitstream/item/194278/1/Oleo-essencial-de-Tagetesminuta.pdf>

WEI R. et al. Tagitinin C induces ferroptosis through PERK-Nrf2-HO-1 signaling pathway in colorectal cancer cells. **Int J Biol Sci.** 2021 v.17, n.11, p. 2703-2717. DOI: [10.7150/ijbs.59404](https://doi.org/10.7150/ijbs.59404)

WITT, ABR, SHACKLETON, RT, BEALE, T., NUNDA, W., WILGEN, BW, Distribuição de alienígena invasor *Tithonia* (Asteraceae) na África Oriental e Austral e os impactos socioecológicos de *T. diversifolia*. **Conservar**. v.49, n.1. 2019. <https://doi.org/10.4102/abc.v49i1.2356>

XUE, W. et al. Desembaraçando um nó górdio: O papel de uma mutação GluCl3 I321T na resistência à abamectina em *Tetranychus urticae*. **Ciência do manejo de pragas**, v.77, n.4, p.1581–1593, 2021.<https://doi.org/10.1002/ps.6215>.

YE, Rumeng et al. Extraction process optimization of essential oil from *Melissa officinalis* L. using a new ultrasound-microwave hybrid-assisted Clevenger hydrodistillation. **Industrial Crops and Products**, v. 203, p. 117165, 2023. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2023.117165>

ZHAO L. et al. Tagitinin A from *Tithonia diversifolia* provides resistance to tomato spotted wilt orthotospovirus by inducing systemic resistance, **Pesticide Biochemistry and Physiology**, v.169, 2020. <https://doi.org/10.1016/j.pestbp.2020.104654>.

ZHAO, G. J. et al. Chemical constituents from *Tithonia diversifolia* and their chemotaxonomic significance. **Biochemical Systematics and Ecology**, v. 44, p. 250–254, 2012. <https://doi.org/10.1016/j.bse.2012.06.019>

ZHAO, G.; Li, X.; Chen, W.; Xi, Z.; Sun, L. Three new sesquiterpenes from *Tithonia diversifolia* and their anti-hyperglycemic activity. **Fitoterapia** 2012, 83, 1590–1597. DOI: [10.1016/j.fitote.2012.09.007](https://doi.org/10.1016/j.fitote.2012.09.007)

ZHU, T. et al. Glutathione S-Transferase Genes Involved in Response to Short-Term Heat Stress in *Tetranychus urticae* (Koch). **Antioxidants**, v. 13, n. 4, p. 442, 2024. <https://doi.org/10.3390/antiox13040442>

ZIKANKUBA, V.L. et al. Regulamentações sobre pesticidas e suas implicações de negligência médica na segurança alimentar e ambiental. **Agricultura Alimentar Cogente**. v.5, 2019. <https://doi.org/10.1080/23311932.2019.1601544>

ZILCH, K. C. F. Biologia e potencial de *Anisopteromalus calandrae* (Howard, 1881) para o controle de *Lasioderma serricorne* (Fabricius, 1792). **Ciência e Agrotecnologia** v.72, n.5, p.1929–1935, 2021. DOI: [10.1515/znc-2021-0154](https://doi.org/10.1515/znc-2021-0154).