

ATIVIDADE DE ÓLEOS ESSENCIAIS E COMPOSTOS MAJORITÁRIOS DE PLANTAS
DAS FAMÍLIAS PIPERACEAE, MYRTACEAE E RUTACEAE
SOBRE *Spodoptera frugiperda* (J.E. SMITH) (LEPIDOPTERA: NOCTUIDAE)

por

ALINE FONSECA DO NASCIMENTO

(Sob Orientação do Professor Claudio Augusto Gomes da Camara - UFRPE)

RESUMO

A lagarta-do-cartucho, *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith) (Lepidoptera: Noctuidae), é uma praga polífaga cujo controle tem sido realizado principalmente com inseticidas químicos sintéticos. Os óleos essenciais têm sido apresentados como uma alternativa a este método de controle. Deste modo, o objetivo deste trabalho foi determinar o efeito dos óleos essenciais e compostos selecionados de espécies das famílias Piperaceae, Myrtaceae e Rutaceae sobre *S. frugiperda*. As atividades tóxicas e deterrente de alimentação foram determinadas e comparadas aquelas demonstradas pelo inseticida botânico Azamax e inseticida sintético Decis 25 EC. A toxicidade foi avaliada via ovicida e via toxicidade residual e de contato tópico para lagartas de terceiro instar. Com relação a atividade tóxica residual o óleo essencial das folhas de *Piper aduncum* (CL₅₀=11,42 mg/mL) foi o mais tóxico, bem como o constituinte safrol (CL₅₀=13,92 mg/mL). Nos testes de atividade tóxica via contato tópico, a toxicidade dos tratamentos não variou com o tempo (48, 72 e 96h), com exceção do constituinte Safrol e do óleo essencial da casca de *Citrus aurantium* var. *dulcis* que aumentaram com o passar do tempo. Os óleos essenciais extraídos das folhas de *Eucalyptus citriodora* (CL₅₀=5,04mg/mL), e o constituinte S-citronellal (CL₅₀=2,71mg/mL) se destacaram no teste de atividade ovicida. Grande parte dos

tratamentos testados apresentaram toxicidade similar ou maior que o inseticida botânico Azamax, tendo portado grande potencial de uso no controle de pragas e na formulação de inseticidas, especialmente no controle de *S. frugiperda*.

PALAVRAS-CHAVE: Lagarta-do-cartucho, inseticidas botânicos, *Piper*, *Melaleuca*, *Syzygium*, *Eucalyptus*, *Citrus*.

ATIVIDADE DE ÓLEOS ESSENCIAIS E COMPOSTOS MAJORITÁRIOS DE PLANTAS
DAS FAMÍLIAS PIPERACEAE, MYRTACEAE E RUTACEAE
SOBRE *Spodoptera frugiperda* (J.E. SMITH) (LEPIDOPTERA: NOCTUIDAE)

Por

ALINE FONSECA DO NASCIMENTO

(Sob Orientação do Professor Claudio Augusto Gomes da Camara)

ABSTRACT

The fall armyworm, *Spodoptera frugiperda* (J.E Smith) (Lepidoptera: Noctuidae), is a polyphagous pest whose control has been carried out mainly with synthetic chemical insecticides. Essential oils have been presented as an alternative to this control method. Thus, the aim of this study was to determine the effect of essential oils and compounds selected from species of the family Piperaceae, Myrtaceae e Rutaceae on *S. frugiperda*. Toxic activities and deterrent feed were determined and compared those demonstrated by botanical insecticide Azamax and synthetic insecticide Decis 25 EC. Toxicity was evaluated via ovicida and via residual toxicity and topical contact to third instar caterpillars. Regarding the residual toxic activity essential oil of *Piper aduncum* sheets (LC₅₀= 11.42 mg/mL) was the most toxic, and safrole constituent (LC₅₀= 13.92 mg/mL). In the toxic activity tests via topical contact, the toxicity of the treatments did not change with time (48, 72 and 96h), except Safrole constituent and essential oil *Citrus aurantium* var. *dulcis* shell which increased over time. Essential oils extracted from the leaves of *Eucalyptus citriodora* (LC₅₀=5.04mg/mL), and the constituent S- citronellal (LC₅₀=2.71mg/mL) they stood in ovicidal activity test. Much of the tested treatments had similar toxicity to or greater than the

botanical insecticide Azamax, and carrying great potential for use in pest control and insecticide formulation, especially in the control of *S. frugiperda*.

KEY WORDS: Armyworm, botanical insecticide, *Piper*, *Melaleuca*, *Syzygium*, *Eucalyptus*, *Citrus*.

ATIVIDADE DE ÓLEOS ESSENCIAIS E COMPOSTOS MAJORITÁRIOS DE PLANTAS
DAS FAMÍLIAS PIPERACEAE, MYRTACEAE E RUTACEAE
SOBRE *Spodoptera frugiperda* (J.E. SMITH) (LEPIDOPTERA: NOCTUIDAE)

por

ALINE FONSECA DO NASCIMENTO

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Entomologia Agrícola, da Universidade Federal Rural de Pernambuco, como parte dos requisitos para obtenção do grau de Doutor em Entomologia Agrícola.

RECIFE - PE

Fevereiro – 2016

ATIVIDADE DE ÓLEOS ESSENCIAIS E COMPOSTOS MAJORITÁRIOS DE PLANTAS
DAS FAMÍLIAS PIPERACEAE, MYRTACEAE E RUTACEAE
SOBRE *Spodoptera frugiperda* (J.E. SMITH) (LEPIDOPTERA: NOCTUIDAE)

por

ALINE FONSECA DO NASCIMENTO

Comitê de Orientação:

Claudio Augusto Gomes da Camara – UFRPE

Flávia de Souza Born – IPA

ATIVIDADE DE ÓLEOS ESSENCIAIS E COMPOSTOS MAJORITÁRIOS DE PLANTAS
DAS FAMÍLIAS PIPERACEAE, MYRTACEAE E RUTACEAE
SOBRE *Spodoptera frugiperda* (J.E. SMITH) (LEPIDOPTERA: NOCTUIDAE)

por

ALINE FONSECA DO NASCIMENTO

Orientador: _____
Claudio Augusto Gomes da Camara – UFRPE

Examinadores: _____
Flávia de Souza Born – IPA

Wendel José Teles Pontes – UFPE

Aleuny Coutinho Reis – UFRPE

Lílian Maria da Solidade Ribeiro – UFRPE

DEDICATÓRIA

Dedico este trabalho a memória de meu pai, Gilberto Teodoro do Nascimento, meu maior incentivador da vida, e a memória de meu irmão, o meu melhor amigo desde a infância, saudades sempre.

SUMÁRIO

Página

CAPÍTULOS

1	INTRODUÇÃO	1
	<i>Spodoptera frugiperda</i>	1
	Óleos essenciais e inseticidas botânicos.....	4
	LITERATURA CITADA.....	8
2	ATIVIDADE BIOLÓGICA DE ÓLEO ESSENCIAL DE FOLHAS DE DUAS ESPÉCIES DE <i>PIPER</i> SPP. E COMPOSTO MAJORITÁRIO SOBRE <i>Spodoptera frugiperda</i> (J.E. SMITH) (LEPIDOPTERA: NOCTUIDAE)	11
	RESUMO	12
	ABSTRACT	13
	INTRODUÇÃO	14
	MATERIAL E MÉTODOS	15
	RESULTADOS E DISCUSSÃO	19
	AGRADECIMENTOS.....	23
	LITERATURA CITADA.....	23
3	ATIVIDADE INSETICIDA DOS ÓLEOS DAS FOLHAS DE <i>Melaleuca leucadendron</i> E <i>M. alternifolia</i> SOBRE <i>Spodoptera frugiperda</i> (J.E. SMITH) (LEPIDOPTERA: NOCTUIDAE)	30
	RESUMO	31
	ABSTRACT	32

	INTRODUÇÃO	33
	MATERIAL E MÉTODOS	34
	RESULTADOS E DISCUSSÃO	38
	AGRADECIMENTOS.....	41
	LITERATURA CITADA.....	41
4	ATIVIDADE INSETICIDA DOS ÓLEOS DAS FOLHAS, BOTÕES FLORAIS E CONSTITUINTE MAJORITÁRIO DE <i>Syzygium aromaticum</i> LINN SOBRE <i>Spodoptera frugiperda</i> (J.E. SMITH) (LEPIDOPTERA: NOCTUIDAE)	48
	RESUMO	49
	ABSTRACT	50
	INTRODUÇÃO	51
	MATERIAL E MÉTODOS	53
	RESULTADOS E DISCUSSÃO	56
	AGRADECIMENTOS.....	59
	LITERATURA CITADA.....	59
5	ATIVIDADE BIOLÓGICA DOS ÓLEOS DAS FOLHAS DE <i>Eucalyptus</i> <i>citriodora</i> , E DO CONSTITUINTE MAJORITÁRIO SOBRE <i>Spodoptera</i> <i>frugiperda</i> (J.E. SMITH) (LEPIDOPTERA: NOCTUIDAE).....	66
	RESUMO	67
	ABSTRACT	68
	INTRODUÇÃO	69
	MATERIAL E MÉTODOS	72
	RESULTADOS E DISCUSSÃO	74
	AGRADECIMENTOS.....	76

	LITERATURA CITADA.....	77
6	ATIVIDADE BIOLÓGICA DOS ÓLEOS DAS CASCAS DE <i>Citrus</i> spp. E DE ISÔMEROS DE LIMONENO SOBRE <i>Spodoptera frugiperda</i> (J.E. SMITH) (LEPIDOPTERA: NOCTUIDAE	84
	RESUMO	85
	ABSTRACT	86
	INTRODUÇÃO	87
	MATERIAL E MÉTODOS	90
	RESULTADOS E DISCUSSÃO	93
	AGRADECIMENTOS.....	96
	LITERATURA CITADA.....	96
7	CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	107

CAPÍTULO 1

INTRODUÇÃO

Spodoptera frugiperda

A lagarta-do-cartucho, também conhecida como lagarta-dos-milharais ou lagarta militar, *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith) (Lepidoptera: Noctuidae), é uma espécie com ampla distribuição nas Américas que ocorre ao longo de todo o ano principalmente em regiões de clima quente (Pedigo 1989, Miranda & Suassuna 2004). Trata-se de uma espécie polífaga e apesar de preferir gramíneas pode ser encontrada em uma diversidade de hospedeiros, tais como: milho (*Zea mays*), sorgo (*Sorghum bicolor*), algodão (*Gossypium herbaceum*), amendoim (*Arachis hypogaea*), capim-tanzânia (*Panicum maximum* Cv. Tanzânia), cana-de-açúcar (*Saccharum officinarum*) e soja (*Glycine max*) (Barfield *et al.* 1980, Boregas *et al.* 2013, Cruz *et al.* 1982, Cruz *et al.* 1999, Pedigo 1989). Para cultivos como milho e arroz é potencialmente danosa e possui grande importância econômica, sendo, a praga mais importante do milho (Cruz *et al.* 2000).

Segundo Pitre *et al.* (1983) a sobrevivência da prole depende da distribuição de posturas de *S. frugiperda*, em relação à região da planta, estágio fenológico e espécie de hospedeiro uma vez que o ciclo biológico deste inseto pode ser alterado em função do estágio fenológico e da qualidade nutricional do hospedeiro. Quanto a distribuição espacial, lagartas mais jovens (alta densidade populacional) têm distribuição agregada no campo e lagartas em instares posteriores (baixa densidade populacional) são dispersas no campo, tendendo à aleatoriedade (Farias *et al.* 2001).

Quanto a biologia desta praga, os ovos quando vistos de cima são circulares com diâmetro de 0,39mm, a forma é oblonga esferoidal em vista de perfil e são achatados nos pontos de contato com os locais de oviposição, possuem coloração variando de verde-clara a laranja, e

após 12 ou 15 h e próximo a eclosão das larvas eles se tornam escurecidos devido à cabeça negra da lagarta, vista através do córion. Segundo Cruz (1995), a fêmea adulta cobre os ovos com uma camada fina de escamas durante a postura. Ainda de acordo com este autor, não há preferência por local de oviposição na planta uma vez que se trata de uma praga polífaga e existe grande probabilidade da larva encontrar alimento adequado independentemente de onde os ovos sejam colocados.

Sua coloração varia de cinza-escuro a quase preto. Apresenta a faixa dorsal com pontos pretos (pináculos) na base das cerdas. A cabeça é preta com uma linha clara em forma de Y, bastante visível (Gallo *et al.* 2002, Bianco 1991). No período de pré-pupa a lagarta dirige-se ao solo passando por um período sem alimentação. Após um ou dois dias, transforma-se em pupa (Cruz 1995).

Os adultos possuem cerca de 3,5 cm de envergadura com asas anteriores de coloração pardo-escuro e posteriores brancas acinzentadas (Boiça Junior *et al.*, 2006). Lucchini (1977) estudou a biologia de *S. frugiperda* em milho na temperatura de 25°C e UR de 70% observando período de incubação de três dias e fase larval de 14,7 dias. A duração da fase de pupa variou entre machos e fêmeas, sendo 11,8 e 10,2 dias respectivamente. O ciclo total variou entre 31,3 e 30,2 dias, para machos e fêmeas, respectivamente. O número de ínstaes, segundo este mesmo autor, variou de quatro a sete de acordo com a qualidade nutricional do alimento e o desenvolvimento biológico do inseto. Influenciam também a temperatura, sexo, genética e forma de criação deste inseto (Parra & Haddad 1989).

Devido ao canibalismo, comportamento típico da espécie, é comum ser encontrado apenas uma lagarta desenvolvida por cartucho (Raffa 1987). Segundo Fernandes (2003) em populações naturais o canibalismo pode estar relacionado à alimentação, densidade populacional,

disponibilidade de indivíduos vulneráveis e estresse, dentre outros fatores. Este comportamento pode influenciar a estrutura populacional, a biologia e a competição da população.

O milho (*Zea mays* L.), pertencente à família Poaceae, vem alcançando ganhos de produtividade no país nos últimos anos, entretanto, ainda há muita perda durante a produção (Siloto 2002). Independente da época de cultivo, diversos são os fatores responsáveis pela baixa produtividade, porém, um dos mais limitantes é a ocorrência da lagarta-do-cartucho, praga-chave da cultura do milho, frequentemente atingindo o nível de dano econômico (Afonso-Rosa & Barcelos 2012).

Logo após a emergência das plantas de milho, com o surgimento das primeiras folhas, é possível observar as posturas efetuadas pelos adultos deste inseto (Toscano *et al.* 2012). A injúria causada por esta praga, em milho, inicia-se com as lagartas de primeiros ínstaes, que inicialmente apenas raspam as folhas e depois de desenvolvidas, conseguem fazer furos, podendo chegar a danificá-las completamente, culminado na destruição do cartucho (Gallo *et al.* 2002). Segundo Rubin (2009), as lagartas maiores se dirigem para o interior do cartucho, onde fazem buracos nas folhas e nos ínstaes finais (8 a 14 dias) podem destruir completamente pequenas plantas ou causar severos danos em plantas maiores.

Segundo Cruz (1995), os primeiros 30 a 40 dias da cultura, quando a planta apresenta de 8 a 10 folhas, é a fase onde há maior susceptibilidade do milho a desfolha, podendo esta praga provocar danos de 15 a 34%. Segundo Rubin (2009), *S. frugiperda* também pode se alimentar do colmo ou se dirigir para a região da espiga, atacando o pedúnculo e impedindo a formação dos grãos ou ainda, penetrar as espigas na sua porção basal ou distal, danificando diretamente os grãos. Pode ainda reduzir, através da destruição das folhas, a produção do milho em até 20%, devido ao ataque próximo a época do florescimento. Observou-se que em períodos de seca e especialmente em milho “safrinha” suas populações aumentaram e essa praga passou a ter comportamento diferente,

cortando plantas rente ao solo (semelhante à lagarta-rosca, *Agrotis ipsilon*), quando ocorre seca acentuada. Pode ter ainda, no final da cultura, comportamento semelhante a lagarta da espiga, *Helicoverpa zea*, no final da safra danificando a espiga em qualquer parte (Gallo *et al.* 2002).

Tradicionalmente, o manejo desta praga é realizado através de produtos químicos cuja escolha nem sempre leva em consideração o grau de seletividade aos agentes de controle biológico, além disso tem sido observado um aumento na frequência de resistência nas populações de *S. frugiperda*. Em razão destes fatores, dentre outros, vem se verificando uma crescente procura por defensivos alternativos para o efetivo controle de insetos-praga. Uma das classes de compostos derivados de plantas, que vem se destacando no controle de insetos, são os óleos essenciais, que já fazem parte de formulações de inseticidas, capazes de matar e repelir insetos (Isman 2000).

Óleos essenciais e inseticidas botânicos

De acordo com Macías *et al.* (1998), produtos naturais que apresentam atividade biológica são as principais fontes de novas estruturas químicas úteis ao desenvolvimento de moléculas com potencial para utilização na farmacologia, agronomia e outros campos do conhecimento humano. De acordo com Poser & Mentz (2002), os compostos químicos produzidos por vegetais podem ser divididos em dois grandes grupos. O primeiro, produzidos a partir do metabolismo primário das plantas é essencial a todo ser vivo e possuem funções vitais bem definidas, tais como lipídeos, protédeos e glicídeos. O segundo, produzidos a partir do metabolismo secundário, normalmente apresentam estruturas com baixo peso molecular, marcante atividade biológica e são encontrados em concentrações relativamente baixas. Os compostos resultantes do metabolismo primário dão origem aos metabólitos secundários (Cseke *et al.* 2006). Deste modo, o maior foco de pesquisas tem ocorrido acerca dos metabólitos secundários das plantas devido a sua composição química

promissora. Taiz & Zeiger (2009) classificam os compostos secundários, em três grupos quimicamente distintos: terpenos, compostos fenólicos e compostos nitrogenados

Tudo se inicia a partir das reações fotossintéticas. Estas são divididas em duas categorias: A fase luminosa na qual a luz solar será absorvida por moléculas de clorofila e transferida destas para moléculas armazenadoras de energia (adenosina trifosfato - ATP e nicotinamida adenina dinucleotídeo fosfato - NADPH); e a fase bioquímica (Reação de Calvin), nas quais as moléculas de ATP que servirão como fonte de energia e NADPH que será utilizada para a redução no processo de fixação do dióxido de carbono (CO₂), sendo convertido em glicose. A glicose será então metabolizada de modo a serem formados praticamente todos os metabólitos primários e secundários. Inicialmente a glicose será convertida em moléculas de ácido pirúvico que podem seguir duas vias diferentes (Baser & Buchbauer 2012). Na primeira via, moléculas de ácido pirúvico entram na via do ácido chiquínico de modo a formar os metabólitos secundários aromáticos (alcalóides indólicos, quinolínicos, isoquinolínicos, ligninas e lignanas, cumarinas e taninos hidrossolúveis) e na segunda via, o piruvato continua sendo oxidado até a formação de moléculas de acetil-coenzima A (acetil-coA) (Baser & Buchbauer 2012, Ootani *et al.* 2013). Estas moléculas seguirão três vias diferentes: a do ácido cítrico, a do mevalonato e a da condensação do acetato. A via do ciclo do ácido cítrico, formará os alcalóides pirrolidínicos, tropânicos, pirrolizidínicos, piperidínicos e quinolizidínicos; a do mevalonato origina os terpenóides e os esteróis e da condensação do acetato as acetogeninas (De la Rosa *et al.* 2010).

O metabolismo secundário dos vegetais possui elevada capacidade biossintética, tanto em relação ao número de substâncias produzidas quanto à sua diversidade de compostos em uma mesma espécie (Poser & Mentz 2002). Além disso, os compostos orgânicos produzidos por ele parecem não ter função direta no crescimento e desenvolvimento das plantas, não fazendo parte dos caminhos bioquímicos primários do crescimento e de sua reprodução celular. A função destes está

envolvida na adaptação das plantas em seu ambiente, como proteção contra os herbívoros e microorganismos patogênicos (Taiz & Zeiger 2004). Dentre os metabólitos secundários os principais grupos de compostos encontrados com atividade biológica são os alcalóides, flavonóides, cumarinas, taninos, quinonas e óleos essenciais.

Segundo Saito & Scramim (2000), dependendo da família botânica da qual são extraídos, os óleos essenciais podem ocorrer em estruturas secretoras especializadas, tais como pelos glandulares (Lamiaceae), células parenquimáticas diferenciadas (Lauraceae, Piperaceae, Poaceae), canais oleríferos (Apiaceae) ou em bolsas lisígenas ou esquizolisígenas (Pinaceae, Rutaceae). Todos os órgãos da planta podem acumular óleos essenciais, entretanto, sua composição pode variar segundo a localização da parte do qual foi extraído (tais como flores, folhas, cascas dos caules, madeira, raízes, rizomas, frutos ou sementes). Além disso, a composição química de um óleo essencial extraído de um mesmo órgão, em uma mesma espécie vegetal, pode variar significativamente de acordo com a época de coleta, condições climáticas e de solo e quanto à necessidade de defesa ou em proporção direta ao risco de ataque e importância dos tecidos atingidos (Simões & Spitzer 2002, Andrade *et al.* 2010). Óleos essenciais são obtidos, sobretudo, a partir da destilação por arraste com vapor d'água. De forma geral, são misturas complexas de substâncias voláteis lipofílicas geralmente odoríferas e líquidas. Sua principal característica é a volatilidade, diferindo-se, assim, dos óleos fixos, mistura de substâncias lipídicas, obtidos geralmente de sementes (Andrade *et al.* 2010).

Os óleos essenciais têm em sua composição misturas complexas de fenilpropanóides ou terpenóides, sendo os últimos mais frequentes. Podem ser avaliados de acordo com suas características físico-químicas como: teor ou rendimento, estabilidade e quantificação de constituintes químicos (Silva *et al.* 2003). Em geral possuem um composto majoritário. Os compostos terpênicos mais frequentemente encontrados nos óleos voláteis são os monoterpenos (90% dos óleos) e os sesquiterpenos (Simões & Spitzer 2002).

A diversidade de substâncias ativas em óleos essenciais de plantas tem motivado estudos na área farmacêutica, bem como o desenvolvimento de pesquisas envolvendo extratos e óleos essenciais. Em pesquisas na área de fitotecnia, tem sido incansavelmente relatado atividade de extratos e óleos essenciais de plantas tais como efeito fungistático, bactericida, herbicida e inseticida. No controle de insetos pragas tem sido observados efeitos como repelência, inibição da oviposição, inibição da alimentação, inibição do crescimento, alterações do sistema hormonal, alterações morfogênicas, alterações no comportamento sexual, esterilização dos adultos, mortalidade na fase imatura ou adulta e deterrência na alimentação, dentre outros (Procópio & Vendramim, 2003, Akob & Ewete 2007, Kabeh & Jalingo 2007, Kagale *et al.* 2004) ou ainda ativando mecanismos de defesa das plantas contra o ataque de pragas (Wink & Van Wyk 2008). Deste modo, os óleos essenciais podem ser utilizados para o controle de pragas a partir de sua aplicação direta, da aplicação do princípio ativo isolado ou ainda como base para descoberta de novos produtos sintéticos.

Neste contexto podemos destacar as famílias botânicas Piperaceae, Myrtaceae e Rutaceae cujos óleos essenciais de diversas partes de planta vem demonstrando potencial no manejo de pragas. Dentro da família Piperaceae foram selecionadas duas espécies do gênero *Piper*: *P. aduncum* e *P. divaricatum*; na família Myrtaceae foram selecionados os gêneros: *Melaleuca* (*M. leucadendron* e *M. alternifolia*), *Syzygium* (*S. aromaticum*) e *Eucalyptus* (*E. citriodora* e *E. globulus*); por fim na família Rutaceae foram selecionadas quatro espécies do gênero *Citrus*: *C. aurantium*, *C. limon*, *C. aurantifolia* e *C. reticulata*. Todas as espécies selecionadas possuem óleos essenciais com comprovado potencial biológico não somente no que diz respeito a atividade farmacológica, mas também com grande potencial de uso no controle de diversas ordens de insetos pragas com destaque para a ordem Lepidoptera, como é o caso da lagarta-do-cartucho.

Este trabalho teve por objetivo deste trabalho testar o potencial inseticida de espécies selecionadas das famílias Piperaceae, Myrtaceae e Rutaceae, bem como os compostos majoritários destas espécies sobre lagartas de *Spodoptera frugiperda* via contato tópico e residual, verificando ainda sua atividade deterrente de alimentação e ação ovicida, tendo como meta contribuir para a busca de formas de controle alternativo, e de novas moléculas com potencial inseticida para o controle desta praga.

Literatura Citada

- Afonso-Rosa, A.P.S. & H.T. Barcelos. 2012.** Bioecologia e controle de *Spodoptera frugiperda* em milho. Pelotas: Embrapa Clima Temperado; Embrapa Informação Tecnológica, 9-10.
- Akob, C.A. & F.K. Ewete. 2007.** The efficacy of ashes of four locally used plant materials against *Sitophilus zeamais* (Coleoptera: Curculionidae) in Cameroon. *Int. J. Trop. Insect Sci.* 27: 21-26.
- Andrade A.M., J.P.R. Oliveira, A.L.L.M. Santos, C.R.P. Franco, A.R. Antonioli, C.S. Estevam & S.M. Thomazzi. 2010.** Preliminary study on the anti- 83 inflammatory and antioxidant activities of the leave extract of *Hyptis fruticosa* Salzm. ex Benth., Lamiaceae Braz. *J. Pharmac.* 20: 962-968.
- Barfield, C.S., J.W. Smith, Junior, C. Carlyle, & E.R. Mitchell 1980.** Impact of peanut phenology on select population parameters of fall armyworm. *Environ. Entomol.* 9:381-384.
- Baser K.H.C. & G. Buchbauer 2012.** Handbook of essential oils; science, technology, and applications. New York, CRS Press, 994p.
- Bianco, R. 1991.** Pragas e seu controle. p. 184-221. In: Fundação Instituto Agrônômico Do Paraná. A cultura do milho no Paraná. Londrina, IAPAR (IAPAR. Circular Técnica, 68), 271p.
- Boiça Junior, A.L., T. M. Santos & M.A. Toledo. 2006.** Desenvolvimento de *Spodoptera frugiperda* (J.E Smith) em genótipos de milho. *Rev. Agric.* 80: 148-158.
- Boregas, K.G.B., S.M. Mendes, J.M. Waquil & G.W. Fernandes. 2013.** Estádio de adaptação de *Spodoptera frugiperda* (J. E. Smith) (Lepidoptera: Noctuidae) em hospedeiros alternativos. *Bragantia*72: 61-70.
- Cruz, I. 1995.** A lagarta-do-cartucho na cultura do milho. Sete Lagoas: EMBRAPA. Circular Técnico, 21, 45p.
- Cruz, I. & F.T. Turpin. 1982.** Efeito da *Spodoptera frugiperda* em diferentes estádios de crescimento da cultura de milho. *Pesq. Agropec. Bras.* 17: 355-360.

- Cruz, I., M.L.C. Figueiredo & M.J. Matoso. 1999.** Controle biológico de *Spodoptera frugiperda* utilizando o parasitóide de ovos *Trichogramma*. Sete Lagoas, Embrapa, CNPMS, 40p (Circular Técnica 30).
- Cseke L.J., A. Kirakosyan, P.B. Kaufman, S.L. Warber, J.A. Duke & H.L. Brielmann. 2006.** Natural products from plants. New York, CRC Press, 569p.
- De La Rosa L.A., E. Alvarez-Parrilla & G.A. Gonzalez-Aguilar. 2010.** Fruit and vegetable phytochemicals: chemistry, nutritional value and stability. Wiley-Blackwell, 382p.
- Facundo, V.A., Silveira, A.S.P & S.M. Morais. 2005.** Constituents of *Piper alatabaccum* Trel Yuncker (Piperaceae). *Biochem. Syst. Ecol.* 33: 753-756.
- Farias, P.R.S., J.C. Barbosa & A.C. Busoli. 2001.** Distribuição espacial da lagarta-do-cartucho, *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith) (Lepidoptera: Noctuidae), na cultura do milho. *Neotrop. Entomol.* 30: 681-689.
- Fernandes, O.D. 2003.** Efeito do milho geneticamente modificado (mon810) em *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith, 1797) no parasitóide de ovos *Trichogramma* spp. Tese de doutorado. Piracicaba, Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Universidade de São Paulo, 162p.
- Gallo, D., O. Nakano, S. Silveira Neto, R.P.L. Carvalho, G.C. Baptista, E. Berti Filho, J. R. P. Parra, R.A. Zucchi, S.B. Alves, J.D. Vendramim, L.C. Marchini, J.R.S. Lopes & C. Omoto. 2002.** *Entomologia agrícola*. Piracicaba, Fealq, 920p.
- Isman, M.B. 2000.** Plant essential oil for pest and disease management. *Crop Prot.* 19: 603-608.
- Kabeh, J.D. & M.G.D.S.S. Jalingo. 2007.** Pesticidal effect of bitter leaf plant *Vernonia amygdalina* (Compositae) leaves and pirimiphosmethyl on larvae of *Callosobruchus maculatus* (Coleoptera: Bruchidae) and *Sitophilus zeamais* (Coleoptera: Curculionidae). *Int. J. Agric. Biol.* 9: 452-454.
- Kagale, S., T. Marimuthu, B. Thayumanavan, R. Nandakumar & R. Samiyappan. 2004.** Antimicrobial activity and induction of systemic resistance in rice by leaf extract of *Datura metel* against *Rhizoctonia solani* and *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae*. *Physiol. Mol. Pl. Pathol.* 65: 91-100.
- Lucchini, F. 1977.** Biologia de *Spodoptera frugiperda* (Smith & Abbot, 1797) (Lepidoptera-Noctuidae). Níveis de prejuízos e avaliação toxicológica de inseticidas para o seu combate em milho. Curitiba, Dissertação (Mestrado). Universidade Federal do Paraná. 114p.
- Macías, F.A., R.M. Varela., A. Torres., R.M. Oliva & J.M.G. Molinillo. 1998.** Bioactive nor sesquiterpenes from *Helianthus annuus* with potential allelopathic activity. *Phytochemistry* 48: 631-636.
- Ootani, M.A., R.W. Aguiar, A.C.C. Ramos, D.R. Brito, J.B. Silva & J.P. Cajazeira. 2013.** Use of Essential Oils in Agriculture. *J. Biotechnol. Biodiv.* 4: 162-174.

- Parra, J.R.P. & M.L. Haddad. 1989.** Determinação do número de ínstares de insetos. Piracicaba, FEALQ, 49p.
- Pedigo, L.P. 1989.** Entomology and pest management. New York, MacMillan, 646p.
- Pitre, H.N. & D. B. Hogg. 1983.** Development of the fall armyworm on cotton, soybean and corn. J. Ga. Entomol. Soc. 18: 182-187.
- Poser G.L. & L.A. Mentz. 2002.** Diversidade biológica e sistemas de classificação, p. 75-89. In: C.M.O. Simões, Schenkel E.P., Gosmann G., Mello J.C.P, Mentz L.A. & P.R. Petrovick (Eds.), Farmacognosia: da planta ao medicamento. Porto Alegre, Ed. UFSC, 833p.
- Procópio, S. O., J. D. Vendramim, J. I. Ribeiro Júnior & J.B. Santos. 2003.** Bioatividade de diversos pós de origem vegetal em relação a *Sitophilus zeamais* Mots. (Coleoptera: Curculionidae). Ciênc. Agrotec. 27: 1231-1236.
- Raffa, K.F. 1987.** Effect of host plant on cannibalism rates by fall armyworm (Lepidoptera: Noctuidae) larvae. Environ Entomol, 16:672-675.
- Rubin, L.A. 2009.** Manejo da lagarta-do-cartucho, *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera, Noctuidae), na cultura do milho. Monografia. Porto alegre, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, 85p.
- Saito M.L. & S. Scramin. 2000.** Plantas aromáticas e seu uso na agricultura. Jaguariúna, EMBRAPA Meio Ambiente/Ministério da Agricultura e do Abastecimento, 45p.
- Shiva, M.P. & Jain, P.P. 1987.** Seasonal effect on essential oil yield from *Eucalyptus* hybrid leaves. Indian For. 113:798-800.
- Siloto, R.C. 2002.** Danos e biologia de *Spodoptera frugiperda* (J. E. Smith, 1797) em genótipos de milho. Dissertação de mestrado. Piracicaba, Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Universidade de São Paulo, 93p.
- Silva, S.R.S., A.J. Demuner, L.C. Barbosa, N.J. Andrade, E.A. Nascimento & A.L. Pinheiro. 2003.** Análise dos Constituintes Químicos e da atividade antimicrobiana de *Melaleuca alternifolia* Cheel. Rev. Bras. Pl. Med. 6: 63-70
- Simões C.M.O. & V. Spitzer. 2002.** Óleos voláteis, p. 397-425. In: C.M.O. Simões (Org.) Farmacognosia: da planta ao medicamento. Porto Alegre, Ed. Universidade/UFRGS/ Ed. da UFSC, 768p.
- Simões, C.M.O.S., E.P. Schenkel, G. Gosmann, J.C.P. Mello, L.A. Mentz & P.L. Petrovick.**
- Taiz, L & E. Zeiger. 2009.** Fisiologia vegetal. Porto Alegre, Artmed, 954p.
- Taiz, L. & E. Zeiger. 2004.** Fisiologia Vegetal. Porto Alegre, Artmed, 722p.
- Toscano, L.C., Calado Filho, G.C., Cardoso, A.M., Maruyama1, W.I. & G.V. Tomquelski. 2012.** Impacto de inseticidas sobre *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera, Noctuidae) e seus

inimigos naturais em milho safrinha cultivado em cassilândia e chapadão do sul, MS. Arq. Inst. Biol.79: 223-231.

Wink, M. & B.E. Van Wyk. 2008. Mind altering and poisonous plants of the world. Portland, Timber, 404p.

CAPÍTULO 2

ATIVIDADE BIOLÓGICA DE ÓLEO ESSENCIAL DE FOLHAS DE DUAS ESPÉCIES DE *Piper* E COMPOSTO SAFROL SOBRE *Spodoptera frugiperda* (J.E. SMITH) (LEPIDOPTERA: NOCTUIDAE)¹

ALINE F. NASCIMENTO², CLAUDIO A. G. CAMARA³ E FLÁVIA DE SOUZA BORN⁴

²Programa de Pós-Graduação em Entomologia Agrícola, Departamento de Agronomia – Universidade Federal Rural de Pernambuco, Rua Dom Manoel de Medeiros, s/n, Dois Irmãos, 52171-900 Recife, PE, Brasil.

³Programa de Pós-Graduação em Química, Departamento de Química Universidade Federal Rural de Pernambuco, Rua Dom Manoel de Medeiros, s/n, Dois Irmãos, 52171-900 Recife, PE, Brasil.

⁴Instituto Agrônômico de Pernambuco – IPA, Av. General San Martin, 1371, Bongi - Recife/PE CEP: 50761-000

¹Nascimento, A.F., Camara, C.A.G. & F.S. Born. Atividade biológica de óleo essencial de folhas de duas espécies de *Piper* e composto safrol sobre *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith) (Lepidoptera: Noctuidae). Submetido a Pesquisa Agropecuária Brasileira.

RESUMO – O objetivo deste trabalho foi avaliar a toxicidade de óleos essenciais de *Piper aduncum* e *Piper divaricatum*, e do constituinte safrol sobre *Spodoptera frugiperda*. Os resultados da ação inseticida foram comparados com dois controles positivos, o inseticida botânico Azamax e o inseticida sintético Decis 25 EC. No teste de ação residual, os óleos de *Piper* e o constituinte safrol apresentaram maior toxicidade que o Azamax sobre a lagarta-do-cartucho. No teste tópico a susceptibilidade da praga aos óleos de *Piper* e aos controles positivos não variaram com o passar do tempo (48, 72, 96h). Por outro lado, a dose letal do safrol após 96 h ($DL_{50}=52,88 \mu\text{l/lagarta}$) de exposição foi menor que a observada após 48 h ($DL_{50}=128,68$). Considerando-se em uma mesma faixa de tempo tanto os óleos de *Piper* e o constituinte safrol quanto o Azamax, apresentaram mesma toxicidade, com exceção das primeiras 48 h em que o Azamax apresentou maior atividade em relação ao safrol. Após a aplicação das maiores concentrações dos óleos e do safrol, as lagartas apresentaram agitação e convulsões e, em seguida, efeito knock-down. No teste de ação ovicida, dentre os óleos testados *P. aduncum* foi mais tóxico à fase embrionária de *S. frugiperda*. A toxicidade apresentada pelo safrol e pelo Azamax não diferiu dos óleos de *Piper*. Todos os tratamentos, com exceção do Azamax (que foi neutro), demonstraram atividade deterrente sobre a alimentação de *S. frugiperda*. O controle positivo Decis mostrou-se mais tóxico que os demais tratamentos em todas as metodologias testadas.

PALAVRAS-CHAVE: Lagarta-do-cartucho, Piperaceae, ação residual, contato tópico, atividade ovicida, deterrência alimentar

BIOLOGICAL ACTIVITY OF ESSENTIAL OIL OF TWO SPECIES OF *Piper* AND
COMPOUND SAFROLE ON *Spodoptera frugiperda* (J.E. SMITH) (LEPIDOPTERA:
NOCTUIDAE)

ABSTRACT – The objective of this study was to evaluate the toxicity of essential oils of *Piper aduncum* e *P. divaricatum*, and the constituent safrole on *Spodoptera frugiperda*. The results of the insecticidal action was compared to two positive controls, the botanical insecticide Azamax and the synthetic insecticide Decis 25 EC. In the residual action test, the oils of *Piper* and the constituent safrole showed greater toxicity than Azamax on armyworm. On the topic test the susceptibility of the pest to oils of *Piper* and positive controls and does not vary with the passage of time (48, 72, 96h). However, the lethal dose of safrole after 96 hours ($LD_{50}=52.88 \mu\text{l/worm}$) of exposure was lower than that observed after 48 hours ($LD_{50}=128.68 \mu\text{l/worm}$). Whereas in the same time slot both *Piper* oils and safrole as a constituent Azamax showed the same toxicity, except for the first 48 hours that the Azamax showed higher activity compared to safrole. After application of higher concentrations of the oils and safrole, worms were agitated and seizures and then knock-down effect. In ovicidal action test, among all the oils *P. aduncum* it was more toxic to the embryo stage of *S. frugiperda*. The toxicity of the safrole and the Azamax did not different from oil of *Piper*. All treatments, except Azamax (which was neutral) showed deterrent activity on feeding of *S. frugiperda*. The Decision positive control was more toxic than the other treatments in all tested methodologies.

KEY WORDS: Armyworm, Piperaceae, residual action, topical contact, ovicidal activity, feeding deterrence

Introdução

Spodoptera frugiperda (J.E. Smith) (Lepidoptera: Noctuidae), conhecida popularmente como lagarta-do-cartucho é uma espécie com ampla distribuição nas Américas que ocorre ao longo de todo o ano principalmente em regiões de clima quente (Miranda & Suassuna, 2004). Embora prefira gramíneas, é uma espécie polífaga podendo ser encontrada em uma diversidade de hospedeiros, tais como sorgo, *Sorghum bicolor*; algodão, *Gossypium herbaceum*; pastagem, *Panicum maximum* Jacq. Cv. Tanzânia; cana-de-açúcar, *Saccharum officinarum* e soja, *Glycine max*; dentre outras. Além disso, trata-se da mais importante praga na cultura do milho (Cruz *et al.* 2000).

Tradicionalmente, o manejo desta praga é realizado através de agroquímicos sintéticos tais como carbamatos, organofosforados e piretróides, cuja escolha nem sempre leva em consideração o grau de seletividade aos agentes de controle biológico. Além disso, um aumento na frequência de resistência nas populações de *S. frugiperda* tem sido observado. Em razão destes fatores, tem se verificado uma crescente procura por defensivos alternativos bem como novas moléculas que apresentem potencial inseticida para o controle de insetos-praga. Uma das classes de compostos derivados de plantas, que vem se destacando no controle de insetos, são os óleos essenciais, cujos compostos já fazem parte de formulações de inseticidas como é o caso das piretrinas, rotenonas, nicotina, cevatina, veratridinas, rianodinas, quassinóides e da azadiractina, capazes de matar e repelir insetos (Isman, 2000).

Piper aduncum (L.) (Piperaceae), conhecida com pimenta-de-macaco, é uma planta aromática, nativa da Região Amazônica, que apresenta alto teor de óleo essencial. O uso medicinal da "pimenta-de-macaco" tem sido relatado em doenças ginecológicas e desordens intestinais (Van den Berg 1993), como diurético, antiblenorrágico, carminativo, excitante digestivo, para males do fígado, no combate a erisipela e tratamento de úlceras crônicas (Coimbra 1994). Em investigação

prévia do potencial inseticida do óleo essencial de *P. Aduncum*, este revelou-se tóxico à ninfas e adultos de *Diaphorina citri* (Volpe *et al.* 2015), *Anticarsia gemmatalis* (Ribeiro *et al.* 2015), *Solenopsis saevissima* (Souto *et al.* 2012), *Aphis gossypii* (Andrade *et al.* 2012), *Tetranychus urticae* (Araujo *et al.* 2012), *Sitophilus zeamais* (Coitinho *et al.* 2011, Coitinho *et al.* 2010), *Callosobruchus maculatus* (Pereira *et al.* 2008) e sobre *Tenebrio molitor* (Fazolin *et al.* 2007).

A espécie *Piper divaricatum* (Meyer), conhecida popularmente como pau-de-angola é um arbusto com até 9 metros de altura encontrada nos estados do Amazonas, Pernambuco, Bahia, Pará, Minas Gerais, Espírito Santo e Rio de Janeiro (Guimarães & Monteiro 2006). Levantamento acerca de sua atividade biológica revelou toxicidade sobre *Fusarium solani* (Silva *et al.* 2014, Tangarife-Castano *et al.* 2014), bem como atividade inseticida sobre *Tribolium castaneum* (Caballero-Gallardo *et al.* 2014) e *Solenopsis saevissima* (Souto *et al.* 2012).

A toxicidade apresentada pelos óleos essenciais extraídos de diferentes espécies de *Piper* tem sido atribuída principalmente ao composto safrol (Huang *et al.* 1999), constituinte dos óleos de *P. aduncum* e *P. divaricatum*. Sendo assim, o objetivo desse trabalho foi investigar a ação inseticida de óleos essenciais das folhas de *P. aduncum* e *P. divaricatum*, e do constituinte químico safrol, através do contato tóxico e do contato residual e ingestão, bem como testar sua ação ovicida e de deterrência alimentar sobre *S. frugiperda*.

Material e Métodos

Obtenção dos Óleos Essenciais, do Constituinte Químico e dos Inseticidas. Os óleos essenciais das folhas de *Piper aduncum* e *P. divaricatum* foram obtidos por meio da técnica de hidrodestilação a vapor. O constituinte químico safrol utilizado nos testes foi obtido através da Ferquima Indústria e Comércio LTDA. Os inseticidas Azamax® e Decis 25 EC® foram comprados em lojas especializadas em produtos agropecuárias da cidade de Recife/PE.

Criação de *Spodoptera frugiperda*. A criação de *Spodoptera frugiperda* foi mantida no laboratório de Inseticidas botânicos, do departamento de Agronomia, da Universidade Federal Rural de Pernambuco (UFRPE). As lagartas foram alimentadas com dieta artificial (Burton & Perkins 1972), e os adultos receberam solução de água e mel (10%). A criação do inseto bem como os experimentos foram realizados à temperatura de 25 ± 1 °C, umidade relativa de $65 \pm 5\%$, e 12h de fotofase.

Cultivo das Plantas de Milho. Sementes de milho foram semeadas em vasos plásticos contendo solo, areia e húmus. Após a germinação foi realizado o desbaste, de modo a restarem de quatro a seis plantas por vaso. As plantas foram adubadas com sulfato de amônio aos 20 dias após a germinação e regadas diariamente. Para os experimentos, foram utilizadas plantas com 30-40 dias de idade.

Toxicidade Residual e Ingestão. A metodologia usada para avaliar a toxicidade residual foi adaptada de Borgoni & Vendramim (2005). Neste teste foram utilizadas lagartas de terceiro instar (10 dias de vida). Os tratamentos foram preparados diluindo-se os óleos essenciais, o composto safrol e os controles positivos (Azamax e Decis 25 EC) em álcool p.a. e a testemunha apenas em álcool. Nos experimentos foram utilizados um mínimo de cinco concentrações por tratamento, que variaram de 0,01 a 62,5 mg/mL. As seções foliares de milho, cultivadas em estufa com aproximadamente trinta dias, foram cortadas em pedaços de 10 cm² e mergulhadas por 5 segundos nos respectivos tratamentos. Após a total evaporação do solvente, estas foram transferidas uma a uma para tubos de ensaios de 15 cm de altura por 3 cm de diâmetro. As lagartas foram individualizadas nestes tubos de ensaio e estes foram em seguida vedados com algodão. Foram realizadas cinco repetições para cada tratamento, com seis lagartas individualizadas, totalizando 30 lagartas por concentração. A mortalidade foi avaliada após 24h. Os dados foram analisados pelo

modelo Probit através do software Polo-PC para a determinação dos valores das CL_{50} , com intervalos de confiança a 95%.

Toxicidade via Contato Tópico. A metodologia usada para avaliar a toxicidade via contato tópico foi adaptada de Hummelburnner & Isman (2001). No teste foram utilizadas lagartas de terceiro instar (10 dias de vida). Os tratamentos foram preparados diluindo-se os óleos essenciais, o composto safrol e os controles positivos (Azamax e Decis 25 EC) em álcool p.a. e a testemunha apenas em álcool. Foram utilizadas um mínimo de 5 doses por tratamento e estas variaram de 0,2 à 375 mg/mL. O bioensaio consistiu na aplicação de 1,0 μ L de cada tratamento na parte protorácica do inseto, utilizando-se uma microseringa Hamilton. As lagartas foram individualizadas em tubos de ensaios de 15 cm de altura por 3 cm de diâmetro contendo a mesma dieta artificial da criação de manutenção. Foram realizadas 5 repetições para cada tratamento, sendo seis lagartas por repetição. Avaliou-se a toxicidade aguda do óleo essencial, pela contagem de lagartas mortas após 48, 72 e 96 h. Os dados foram analisados pelo modelo Probit através do software Polo-PC para a determinação dos valores das DL_{50} , com intervalos de confiança a 95%.

Atividade Ovicida. A metodologia utilizada foi adaptada de Tavares e colaboradores (2010). Nesta, ovos de *S. frugiperda* com até 48 h de idade foram delicadamente separados e com o auxílio de um pincel aderidos com água em pedaços de papel (15 x 5 cm) em forma de cartela. Um mínimo de 5 concentrações, variando de 0,1 à 46,7 mg/mL, foram utilizadas nos teste. As concentrações foram preparadas diluindo-se os óleos essenciais, o composto safrol e os controles positivos (Azamax e Decis 25 EC) em álcool p.a., a testemunha recebeu apenas álcool. As cartelas de ovos foram mergulhadas por 5 segundos nos tratamentos e colocadas sobre uma superfície por 10 minutos, para evaporação do solvente. Foram realizadas 4 repetições com 20 ovos cada. As cartelas foram então acondicionadas em placas de Petri (12 x 1,5 cm). A mortalidade dos ovos (subtração do número total de ovos pelo número de lagartas que eclodiram) foi avaliada diariamente por um

período de cinco dias. Os dados foram analisados pelo modelo Probit através do software Polo-PC para a determinação dos valores das CL₅₀, com intervalos de confiança a 95%.

Deterrência Alimentar. Para avaliar a deterrência alimentar dos tratamentos sobre *S. frugiperda* foi realizado teste de preferência alimentar, em condições de dupla escolha (tratamento x controle), utilizando-se como tratamentos as CL₃₀ dos óleos essenciais, do composto e dos controles positivos (*P. aduncum*: Azamax e Decis 25 EC) obtidas no teste residual. As folhas de milho foram cortadas em discos foliares com área de cerca de 6,15 cm² (vazador de 2,8 cm de diâmetro). Placas de Petri (15 cm de diâmetro) foram utilizadas como arenas, com fundo coberto por papel umedecido. Cada placa foi dividida em quatro quadrantes: em dois deles foram colocados dois discos de folhas com os tratamentos e nos outros dois quadrantes foram colocados dois discos tratados apenas com álcool (testemunha), de forma que os quadrantes com folhas tratadas e não tratadas ficassem em quadrantes opostos. No centro de cada placa foi liberada uma lagarta de terceiro ínstar de *S. frugiperda*, e após 24 h foi determinada a área restante dos discos foliares, por meio de medidor da área foliar (Li-Cor, modelo LI-3000A). A área consumida foi calculada pela diferença entre a área fornecida e a área restante. Foram realizados bioensaios independentes para cada tratamento sempre em comparação com o controle, utilizando-se 20 repetições para cada tratamento. Em cada bioensaio foi mantida uma alíquota, medindo-se 10 discos foliares inteiros e usando-se a média das 10 medidas como área fornecida.

A comparação da área consumida entre os diferentes tratamentos foi feita por meio de um índice de preferência, adaptado de Kogan & Goeden (1970):

$$IP = (2 \times T)/(C + T)$$

Onde: IP = índice de preferência; T = área consumida no disco de folha tratado; C = área consumida no disco de folha controle.

Para a interpretação dos resultados, foi determinado o Intervalo de Classificação (IClass) para as médias de tratamentos, com base no IP e desvio padrão, pela fórmula:

$$\text{IClass} = 1 \pm t(n-1; \alpha=0,05) \times \text{DP}/\sqrt{n},$$

onde t = valor de "t" tabelado; DP = desvio padrão; n = número de repetições. Os tratamentos foram considerados neutros quando o valor do IP ficou compreendido dentro do IClass; fagodeterrente quando o valor do IP foi inferior ao menor valor obtido para o IClass, e fagoestimulante quando o IP foi superior ao maior IClass calculado. Deste modo:

IP=1 ± IClass, indica efeito neutro;

IP>1 ± IClass, indica efeito fagoestimulante;

IP<1 ± IClass, indica efeito fagodeterrente.

Resultados e Discussão

Toxicidade Residual. Entre os óleos essenciais, o óleo de *P. aduncum* promoveu toxicidade cerca de 1,3 vezes maior do que *P. divaricatum* (Tabela 1). Quando comparada, a atividade do composto Safrol, esta não diferiu daquela registrada para os óleos de *Piper*. O inseticida comercial Decis 25 EC foi mais tóxico do que os óleos essenciais e o Safrol, sendo 36,8 vezes mais tóxico do que o óleo de *P. aduncum*. Por outro lado, todos os óleos de *Piper* e o composto individual Safrol foram significativamente mais ativos do que o inseticida botânico Azamax.

Lima e colaboradores (2009) avaliaram a toxicidade residual do óleo de *P. hispidinervum* sobre lagartas de terceiro instar de *S. frugiperda* e encontraram uma CL₅₀ de 28,3 mg/mL após 24 h de exposição, o que indica que as espécies testadas neste trabalho, *P. aduncum* e *P. divaricatum* possuem toxicidade 2,48 e 1,88 vezes maior, respectivamente.

A semelhança na toxicidade dos óleos testados e a toxicidade relativa do constituinte safrol no presente estudo sugerem que a propriedade inseticida observada para os óleos de *Piper* testados

sobre *S. frugiperda*, pode ser atribuída à toxicidade individual deste constituinte, embora a interação deste com os demais constituintes e suas proporções também devam ser levadas em consideração (Moraes *et al.*2012).

Os óleos de *Piper*, bem como o constituinte safrol apresentaram grande atividade sobre *S. frugiperda* quando comparados com o inseticida botânico comercial Azamax, o que indica potencial uso em formulações de inseticidas botânicos.

Toxicidade via Contato Tópico. A susceptibilidade da praga aos óleos de *Piper* não variou com o passar do tempo (48, 72, 96h), o mesmo foi observado para os controles positivos Azamax e Decis 25 EC (Tabela 2). Por outro lado a dose letal do safrol após 96 h ($DL_{50}=52,88 \mu\text{g/lagarta}$) de exposição foi estatisticamente menor do que a observada após 48 h ($DL_{50}=128,68 \mu\text{g/lagarta}$), o que indica que a toxicidade aumentou com o passar do tempo. Comparando-se em uma mesma faixa de tempo (48, 72, 96h), tanto os óleos de *Piper* quanto o constituinte safrol apresentaram mesma toxicidade entre eles e em comparação ao controle positivo Azamax, com exceção das primeiras 48 h em que o Azamax apresentou maior atividade em relação ao safrol. O Decis 25 EC foi mais tóxico que todos os demais tratamentos.

Uma possível justificativa do aumento da toxicidade do constituinte safrol sobre *S. frugiperda* com o passar do tempo é a natureza polar deste constituinte, e por consequência, sua menor velocidade de evaporação, e maior tempo de contato com a cutícula do inseto, quando comparada com a natureza apolar dos óleos, constituídos principalmente por hidrocarbonetos monoterpenos. A mesma toxicidade apresentada pelos óleos de *Piper* pode ser atribuída à semelhança do perfil químico dos óleos investigados (Nascimento *et al.*, 2012). A toxicidade similar apresentada pelos óleos essenciais de *P. aduncum*, *P. divaricatum* e do constituinte safrol quando comparadas àquela apresentada pelo inseticida natural Azamax indica potencial do uso dos óleos e do composto testado no controle da lagarta-do-cartucho.

Assim como o relatado por Lima e colaboradores (2009) em trabalho que avaliou a atividade biológica de *P. hispidinervum* sobre lagartas de terceiro instar de *S. frugiperda* via contato tópico, durante o desenvolvimento do bioensaio foi observado que logo após a aplicação do óleo essencial e do safrol, nas concentrações mais elevadas, as lagartas (3° instar) apresentaram agitação e convulsões. Em seguida, foi observado o efeito knock-down, em que as lagartas ficaram imóveis por algumas h e em seguida voltaram a sua atividade normal. Estes sintomas são semelhantes aos apresentados por insetos com intoxicação neurotóxica. Alguns compostos presentes em óleos essenciais tais como terpenóides e fenilpropanóides, podem atuar no bloqueio da octopamina, um neurotransmissor presente em insetos semelhante a adrenalina em vertebrados (Ennan *et al.* 1998). Deste modo, pode-se inferir que o fenilpropanóide safrol, presente nos óleos de *Piper* testados possa ter efeito neurotóxico ocasionando o efeito knock-down observado.

Atividade Ovicida. A Tabela 3 apresentada a atividade ovicida dos óleos das folhas de *P. aduncum* e *P. divaricatum*, do constituinte safrol e do Azamax e Decis 25 EC, usados como controle positivo, sobre ovos de *S. frugiperda* com até 48h pós postura. Dentre os óleos testados *P. aduncum* foi mais tóxico à fase embrionária de *S. frugiperda* que *P. divaricatum*. A toxicidade apresentada pelo constituinte safrol não diferiu estatisticamente dos óleos de *Piper*, assim como o controle positivo Azamax. O Decis 25 EC apresentou menor CL₅₀ em relação aos demais tratamentos, sendo portando, mais tóxico sobre ovos de lagarta-do-cartucho.

A atividade ovicida dos óleos essenciais estudados parece estar relacionada a atividade do constituinte safrol, capaz de interromper o desenvolvimento do embrião e reduzir a sobrevivência e a eclosão de lagartas (Santos *et al.* 2012). Em percevejos marrons os ovos tratados com safrol apresentaram formação de embrião, mas estes não conseguiram completar seu desenvolvimento, possivelmente porque o safrol ultrapassou o córion do ovo, causando a morte do embrião (Pinton *et*

al. 2012). Ainda de acordo com Santos e colaboradores (2012), a azadiractina, princípio ativo do Azamax, possui propriedade semelhante.

Deterrência Alimentar. Na tabela 4 são apresentadas a área foliar média consumida e preferência alimentar de lagartas de terceiro ínstar de *S. frugiperda*, entre discos foliares tratados com óleos de *Piper*, com o constituinte safrol e controles positivos Azamax e Decis 25 EC e não tratados. Dentre os tratamentos testados todos demonstraram atividade deterrente sobre a alimentação de *S. frugiperda*, com exceção do controle positivo Azamax que foi neutro, ou seja, nem aumentou, nem reduziu a alimentação da lagarta-do-cartucho.

A deterrência alimentar observada nos óleos de *Piper* parece estar relacionada àquela observada para o constituinte safrol, que já teve sua atividade deterrente verificada em estudos realizados por Harmatha & Nawrot (2002) avaliando diversos compostos dentre fenilpropanóides e lignanas, muito embora não se possa afirmar que se deva somente a este constituinte. Estes estudos mostraram que o safrol e outros compostos constituídos de grupos substituintes não polares (metilenodioxí) causaram alta atividade deterrente alimentar para os insetos *Sitophilus granarius* (L.), *Tribolium confusum* (Duv.) e *Trogoderma granarium* (Ev.).

Como foi observado neutralidade para o Azamax, pode-se inferir a partir dos resultados obtidos nos experimentos de toxicidade residual e neste de deterrência, que este controle positivo não atuou estimulando células fagoderrentes específicas, visto que não reduziu a alimentação dos insetos praga, e sim causando efeitos tóxicos no mesêntero, após a ingestão, dado o fato de que causou mortalidade.

Conclusão

Embora os óleos essenciais das folhas de *P. aduncum* e *P. divaricatum* não tenham alcançado mesmo nível de toxicidade apresentado pelo inseticida Decis 25 EC, apresentaram

resultados promissores quando comparados ao inseticida botânico Azamax. São necessários maiores estudos, especialmente quanto ao conhecimento das interações e toxicidade dos demais constituintes dos óleos essenciais testados.

Agradecimentos

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) e à Fundação de Amparo à Ciência e Tecnologia do Estado de Pernambuco – Facepe, pela concessão de bolsa de pós-graduação (IBPG-0667-5.01/11), e ao CNPQ pela concessão de bolsa de produtividade (proc. 312277/2013-0) e apoio financeiro (proc 477778/2013-5).

Literatura Citada

- Andrade, L.H., J.V. Oliveira, M.O. Breda, E.J. Marques & I.M.M. Lima. 2012.** Effects of botanical insecticides on the instantaneous population growth rate of *Aphis gossypii* Glover (Hemiptera: Aphididae) in cotton. *Acta Sci. Agron.* 34:119-124.
- Araujo, M.J.C., C.A.G. Camara., F.S. Born., M.M. Moraes & C.A. Badji. 2012.** Acaricidal activity and repellency of essential oil from *Piper aduncum* and its components against *Tetranychus urticae*. *Exp. Appl. Acarol.* 57: 139-155.
- Borgoni, P.C. & J.D. Vendramim. 2005.** Efeito Subletal de Extratos Aquosos de *Trichilia* spp. Sobre o desenvolvimento de *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith) (Lepidoptera: Noctuidae) em milho. *Neotrop. Entomol.* 34: 311-317.
- Burton, R.L. & W.D. Perkins. 1972.** A new laboratory diet for the corn earworm and the fall armyworm. *J. Econ. Entomol.* 65: 385-386.
- Caballero-Gallardo, K, N. Pino-Benitez, N. Pajaro-Castro, E. Stashenko, J. Olivero-Verbel. 2014.** Plants cultivated in Choco, Colombia, as source of repellents against *Tribolium castaneum* (Herbst). *J. Pan-Pacific Entomol.* 17: 753-759.
- Coimbra, R. 1994.** Manual de fitoterapia. 2ª. ed. Belém: CEJUP. 526p.
- Coitinho, R.L.B.C., J.V. Oliveira., M.G.C. Gondim Jr & C.A.G. Camara. 2011.** Toxicity by fumigation, contact and ingestion of essential oils in *Sitophilus zeamais* Mots. 1885(Coleoptera: Curculionidae). *Ciênc. Agrotec.* 35: 172-178.

- Coitinho, R.L.B.C., J.V. Oliveira, M.G.C. Gondim Jr & C.A.G. Camara. 2010.** Persistence of essential oils in stored corn infested with corn weevil. *Cienc. Rural* 40:1492-1496.
- Cruz, I. 2000.** Métodos de criação de agentes entomófagos de *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith, 1797), p. 112-135. In: V.H.P. Bueno (ed.), *Controle biológico de pragas: Produção massal e Controle de qualidade*. Lavras, Editora UFLA, 198p.
- Ennan E., M. Beigler & A. Kende. 1998.** Insecticidal action of terpenes and phenols to cockroaches: effects on octopamine receptors. In: *International Symposium on Plant Protection*. European and Mediterranean Plant Protection Organization. Gent, Belgium, p
- Fazolin, M., J.L.V. Estrela, V. Catani, M.R. Alecio & M.S. Lima. 2007.** Insecticidal properties of essential oils of *Piper hispidinervum*; *Piper aduncum* L. and *Tanaecium nocturnum* (Barb. Rodr.) Bur. & K. Shum against *Tenebrio molitor* L., 1758. *Ciênc. Agrotec.* 31: 113-120.
- Guimarães, E.F. & L.C.S. Giordano. 2004.** Piperaceae do Nordeste brasileiro. In: *Estado do Ceará*. *Rodriguésia* 84: 21-46.
- Huang, Y., S.H Ho & R.M. Kini. 1999.** Bioactivities of safrole and isosafrole on *Sitophilus zeamais* (Coleoptera: Curculionidae) and *Tribolium castaneum* (Coleoptera: Tenebrionidae). *J. Econ. Entomol.* 92: 676-683.
- Hummelbrunner, L.A. & M.B. Isman. 2001.** Acute, sublethal, antifeedant, and synergistic effects of monoterpene essential oil compounds on the tobacco cutworm, *Spodoptera litura* (Lepidoptera: Noctuidae). *J. Agric. Food Chem.* 49: 715-720.
- Isman, M.B. 2000.** Plant essential oil for pest and disease management. *Crop prot.* 19: 603-608.
- Kogan, M. & R.D. Goeden. 1970.** The host-plant range of *Lema trilineata daturaphila* (Coleoptera: Chrysomelidae). *Ann. Entomol. Soc. Am.* 63: 1175-1180.
- Lima, R.K., M.G. Cardoso, J.C. Moraes, B.A. Melo, V.G. Rodrigues & P.L. Guimarães. 2009.** Atividade inseticida do óleo essencial de pimenta longa (C. DC.), sobre lagarta-do-cartucho do milho *Spodoptera frugiperda* (J. E. Smith, 1797) (Lepidoptera: Noctuidae). *Acta Amaz.* 39: 377-382.
- Miranda, J. E. & N.D. Suassuna. 2004.** Guia de identificação e controle das principais pragas e doenças do algodoeiro. Campina Grande, Embrapa CNPA, 48 p.
- Moraes, M.M., C.A.G. da Camara, M.L. Santos & W.F.A Christopher. 2012.** Essential oil composition of *Eugenia langsdorffii* O. Berg In: *relationships between some terpenoids and toxicity against Tetranychus urticae*. *J. Braz. Chem. Soc.* 23: 1647-1656.
- Nascimento, A.F., C.A.G. da Camara, M.M. Moraes, C.S. Ramos. 2012.** Essential Oil Composition and Acaricidal Activity of *Schinus terebinthifolius* from Atlantic Forest of Pernambuco, Brazil against *Tetranychus urticae*. *Nat. Prod. Commun.* 7: 129-132.

- Nawrot, J. & J. Harmatha. 2012.** Phytochemical feeding deterrents for stored product insect pests. *Phytochem. Rev.* 11: 543-566.
- Pereira, A.C.R.L., Oliveira, J.V., M.G.C. Gondim Junior & Camara, C.A.G. 2008.** Insecticide activity of essential and fixed oils in *Callosobruchus maculatus* (Fabr., 1775) (Coleoptera: Bruchidae) in cowpea grains [*Vigna unguiculata* (L.) Walp.]. *Ciênc. Agrotec.* 32: 717-724.
- Ribeiro, R.C., T.V. Zanuncio, F.S. Ramalho, C.A.D. Silva, J.E. Serrão & J.C. Zanuncio. 2015.** Feeding and oviposition of *Anticarsia gemmatalis* (Lepidoptera: Noctuidae) with sublethal concentrations of ten condiments essential oils. *Ind. Crop Prod.* 74: 139-143.
- Santos, N.D.L., K.S. Moura, T.H. Napoleão, G.K.N. Santos, L.C.B.B. Coelho, D.M.A.F. Navarro & P.M.G. Paiva. 2012.** Oviposition-stimulant and ovicidal activities of *Moringa oleifera* lectin on *Aedes aegypti*. *PlosONE* 7:44840.
- Silva, J.K.R., J.R.A. Silva, S.B. Nascimento, S.F.M. da Luz, E.N. Meireles, C.N. Alves, A.R. Ramos & J.G.S. Maia. 2014.** Antifungal activity and computational study of constituents from *Piper divaricatum* essential oil against *Fusarium* infection in black pepper. *Mol.* 19: 17926-17942.
- Souto, R.N.P., A.Y. Harada, E.H.A. Andrade & J.G.S. Maia. 2012.** Insecticidal activity of *Piper* essential oils from the amazon against the fire ant *Solenopsis saevissima* (Smith) (Hymenoptera: Formicidae). *Neotrop. Entomol.* 41: 510-517
- Tangarife-Castano, V., J.B. Correa-Royero, V.C. Roa-Linares, N. Pino-Benitez, L.A. Duran, D.C. Betancur-Galvis, E.E. Stashenko & A.C. Mesa-Arango. 2014.** Anti-dermatophyte, anti-*Fusarium* and cytotoxic activity of essential oils and plant extracts of *Piper* genus. *J. Essential Oil. Res.* 26: 221-227.
- Tavares W.S., I. Cruz, F.G. Fonseca, N.L. Gouveia, J.E. Serrão, J.C. Zanuncio. 2010.** Deleterious activity of natural products on postures of *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae) and *Diatraea saccharalis* (Lepidoptera: Pyralidae). *Z. Naturforsch.* 65: 412-418.
- Volpe, H.X.L., M. Fazolin, R.B. Garcia, R.F. Magnani, J.C. Barbosa & M.P. Miranda. 2015.** Efficacy of essential oil of *Piper aduncum* against nymphs and adults of *Diaphorina citri*. *Pest Manag. Sci.* 90: 41-43.

Tabela1: Concentrações letais (CL₅₀), grau de liberdade (GL), qui-quadrado (χ^2), curvas de concentração-mortalidade de óleos de *Piper*, do constituinte safrol e dos controles positivos Azamax e Decis 25 EC sobre lagartas de *S. frugiperda* de terceiro ínstar via residual.

Tratamento	CL ₅₀ (IC 95%) (mg/mL)	CL ₉₀ (IC 95%) (mg/mL)	GL	χ^2	Equação
<i>Piper aduncum</i>	11,42 _(9,73-12,95)	21,92 _(18,75-28,13)	3	5,12	Y=4,53 _{LogX} -4,79
<i>Piper divaricatum</i>	15,05 _(13,69-16,50)	22,77 _(20,29-27,05)	3	3,59	Y=7,12 _{LogX} -8,39
Safrol	13,92 _(12,87-15,00)	21,53 _(19,326-25,45)	4	3,89	Y=6,77 _{LogX} -7,74
Azamax	35,44 _(30,63-41,51)	80,76 _(63,12-125,79)	3	0,38	Y=3,58 _{LogX} -5,55
Decis 25 EC	0,31 _(0,24-0,40)	1,16 _(0,83-1,97)	3	4,74	Y=2,56 _{LogX} +1,14

Tabela 2. Tempos, doses letais (DL₅₀), grau de liberdade (G.L.), qui-quadrado (χ^2), curvas de concentração-mortalidade de óleos de *Piper*, do constituinte safrol e dos controles positivos. Azamax e Decis 25 EC sobre lagartas de *S. frugiperda* de ínstar via contato tóxico.

Tratamento	T	DL ₅₀ (IC 95%) ($\mu\text{g/lagarta}$)	DL ₉₀ (IC 95%) ($\mu\text{g/lagarta}$)	G.L.	χ^2	Equação
<i>Piper aduncum</i>	48h	100,58 _(80,27- 123,31)	220,81 _(177,23-293,02)	3	5,03	Y=3,75 _{LogX} -7,51
	72h	84,82 _(66,97-107,62)	233,67 _(174,79-354,06)	3	2,18	Y=2,91 _{LogX} -5,62
	96h	82,06 _(31,12- 171,47)	277,77 _(140,37-2382)	3	7,40	Y=2,42 _{LogX} -4,63
<i>Piper divaricatum</i>	48h	119,62 _(74,84- 171,47)	269,89 _(185,18-698,48)	4	9,11	Y=3,63 _{LogX} -7,54
	72h	66,49 _(39,65-101,15)	186,71 _(119,33-478,55)	4	9,36	Y=2,86 _{LogX} -5,21
	96h	54,54 _(31,95- 82,81)	166,69 _(105,73-424,08)	4	8,49	Y=2,03 _{LogX} -3,50
Safrol	48h	128,68 _(91,25- 222,97)	232,99 _(196,56-299,62)	3	5,97	Y=4,45 _{LogX} -9,26
	72h	102,14 _(60,07- 190,17)	396,97 _(206,65-2914,00)	4	8,41	Y=2,17 _{LogX} -4,37
	96h	52,88 _(26,78- 87,14)	226,52 _(126,01-1067)	4	8,49	Y=2,02 _{LogX} -3,50
Azamax	48h	62,99 _(44,52-89,56)	504,67 _(296,19-1171)	4	7,00	Y=1,42 _{LogX} -2,55
	72h	44,83 _(19,09-95,11)	321,65 _(136,99-3112)	4	8,67	Y=1,50 _{LogX} -2,47
	96h	35,47 _(25,13-48,60)	227,48 _(147,57-434,28)	4	3,49	Y=1,59 _{LogX} -2,46
Decis 25 EC	48h	0,14 _(0,02-0,31)	5,03 _(2,35-32,76)	4	1,55	Y=0,83 _{LogX} +0,70
	72h	0,11 _(0,01-0,22)	1,54 _(0,89-5,90)	3	1,45	Y=1,11 _{LogX} +1,07
	96h	0,10 _(0,02-0,21)	1,10 _(0,68-3,07)	3	0,47	Y=1,25 _{LogX} +1,23

Tabela 3. Concentrações letais (CL₅₀), grau de liberdade (GL), qui-quadrado (χ^2), curvas de concentração-mortalidade de óleos de *Piper*, do constituinte safrol e dos controles positivos Azamax e Decis 25 EC sobre ovos de *S. frugiperda* com até 48h após postura.

Tratamento	CL ₅₀ (IC 95%) (mg/mL)	CL ₉₀ (IC 95%) (mg/mLmL)	G.L.	χ^2	Equação
<i>Piper aduncum</i>	6,41 _(5,42-7,32)	13,53 _(11,61-16,76)	3	4,64	Y=3,95 _{LogX} -3,19
<i>Piper divaricatum</i>	14,98 _(10,84-21,14)	28,52 _(20,48-99,36)	3	4,67	Y=4,58 _{LogX} -5,39
Safrol	9,03 _(7,00-11,47)	43,92 _(29,16-90,44)	3	6,24	Y=1,87 _{LogX} -1,78
Azamax	8,04 _(0,90-22,85)	85,55 _(27,60-2159)	3	7,42	Y=1,25 _{LogX} -1,13
Decis	0,39 _(0,32-0,47)	1,31 _(0,97-2,03)	3	2,76	Y=2,42 _{LogX} -1,00

Tabela 4. Área foliar média consumida e preferência alimentar de lagartas de terceiro ínstar de *Spodoptera frugiperda*, 24 h após liberação em arenas com chance de escolha entre discos foliares tratados com óleos de *Piper*, com o constituinte safrol e controles positivos Azamax e Decis 25 EC e não tratados.

Tratamento (CL ₃₀ Residual)	Área foliar consumida (\pm EP)		IP ¹ \pm EP	1 \pm IClass ²	Classificação
	Tratamento	Controle			
<i>Piper aduncum</i>	2,52(\pm 0,21)	4,36(\pm 0,25)	0,73(\pm 0,08)	1 \pm 0,10	Fagodeterrente
<i>Piper divaricatum</i>	1,40 (\pm 0,19)	3,47 (\pm 0,10)	0,58 (\pm 0,07)	1 \pm 0,09	Fagodeterrente
Safrol	1,19 (\pm 0,28)	3,17 (\pm 0,32)	0,51 (\pm 0,06)	1 \pm 0,23	Fagodeterrente
Azamax	2,72(\pm 0,25)	1,80(\pm 0,33)	1,21(\pm 0,13)	1 \pm 0,12	Neutro
Decis	0,52 (\pm 0,25)	3,56 (\pm 0,31)	0,25 (\pm 0,13)	1 \pm 0,12	Fagodeterrente

¹Índice de Preferência; ²Intervalo de Classificação.

CAPÍTULO 3

ATIVIDADE INSETICIDA DOS ÓLEOS ESSENCIAIS DAS FOLHAS DE *Melaleuca leucadendron* E *M. alternifolia* SOBRE *Spodoptera frugiperda* (J.E. SMITH) (LEPIDOPTERA: NOCTUIDAE)¹

ALINE F. NASCIMENTO², CLAUDIO A. G. CAMARA³ E FLÁVIA SOUZA BORN⁴

²Programa de Pós-Graduação em Entomologia Agrícola, Departamento de Agronomia – Universidade Federal Rural de Pernambuco, Rua Dom Manoel de Medeiros, s/n, Dois Irmãos, 52171-900 Recife, PE, Brasil.

³Programa de Pós-Graduação em Química, Departamento de Química Universidade Federal Rural de Pernambuco, Rua Dom Manoel de Medeiros, s/n, Dois Irmãos, 52171-900 Recife, PE, Brasil.

⁴Instituto Agrônômico de Pernambuco – IPA, Av. General San Martin, 1371, Bongi - Recife/PE CEP: 50761-000

¹Nascimento, A.F., Camara, C.A.G. & F.S. Born. Atividade biológica de óleo essencial de folhas de *Melaleuca leucadendron* E *M. alternifolia* sobre *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith) (Lepidoptera: Noctuidae). Submetido a Pesquisa Agropecuária Brasileira.

RESUMO – O objetivo deste trabalho foi avaliar a toxicidade de óleos essenciais de *Melaleuca leucadendron* e *M. alternifolia* sobre *Spodoptera frugiperda* e comparar com dois controles positivos, o inseticida botânico Azamax e o inseticida sintético Decis 25 EC. A toxicidade residual apresentada pelos óleos essenciais de *Melaleuca* não diferiram estatisticamente, entretanto, *M. alternifolia* causou nível de mortalidade similar ao obtido pelo controle positivo Azamax. No teste de contato tópico, não houve diferença estatística entre a toxicidade apresentada pelos óleos essenciais de *Melaleuca* sobre *S. frugiperda* em todos os tempos avaliados (48,72 e 96h). Os óleos essenciais testados só alcançaram o mesmo nível de toxicidade do Azamax na avaliação realizada 72 h após a aplicação dos tratamentos. Com relação à atividade ovicida, não houve diferença estatística na toxicidade entre os óleos essenciais de *Melaleuca* sobre a fase embrionária de *S. frugiperda*. Estes alcançaram mesmo nível de toxicidade observada para o controle positivo Azamax. Todos os tratamentos apresentaram efeito deterrente sobre a alimentação de lagartas de terceiro ínstar de *S. frugiperda*, exceto o Azamax que foi neutro. O inseticida sintético Decis 25 EC apresentou a maior atividade biológica sobre a lagarta-do-cartucho em todos os testes realizados.

PALAVRAS-CHAVE: Lagarta-do-cartucho, *Melaleuca*, ação residual, contato tópico, atividade ovicida, deterrência alimentar

INSECTICIDE ACTIVITY OF ESSENTIAL OILS OF LEAVES OF *Melaleuca leucadendron*
AND *M. alternifolia* ON *Spodoptera frugiperda*

ABSTRACT – The objective of this study was to evaluate the toxicity of essential oils OF *Melaleuca leucadendron* and *M. alternifolia* on *Spodoptera frugiperda* and compared with two positive controls, the botanical insecticide Azamax and synthetic insecticide Decis 25 EC. The residual toxicity of the essential oil of *Melaleuca* did not differ statistically; however, *M. alternifolia* caused similar mortality level to that seen for the positive control Azamax. In the topical contact test, there was no statistical difference between the toxicity of the essential oil of *Melaleuca* on *S. frugiperda* in all evaluated times (48.72 and 96h). Essential oils tested only reached the same level of Azamax the toxicity evaluation conducted 72 hours after treatment application. Regarding the ovicidal activity, there was no statistical difference in toxicity between the essential oils of *Melaleuca* on the embryonic stage of *S. frugiperda*. These reached the same level of toxicity observed for the positive control Azamax. All treatments had a deterrent effect on the supply of larvae of third instar of *S. frugiperda*, except Azamax which was neutral. The synthetic insecticide Decis 25 EC showed the highest biological activity against the armyworm in all tests.

KEY WORDS: Armyworm, *Melaleuca*, residual action, topical contact, ovicidal activity, feeding deterrence

Introdução

Os produtos naturais são as principais fontes de novas estruturas químicas úteis ao desenvolvimento de moléculas com potencial para utilização na farmacologia, agronomia e outros campos do conhecimento humano (Macías *et al.* 1998). Nos últimos anos um maior foco de pesquisas tem ocorrido acerca dos metabólitos secundários das plantas devido a sua elevada capacidade biossintética, tanto em relação ao número de substâncias produzidas quanto à sua diversidade em uma mesma espécie (Poser & Mentz 2002). Na agricultura, os óleos essenciais e os extratos vegetais estão sendo utilizados como método alternativo para o controle de insetos-praga e de doenças causadas por fungos, nematoides, vírus e bactérias. Estes óleos essenciais podem ser utilizados a partir de sua aplicação direta, da aplicação do princípio ativo isolado ou ainda como base para descoberta de novos produtos sintéticos.

A lagarta-do-cartucho, *Spodoptera frugiperda* (J. E. Smith), é uma espécie polífaga que possui ampla distribuição nas Américas e ocorre ao longo de todo o ano principalmente em regiões de clima quente (Pedigo 1989, Miranda & Suassuna 2004). Possui grande importância econômica uma vez que se trata da principal praga chave do milho. Embora prefira gramíneas, é potencialmente danosa, não somente na cultura do milho como em outros importantes cultivos (Cruz *et al.* 2000). Tradicionalmente, o controle desta praga é realizado através de produtos químicos cuja escolha nem sempre leva em consideração o grau de seletividade aos agentes de controle biológico. Além disso, tem sido observado um aumento na frequência de resistência nas populações de *S. frugiperda*. Uma das classes de compostos derivados de plantas, que vem se destacando no controle de insetos, são os óleos essenciais, que já fazem parte de formulações de inseticidas, capazes de matar e repelir insetos (Isman 2000).

Melaleuca leucadendron (L.) (Myrtaceae), conhecida popularmente como cajuputi, caracteriza-se por ser uma planta lenhosa com distribuição na Austrália e sudoeste da Ásia sendo

nativa de regiões pantanosas e florestas tropicais (Tanaka *et al.* 2011). Seu óleo essencial tem sido testado com excelentes resultados com relação a proteção de grãos armazenados contra o fungo *Aspergillus flavus* (Kumar *et al.* 2007). Além disso, há relatos na literatura reportando ampla propriedade biológica do óleo essencial de *M. leucadendron* no controle de pragas, como: *Bemisia tabaci* (Tia *et al.* 2013), *Tyrophagus putrescentiae* e *Suidasia pontifica* (Assis *et al.* 2011); *Sitophilus zeamais* (Coitinho *et al.* 2010 e 2011) e *Aedes aegypti* (Noosidum *et al.* 2008).

Melaleuca alternifolia (Cheel) é comumente conhecida como "árvore de chá" e floresce principalmente em áreas de pântano, próximas a rios. Investigação prévia do potencial inseticida do óleo essencial de *M. alternifolia* o revelou tóxico à diversas pragas agrícolas tais como: *Ceratitidis capitata* (Benelli *et al.* 2013), *Diaphorina citri* Kuwayama (Mann *et al.* 2012), *Tetranychus urticae* (Lim *et al.* 2011), *Varroa destructor* (Gashout *et al.* 2009) e *Bemisia tabaci* (Schuster *et al.* 2009, Choi *et al.* 2003).

Nenhum trabalho foi encontrado até o momento relatando a ação dos óleos de *M. leucadendron* e *M. alternifolia* sobre *S. frugiperda*. Deste modo, com a finalidade de dar continuidade ao estudo sistemático do potencial inseticida de plantas, o objetivo desse trabalho foi investigar a atividade inseticida, via contato tópico e residual, bem como a deterrência alimentar e ação ovicida de óleos essenciais das folhas de duas espécies de *Melaleuca* sobre *S. frugiperda*.

Material e Métodos

Obtenção dos Óleos Essenciais. Os óleos essenciais de *Melaleuca leucadendron* e *M. alternifolia* utilizados nos testes foram obtidos por meio da técnica de hidrodestilação à vapor. Os inseticidas Azamax e Decis 25 EC foram comprados em lojas especializadas em produtos agropecuárias da cidade de Recife/PE.

Criação de *Spodoptera frugiperda*. A criação de *Spodoptera frugiperda* foi mantida no laboratório de Inseticidas botânicos, do departamento de Agronomia, da Universidade Federal Rural de Pernambuco (UFRPE). As lagartas foram alimentadas com dieta artificial (Burton & Perkins 1972), e os adultos receberam solução de água e mel (10%).

Cultivo das Plantas de Milho. Sementes de milho foram semeadas em vasos plásticos contendo solo, areia e húmus e mantidas em casa de vegetação. Após a germinação foi realizado o desbaste, de modo a restarem de quatro a seis plantas por vaso. As plantas foram adubadas com sulfato de amônio aos 20 dias após a germinação e regadas diariamente. Para os experimentos, foram utilizadas plantas com 30 à 40 dias de idade.

Toxicidade Residual. A metodologia usada para avaliar a toxicidade residual foi adaptada de Borgoni & Vendramim (2005). Neste teste foram utilizadas lagartas de terceiro instar (10 dias de vida). Os tratamentos foram preparados a partir da diluição dos óleos essenciais de *Melaleuca leucadendron* e *M. alternifolia* e os controles positivos (Azamax e Decis 25 EC) em álcool p.a., e na testemunha foi utilizado apenas álcool. As seções foliares de milho foram cortadas em pedaços de 10 cm² e mergulhadas por 5 segundos nos respectivos tratamentos. Após a total evaporação do solvente, estas foram transferidas uma a uma para tubos de ensaios de 15 cm de altura por 3 cm de diâmetro. Uma lagarta foi colocada em cada tubo e estes vedados com algodão. As concentrações variaram de 0,09 à 85,9 mg/mL, sendo utilizado um mínimo de 5 concentrações por tratamento, com seis lagartas individualizadas. A mortalidade foi avaliada após 24h. Os dados foram analisados pelo modelo Probit através do software Polo-PC para a determinação dos valores das CL₅₀, com intervalos de confiança a 95%.

Toxicidade Via Contato Tópico. A metodologia usada para avaliar a toxicidade via contato tópico foi adaptada de Hummelburnner & Isman (2001). No teste foram utilizadas lagartas de terceiro instar (10 dias de vida). Os tratamentos foram preparados diluindo-se os óleos essenciais das folhas

de *Melaleuca* e os controles positivos (Azamax e Decis 25 EC) em álcool p.a. e a testemunha apenas em álcool. O bioensaio consistiu na aplicação de 1,0 µL de cada tratamento na parte protorácica do inseto, utilizando-se uma microseringa Hamilton. As concentrações dos tratamentos variaram de 31,25 à 375 µg/lagarta, utilizando-se um mínimo de 5 concentrações por tratamento. As lagartas foram individualizadas em tubos de ensaios de 15 cm de altura por 3 cm de diâmetro contendo a mesma dieta artificial da criação de manutenção. Foram realizadas 5 repetições para cada tratamento, sendo seis lagartas por repetição. Avaliou-se a toxicidade aguda do óleo essencial, pela contagem de lagartas mortas após 48, 72 e 96 h. Os dados foram analisados pelo modelo Probit através do software Polo-PC para a determinação dos valores das DL₅₀, com intervalos de confiança a 95%.

Atividade Ovicida. A metodologia foi adaptada de Tavares e colaboradores (2010). Ovos de *S. frugiperda* com até 48 h de idade foram delicadamente separados e aderidos com água em pedaços de papel (15 x 5 cm) em forma de cartela. Os tratamentos foram preparados diluindo-se os óleos essenciais de *Melaleuca* e os controles positivos (Azamax e Decis 25 EC) em álcool p.a. e a testemunha recebeu apenas álcool. As cartelas de ovos foram então mergulhadas por 5 segundos nos tratamentos e colocadas sobre superfície por 10 minutos, para evaporação do solvente. Foram realizadas 4 repetições com 20 ovos cada. As concentrações utilizadas variaram de 0,1 à 13,31 mg/mL. As cartelas foram então acondicionadas em placas de Petri (12 x 1,5 cm). A mortalidade dos ovos (subtração do número total de ovos pelo número de lagartas que eclodiram) foi avaliada diariamente por cinco dias. Os dados foram analisados pelo modelo Probit através do software Polo-PC para a determinação dos valores das CL₅₀, com intervalos de confiança a 95%.

Deterrência Alimentar. Para avaliar a deterrência alimentar provocada pelos tratamentos foi realizado teste de preferência alimentar, em condições de dupla escolha (tratamento x controle), utilizando-se como tratamentos as CL₃₀ dos os óleos essenciais e dos controles positivos (Azamax e

Decis 25 EC) obtidas no teste residual. As folhas de milho foram cortadas em discos foliares com área de cerca de 6,15 cm² (vazador de 2,8 cm de diâmetro). Como arenas, foram utilizadas placas de Petri (15 cm de diâmetro), com fundo coberto por papel umedecido. Cada placa foi dividida em quatro quadrantes: em dois deles foram colocados dois discos de folhas (opostos) com os tratamentos e nos outros dois quadrantes foram colocados dois discos tratados apenas com álcool (testemunha). No centro de cada placa foi liberada uma lagarta de terceiro ínstar de *S. frugiperda*, e após 24 h foi determinada a área restante dos discos foliares, por meio de um medidor da área foliar (Li-Cor, modelo LI-3000A). A área consumida foi calculada pela diferença entre a área fornecida e a área restante. Foram realizados bioensaios independentes para cada um dos tratamentos sempre em comparação com o controle, utilizando-se 20 repetições para cada tratamento. Em cada bioensaio foi mantida uma alíquota, medindo-se 10 discos foliares inteiros e usando-se a média das 10 medidas como área fornecida.

A comparação da área consumida entre os diferentes tratamentos foi feita por meio de um índice de preferência, adaptado de Kogan & Goeden (1970):

$$IP = (2 \times T)/(C + T)$$

onde: IP = índice de preferência; T = área consumida no disco de folha tratado; C = área consumida no disco de folha controle.

Para a interpretação dos resultados, foi determinado o Intervalo de Classificação (IClass) para as médias de tratamentos, com base no IP e desvio padrão, pela fórmula:

$$IClass = 1 \pm t(n-1; \alpha=0,05) \times DP/\sqrt{n},$$

onde t = valor de "t" tabelado; DP = desvio padrão; n = número de repetições. Os tratamentos foram considerados neutros quando o valor do IP ficou compreendido dentro do IClass; fagodeterrente quando o valor do IP foi inferior ao menor valor obtido para o IClass, e fagoestimulante quando o IP foi superior ao maior IClass calculado. Deste modo:

IP=1 ± IClass, indica efeito neutro;

IP>1 ± IClass, indica efeito fagoestimulante;

IP<1 ± IClass, indica efeito fagodeterrente.

Resultados e Discussão

Toxicidade Residual. Na Tabela 1 são apresentados os valores das CL₅₀ e CL₉₀ estimados para a toxicidade residual dos óleos das folhas de *Melaleuca leucadendron* e *M. alternifolia* e de Azamax e Decis 25 EC, usados como controles positivo, sobre lagartas de terceiro ínstar de *Spodoptera frugiperda*. A toxicidade dos óleos essenciais (CL₅₀) de *M. leucadendron* e *M. alternifolia* não diferiram estatisticamente, entretanto, a *M. alternifolia* causou nível de mortalidade similar ao obtido pelo controle positivo Azamax. O Decis 25 EC foi o que alcançou maior atividade biológica.

Byung-Ho Lee e colaboradores (2004) testando diversas espécies do gênero *Melaleuca* sobre pragas de grãos armazenados, observou que as doses letais (DL₅₀) obtidas pelos óleos essenciais de folhas de *M. armillaris*, *M. decussata*, *M. ericifolia*, *M. fulgens*, *M. lanceolata*, *M. linariifolia* e *M. thymifolia* sobre *Sitophilus oryzae* não diferiram estatisticamente, com exceção dos óleos de *M. armillaris* e *M. fulgens*, que apresentaram toxicidade um pouco maior em relação as demais. Essa similaridade nos padrões das toxicidades obtidas pode indicar uma semelhança no perfil químico das espécies do gênero *Melaleuca*, ou ainda, uma semelhança nos sítios alvos alcançados pelos constituintes dos óleos.

A semelhança entre a toxicidade do óleo de *M. alternifolia* e a apresentada pelo inseticida natural Azamax indica potencial do uso do óleo testado no controle da lagarta-do-cartucho, via residual.

Toxicidade Via Contato Tópico. De acordo com a Tabela 2, a susceptibilidade da praga aos óleos de *Melaleuca* e dos controles positivos não variou com o passar do tempo (48, 72, 96h). Em todos os tempos testados não houve diferença estatística entre a toxicidade apresentada pelos óleos essenciais de *Melaleuca* sobre *S. frugiperda* (CL₅₀). Na avaliação após as primeiras 48 h de aplicação os óleos essenciais apresentaram menor atividade biológica em relação ao Azamax e ao Decis 25 EC. Após 72 h da aplicação dos tratamentos os óleos alcançaram mesma toxicidade apresentada pelo Azamax, entretando, este voltou a apresentar menor concentração letal em relação aos óleos após 96 h. Dentre os controles positivos o inseticida sintético foi o mais tóxico em todos os tempos testados.

De forma semelhante ao relatado por Lima e colaboradores (2009) ao testar atividade biológica de óleos essenciais de *P. hispidinervum* sobre lagartas de terceiro ínstar de *S. frugiperda* via contato tópico, observou-se que nas concentrações mais elevadas as lagartas apresentaram agitação e convulsões imediatamente após a aplicação das soluções dos óleos essenciais de *Melaleuca* na região torácica, seguidas por o efeito knock-down, quando as lagartas ficaram imóveis por algumas h e em seguida voltaram a sua atividade normal. Estes sintomas assemelham-se aqueles apresentados por insetos com intoxicação neurotóxicas (Ennan *et al.* 1998).

Atividade Ovicida. Não houve diferença estatística (CL₅₀) entre as toxicidades apresentadas pelos óleos essenciais de *Melaleuca* sobre a fase embrionária de *S. frugiperda* (Tabela 3). Estes alcançaram mesmo nível de toxicidade observada para o controle positivo Azamax. O Decis 25 EC apresentou a maior atividade biológica sobre ovos de *S. frugiperda*.

Atividade ovicida de *M. alternifolia* já havia sido observada sobre *Haemonchus contortus*, um nematóide hematófago endoparasitoide gastrointestinal de ovinos (Grando 2015). Ribeiro (2014) ao testar atividade de óleos essenciais sobre ovos de *Anticarsia gemmatalis* e de *S. frugiperda*, concluíram que sua atividade está relacionada a facilidade de difusão através da quitina e ao maior

contato com o sitio de ação, bloqueando o processo de incubação e ruptura do córion dos ovos. De acordo com Santos e colaboradores (2012), a azadiractina, principio ativo do Azamax possui propriedade semelhante.

Deterência Alimentar. Com exceção do controle positivo Azamax que foi neutro, todos os demais tratamentos, ou seja, os óleos essenciais de *Melaleuca* e o Decis 25 EC apresentaram efeito deterrente sobre a alimentação de lagartas de terceiro ínstar de *S. frugiperda* (Tabela 4).

Os óleos essenciais têm potencial de atuação sobre enzimas digestivas bem como interagir com o tegumento do inseto (Isman, 2006). A atividade deterrente observada nos óleos essenciais de *M. leucadendron* e *M. alternifolia* pode estar relacionado ao composto majoritário destes óleos, o sesquiterpeno acíclico (E)-nerolidol (Padaliaa *et al.* 2015), uma vez que este constituinte foi relatado como deterrente de alimentação sobre formas larvais de insetos (Doskotch *et al.* 1980), estimulando sítios fagoderrentes específicos, diferente do que ocorre no controle positivo Azamax que apenas causou efeitos tóxicos no mesêntero, após a ingestão, sem estimular tais sítios.

Agradecimentos

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) e à Fundação de Amparo à Ciência e Tecnologia do Estado de Pernambuco – Facepe, pela concessão de bolsa de pós graduação (IBPG-0667-5.01/11), e ao CNPQ pela concessão de bolsa de produtividade (proc. 312277/2013-0) e apoio financeiro (proc 477778/2013-5).

Literatura Citada

Assis, C.P.O., Gondim Jr, M.G.C., H.A.A. Siqueira & C.A.G. Camara. 2011. Toxicity of essential oils from plants towards *Tyrophagus putrescentiae* (Schrank) and *Suidasia pontifica Oudemans* (Acari: Astigmata). J. Stored Prod. Res. 47: 311-315.

- Benelli, G., A. Canale, G. Flamini., P.L. Cioni., F. Demi., L. Ceccarini., M. Macchia & B. Conti. 2013.** Biotoxicity of *Melaleuca alternifolia* (Myrtaceae) essential oil against the Mediterranean fruit fly, *Ceratitis capitata* (Diptera: Tephritidae), and its parasitoid *Psytalia concolor* (Hymenoptera: Braconidae). Ind. Crop Prod. 50: 596-603.
- Borgoni, P.C. & J.D. Vendramim. 2005.** Efeito subletal de extratos aquosos de *Trichilia* spp. sobre o desenvolvimento de *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith) (Lepidoptera: Noctuidae) em milho. Neotrop. Entomol. 34: 311-317.
- Burton, R.L. & W.D. Perkins. 1972.** A new laboratory diet for the corn earworm and the fall armyworm. J. Econ. Entomol. 65: 385-386.
- Choi, W., Lee, E.H., Choi, B.R., Park, H.M. & Y.J. Ahn. 2003.** Toxicity of plant essential oils to *Trialeurodes vaporariorum* (Homoptera: Aleyrodidae). J. Econ. Entomol. 96: 1479-1484.
- Coitinho, R.L.B.C., J.V. Oliveira., M.G.C. Gondim Jr & C.A.G. Camara. 2011.** Toxicity by fumigation, contact and ingestion of essential oils in *Sitophilus zeamais* Mots. 1885 (Coleoptera: Curculionidae). Ciênc. agrotec. 35: 172-178.
- Coitinho, R.L.B.C., J.V. Oliveira., M.G.C. Gondim Jr & C.A.G. Camara. 2010.** Persistence of essential oils in stored corn infested with corn weevil. Cienc. Rural 40: 1492-1496.
- Cruz, I. 2000.** Métodos de criação de agentes entomófagos de *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith, 1797), p. 112-135. In: V.H.P. Bueno (ed.), Controle biológico de pragas: Produção massal e Controle de qualidade. Lavras, Editora UFLA, 198p.
- Doskotch, R.W., H.Y. Cheng, T.M. Odell & L. Girard. 1980.** Nerolidol: An antifeeding sesquiterpene alcohol for gypsy moth larvae from *Melaleuca leucadendron*. J. Chem. Ecol. 6: 845-851.
- Ennan E., M. Beigler & A. Kende. 1998.** Insecticidal action of terpenes and phenols to cockroaches: effects on octopamine receptors. In: International Symposium on Plant Protection. European and Mediterranean Plant Protection Organization. Gent, Belgium, 512p.
- Gashout, H.A & E. Guzman-Novoa. 2009.** Acute toxicity of essential oils and other natural compounds to the parasitic mite, *Varroa destructor*, and to larval and adult worker honey bees (*Apis mellifera* L.). J. Apicult. Res. 48: 263-269.
- Grando, T.H. 2015.** Ação in vitro ovicida e larvicida do óleo essencial de *Melaleuca alternifolia*, livre e nanoestruturado, e terpinen-4-ol sobre o *Haemonchus contortus*. Dissertação de mestrado. UFSM, Santa Maria, 52p.
- Hummelbrunner, L.A. & M.B. Isman. 2001.** Acute, sublethal, antifeedant, and synergistic effects of monoterpene essential oil compounds on the tobacco cutworm, *Spodoptera litura* (Lep., Noctuidae). J. Agric. Food Chem. 49: 715-720.
- Isman, M.B. 2000.** Plant essential oil for pest and disease management. Crop Prot. 19: 603-608.

- Kogan, M. & R.D. Goeden. 1970.** The host-plant range of *Lema Trilineata daturaphila* (Coleoptera: Chrysomelidae). *Ann. Entomol. Soc. Am.* 63: 1175-1180.
- Kumar, R.D.N.K., O.P. Tiwari., Y.B. Tripathi & K.K. Sinha. 2007.** Evaluation of some essential oils as botanical fungitoxicants for the protection of stored food commodities from fungal infestation. *J. Sci. Food Agric.* 87:1737-1742.
- Leea, B.H., P.C. Annisb, F. Tumaaliia & W.S. Choic. 2004.** Fumigant toxicity of essential oils from the Myrtaceae family and 1,8-cineole against 3 major stored-grain insects. *J. Stored Prod. Res.* 40: 553–564.
- Lim, E.G., H.S. Roh, T.A. Coudron & C.G. Park. 2011.** Temperature-dependent fumigant activity of essential oils against two spotted spider mite (Acari: Tetranychidae). *J. Econ. Entomol.* 104: 414-419.
- Macías, F.A., R.M. Varela., A. Torres., R.M. Oliva & J.M.G. Molinillo. (1998).** Bioactive nor sesquiterpenes from *Helianthus annuus* with potential allelopathic activity. *Phytochemistry* 48: 631-636.
- Mann, R.S., S. Tiwari., J.M. Smoot, R.L. Rouseff & L.L. Stelinski. 2012.** Repellency and toxicity of plant-based essential oils and their constituents against *Diaphorina citri* Kuwayama (Hemiptera: psyllidae). *J. Appl. Entomol.* 136:87-96.
- Miranda, J.E. & N.D. Suassuna. 2004.** Guia de identificação e controle das principais pragas e doenças do algodoeiro. Campina Grande, Embrapa CNPA, 48 p.
- Nascimento, A.F., C.A.G. da Camara, M.M. Moraes & C.S. Ramos. 2012.** Essential oil composition and acaricidal activity of *Schinus terebinthifolius* from atlantic forest of Pernambuco, Brazil against *Tetranychus urticae*. *Nat. Prod. Commun.* 7: 129-132.
- Noosidum A., A. Prabaripai, T. Chareonviriyaphap & A. Chandrapatya. 2008.** Excito-repellency properties of essential oils from *Melaleuca leucadendron* L., *Litsea cubeba* (Lour.) persoon, and *Litsea salicifolia* (Nees) on *Aedes aegypti* (L.). *J. Vector Ecol.* 33: 305-12.
- Padaliaa, R.C., R.S. Vermaa, A. Chauhana & C.S. Chanotiyab. 2015.** The essential oil composition of *Melaleuca leucadendra* L. grown in India: A novel source of (*E*)-nerolidol. *Ind. Crop Prod.* 69: 224–227.
- Pedigo, L.P. 1989.** Entomology and pest management. New York, MacMillan, 646p.
- Poser G.L. & L.A. Mentz. 2002.** Diversidade biológica e sistemas de classificação, p.75-89. In: C.M.O. Simões Schenkel E.P., Gosmann G., Mello J.C.P, Mentz L.A. & P.R. Petrovick, Farmacognosia: da planta ao medicamento. Porto Alegre, Ed. UFSC, 833p.
- Ribeiro, R.C. 2014.** Da cozinha para o campo: potencial de óleos essenciais de condimentos para o controle de lepidópteros e a seletividade sobre o seu predador. Tese de Doutorado, Viçosa, UFV, 87p.

- Santos, N.D.L., K.S. Moura, T.H. Napoleão, G.K.N. Santos, L.C.B.B. Coelho, D.M.A.F. Navarro & P.M.G. Paiva. 2012.** Oviposition-stimulant and ovicidal activities of *Moringa oleifera* lectin on *Aedes aegypti*. PLoS ONE 7:44840.
- Schuster, D.J., S. Thompson., L.D. Ortega & J.E. Polston. 2009.** Laboratory evaluation of products to reduce settling of sweet potato whitefly adults. J Econ Entomol. 102:1482-1489.
- Tanaka, K., M. Masumori, T. Yamanoshita, T. Tange. 2011.** Morphological and Anatomical Changes of *Melaleuca cajuputi* under ubmergence. TREES 25: 695-704.
- Tavares W.S., I. Cruz, F.G. Fonseca, N.L. Gouveia, J.E. Serrão, J.C. Zanuncio. 2010.** Deleterious activity of natural products on postures of *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae) and *Diatraea saccharalis* (Lepidoptera: Pyralidae). Z. Naturforsch. 65: 412–418.
- Tia, E.V., P. Lozano, C. Menut, Y.F. Lozano, T. Martin, S. Niamke, A. Adima & A. Source. 2013.** Potentiality of essential oils for control of the whitefly *Bemisia tabaci* Genn., a greenhouse pest. Phytotopathology 11: 31-38.

Tabela 1. Concentrações letais (CL₅₀), grau de liberdade (G.L.), qui-quadrado (χ^2), curvas de concentração-mortalidade de óleos de *Melaleuca* e dos controles positivos Azamax e Decis 25 EC sobre lagartas de *S. frugiperda* de terceiro ínstar via residual.

Tratamento	CL ₅₀ (IC 95%) (mg/mL)	CL ₉₀ (IC 95%) (mg/mL)	G.L.	χ^2	Equação
<i>Melaleuca leucadendron</i>	76,19 _(57,24-127,50)	375,97 _(191,79-1973)	3	2,23	Y=1,85 _{LogX} -3,48
<i>Melaleuca alternifolia</i>	63,97 _(35,79-90,00)	113,05 _(82,83-545,94)	3	6,66	Y=5,18 _{LogX} -9,36
Azamax	35,07 _(30,20-41,22)	81,56 _(63,38-128,56)	3	0,40	Y=3,50 _{LogX} -5,40
Decis 25 EC	0,31 _(0,23-0,39)	1,14 _(0,82-1,93)	3	3,91	Y=2,24 _{LogX} +1,15

Tabela 2. Tempos, doses letais (DL₅₀), grau de liberdade (G.L.), qui-quadrado (χ^2), curvas de concentração-mortalidade de óleos de *Melaleuca* e dos controles positivos Azamax e Decis 25 EC sobre lagartas de *S. frugiperda* de terceiro ínstar via contato tópico.

Tratamento	T	DL ₅₀ (IC 95%) ($\mu\text{g/lagarta}$)	DL ₉₀ (IC 95%) ($\mu\text{g/lagarta}$)	G.L	χ^2	Equação
<i>M. leucadendron</i>	48h	110,37 _(89,64-134,85)	304,53 _(233,92-451,82)	3	3,15	Y=2,91 _{LogX} -5,94
	72h	105,55 _(85,70-128,80)	288,77 _(222,55-425,73)	3	2,45	Y=2,93 _{LogX} -5,93
	96h	99,95 _(81,14-122,03)	273,17 _(210,39-403,37)	3	3,93	Y=2,94 _{LogX} -5,87
<i>M. alternifolia</i>	48h	118,74 _(99,27-140,10)	261,23 _(214,75-341,27)	4	2,37	Y=3,74 _{LogX} -7,76
	72h	109,25 _(91,47-129,79)	236,61 _(191,17-323,01)	3	2,01	Y=3,82 _{LogX} -7,78
	96h	94,76 _(77,81-114,29)	234,17 _(184,47-333,44)	3	2,18	Y=3,26 _{LogX} -6,45
Azamax	48h	62,16 _(43,64-88,94)	518,07 _(300,94-1224)	4	7,29	Y=1,39 _{LogX} -2,50
	72h	43,99 _(17,88-96,58)	328,76 _(136,07-3669)	4	8,99	Y=1,46 _{LogX} -2,41
	96h	34,68 _(24,38-47,81)	230,97 _(148,70-446,04)	4	3,67	Y=1,55 _{LogX} -2,39
Decis 25 EC	48h	0,14 _(0,02-0,30)	5,08 _(2,36-33,50)	4	1,54	Y=0,82 _{LogX} +0,70
	72h	0,11 _(0,014-0,22)	1,55 _(0,89-6,00)	3	1,38	Y=1,10 _{LogX} +1,07
	96h	0,10 _(0,01-0,20)	1,11 _(0,67-3,120)	3	0,44	Y=1,24 _{LogX} +1,23

Tabela 3. Concentrações letais (CL₅₀), grau de liberdade (G.L.), qui-quadrado (χ^2), curvas de concentração-mortalidade de óleos de *Melaleuca* e dos controles positivos Azamax e Decis 25 EC sobre ovos de *Spodoptera frugiperda* com até 48h após postura.

Tratamento	CL ₅₀ (IC 95%) (mg/mL)	CL ₉₀ (IC 95%) (mg/mL)	G.L.	χ^2	Equação
<i>M. leucadendron</i>	19,02 _(12,74-48,09)	146,66 _(54,77-2088)	3	2,01	Y=1,44LogX-1,85
<i>M. alternifolia</i>	18,27 _(14,57-24,05)	87,22 _(53,29-234,05)	4	4,58	Y=1,89LogX-2,38
Azamax	8,06 _(0,94-22,69)	85,13 _(27,66-1766,72)	3	7,36	Y=1,25LogX-1,13
Decis	0,39 _(0,32-0,47)	1,31 _(0,97-2,025)	3	2,75	Y=2,42LogX-1,01

Tabela 4. Área foliar média consumida e preferência alimentar de lagartas de terceiro ínstar de *Spodoptera frugiperda*, 24 h após liberação em arenas com chance de escolha entre discos foliares tratados com óleos de *Melaleuca* e controles positivos Azamax e Decis 25 EC e não tratados.

Tratamento (CL ₃₀ Residual)	Área foliar consumida (\pm EP)		IP ¹ \pm EP	1 \pm IClass ²	Classificação
	Tratamento	Controle			
<i>Melaleuca leucadendron</i>	1,33(\pm 0,30)	3,78 (\pm 0,16)	0,52 (\pm 0,07)	1 \pm 0,15	Fagodeterrente
<i>Melaleuca alternifolia</i>	1,34 (\pm 0,13)	3,29 (\pm 0,35)	0,58 (\pm 0,11)	1 \pm 0,06	Fagodeterrente
Azamax	2,75(\pm 0,07)	1,79(\pm 0,41)	1,22(\pm 0,10)	1 \pm 0,20	Neutro
Decis	0,51 (\pm 0,26)	3,55 (\pm 0,31)	0,25 (\pm 0,13)	1 \pm 0,12	Fagodeterrente

¹Índice de preferência; ²Intervalo de classificação.

CAPÍTULO 4

ATIVIDADE INSETICIDA DOS ÓLEOS ESSENCIAIS DAS FOLHAS, BOTÕES FLORAIS E DO COMPOSTO MAJORITÁRIO DE *Syzygium aromaticum* LINN SOBRE *Spodoptera frugiperda* (J.E. SMITH) (LEPIDOPTERA: NOCTUIDAE)¹

ALINE F. NASCIMENTO², CLAUDIO A. G. CAMARA³ E FLÁVIA SOUZA BORN⁴

¹Programa de Pós-Graduação em Entomologia Agrícola, Departamento de Agronomia – Universidade Federal Rural de Pernambuco, Rua Dom Manoel de Medeiros, s/n, Dois Irmãos, 52171-900 Recife, PE, Brasil.

²Programa de Pós-Graduação em Química, Departamento de Química Universidade Federal Rural de Pernambuco, Rua Dom Manoel de Medeiros, s/n, Dois Irmãos, 52171-900 Recife, PE, Brasil.

³Instituto Agrônomo de Pernambuco – IPA, Av. General San Martin, 1371, Bongi - Recife/PE
CEP: 50761-000

¹Nascimento, A.F., C.A.G. Camara & F.S. Born. Atividade inseticida dos óleos essenciais das folhas, botões florais e do composto majoritário de *Syzygium aromaticum* Linn sobre *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith) (Lepidoptera: Noctuidae). A ser submetido a Acta Scientiarum. Agronomy.

RESUMO – Este trabalho objetivou avaliar o potencial inseticida de óleos essenciais extraídos de folhas e botões florais de *Syzygium aromaticum*, bem como de seu constituinte principal eugenol sobre *Spodoptera frugiperda*, e dos controles positivos, o inseticida botânico comercial Azamax e o sintético Decis 25 EC. No teste de toxicidade residual a praga mostrou-se mais suscetível ao óleo essencial dos botões florais (CL_{50} = 16,88 mg/mL) que ao das folhas (CL_{50} = 25,03 mg/mL). O constituinte eugenol apresentou mesmo nível de toxicidade que os óleos essenciais. O controle positivo Azamax (CL_{50} = 35,44 mg/mL) foi menos ativo que os óleos e o eugenol. Entretanto, no teste de contato tópico, em todos os tempos testados o óleo essencial das folhas foi mais tóxico à praga que o dos botões florais, o eugenol apresentou toxicidade estatisticamente igual à apresentada pelos óleos e somente o óleo essencial das folhas apresentou mesma atividade biológica que a causada pelo Azamax. Em relação a atividade ovicida, os óleos essenciais (folha e botões), o eugenol e o controle positivo Azamax apresentaram mesmo nível de toxicidade. Apenas o óleo essencial extraído das folhas e o controle positivo Decis 25 EC causaram deterrência alimentar sobre a lagarta-do-cartucho.

PALAVRAS-CHAVE: Lagarta-do-cartucho, cravo-da-índia, ação residual, contato tópico, atividade ovicida, deterrência alimentar

INSECTICIDE ACTIVITY OF ESSENTIAL OILS OF LEAVES, FLORAL BUTTONS AND
MAJOR COMPOUND OF *Syzygium aromaticum* ON *Spodoptera frugiperda* (J.E. SMITH)
(LEPIDOPTERA: NOCTUIDAE)

ABSTRACT – This study evaluated the potential of essential oils insecticide extracted from leaves and floral buttons of *Syzygium aromaticum*, as well as its main constituent eugenol on *S. frugiperda*, and the positive controls, the commercial botanical insecticide Azamax and synthetic Decis 25 EC. The residual toxicity test the pest was more susceptible to the essential oil of floral button (LC_{50} = 16.88 mg/mL) than the leaves (LC_{50} = 25.03 mg/mL). The constituent features eugenol same level of toxicity essential oils The positive control Azamax (LC_{50} = 35.44 mg/mL) is less active than the oil and eugenol. However, the topic contact test, at all times tested the essential oil of the leaves was more toxic to the pest than the flower buds, eugenol statistically the same toxicity presented by oils and only the essential oil from the leaves showed the same biological activity that caused by Azamax. In relation to ovicidal activity, essential oils (leaves and buttons), eugenol and Azamax positive control showed the same level of toxicity. Only the essential oil extracted from the leaves and the positive control Decis 25 CE caused food deterrence on the fall armyworm.

KEY WORDS: Fall armyworm, clove India, residual action, topical contact, ovicidal activity, feeding deterrence

Introdução

Um dos cereais mais importantes cultivados atualmente é o milho, uma vez que constitui base da alimentação humana e animal. No Brasil é considerada uma cultura de grande importância social e econômica, porém vem sofrendo muitos problemas que podem estar relacionados à baixa renda dos agricultores, ao baixo nível de tecnologia, às doenças e também à incidência de pragas, que causam grandes prejuízos por atacarem em todas as fases do seu ciclo (Néri *et al.* 2005, Oliveira *et al.* 2007).

A lagarta-do-cartucho, *Spodoptera frugiperda*, é uma das pragas-chave do milho sendo potencialmente danosa. O ataque sobre o milho pode ocorrer desde a fase de plântula até o pendoamento e a formação de espigas. Durante os primeiros ínstaes as lagartas raspam o limbo foliar, provocando o sintoma de "folha raspada". Em ataques mais tardios podem ser encontrados entre o colmo e espiga, onde perfuram a inflorescência feminina destruindo alguns grãos. As plantas danificadas por lagartas grandes são facilmente identificadas devido à grande quantidade de fezes deixada no local. Nas condições brasileiras os prejuízos causados à produção por *S. frugiperda*, dependem do estágio em que a planta se encontra por ocasião de ataque, de 15% aos 30 dias a 34% no florescimento (Carvalho 1982).

O emprego de óleos essenciais e constituintes extraídos de plantas com poder inseticida apresenta algumas vantagens quando comparada aos inseticidas sintéticos: são renováveis e facilmente degradáveis (Oliveira *et al.* 2007). O desenvolvimento de resistência de insetos a óleos essenciais é lento e eles ainda podem ser fontes de novos compostos quando se objetiva o desenvolvimento de novos inseticidas.

O cravo-da-índia, *Syzygium aromaticum*, é uma árvore de até 15 m de comprimento, nativa das ilhas Mollucas do Norte (Indonésia) que foi aclimatada na África e no Brasil. A parte mais usada do cravo é o botão floral (ainda não aberto) seco. O óleo essencial de cravo-da-índia

apresenta como seu principal constituinte o eugenol e possui em proporções menores o acetato de eugenol, β -cariofileno, entre outros compostos com proporções pouco significativas. O eugenol é um composto fenólico, largamente usado na odontologia como componentes de seladores, na higiene bucal e como anestésico para o alívio de dores de dente (Chong *et al.* 1999).

Investigação prévia do potencial inseticida do óleo essencial de *S. aromaticum* o revelou tóxico à diversas pragas agrícolas tais como: *Anticarsia gemmatilis* (Ribeiro *et al.* 2015), *Varroa destructor* (Maggi *et al.* 2010, Su *et al.* 2012), *Trichoplusia ni* (Machial *et al.* 2010, Jiang *et al.* 2012), *Choristoneura rosaceana* (Machial *et al.* 2010), *Tetranychus urticae* (Han *et al.* 2010), *Chrysomya megacephala* (Shen *et al.* 2007), *Lycoriella ingênua* (Park *et al.* 2006), *S. littoralis* (Pavela *et al.* 2005), *Acanthoscelides obtectus* (Viteri *et al.* 2014), *Tribolium confusum*, (Purhematy *et al.* 2013), *Sitophilus oryzae* (Mishra *et al.* 2013), *S. zeamais* e *Callosobruchus chinensis* (Haddi Khalid *et al.* 2015, Kim *et al.* 2003), *Tribolium castaneum* (Abo-El-Saad *et al.* 2011). Além disso já foi observada atividade biológica em formulações quando associado com *Bacillus thuringiensis* na biologia e imunologia de *S. frugiperda* (Cruz *et al.* 2014).

Óleos essenciais extraídos de diferentes partes da planta ou da mesma planta em diferentes estádios de desenvolvimento ou maturação podem apresentar significativas diferenças em sua composição. Nascimento e colaboradores (2012) observaram diferenças da atividade biológica de frutos verdes e maduros de *Schinus terebinthifolius* Raddi sobre *T. urticae*. Deste modo o objetivo deste trabalho foi avaliar o potencial inseticida de óleos essenciais extraídos de folhas e botões florais de *S. aromaticum*, bem como de seu constituinte principal eugenol sobre *S. frugiperda*, e dos controles positivos o inseticida botânico comercial Azamax e o sintético Decis 25 EC.

Material e Métodos

Obtenção dos Óleos Essenciais. Os óleos essenciais utilizados nos testes foram extraídos de folhas e botões florais de *S. aromaticum* por meio da técnica de hidrodestilação à vapor. O constituinte eugenol foi adquirido comercialmente da empresa Fequímica Industria e Comércio LTDA. Os inseticidas Azamax e Decis 25 EC foram comprados em lojas especializadas em produtos agropecuárias da cidade de Recife/PE.

Criação de *Spodoptera frugiperda*. A criação de *S. frugiperda* foi mantida no laboratório de Inseticidas botânicos, do departamento de Agronomia, da Universidade Federal Rural de Pernambuco (UFRPE). As lagartas foram alimentadas com dieta artificial (Burton & Perkins 1972), e os adultos receberam solução de água e mel (10%).

Cultivo das Plantas de Milho. Sementes de milho foram semeadas em vasos plásticos contendo solo, areia e húmus. Após a germinação foi realizado o desbaste, de modo a restarem de quatro a seis plantas por vaso. As plantas foram adubadas com sulfato de amônio aos 20 dias após a germinação e regadas diariamente. Para os experimentos, foram utilizadas plantas com 30-40 dias de idade.

Toxicidade Residual. A metodologia usada para avaliar a toxicidade residual foi adaptada de Borgoni & Vendramim (2005). Neste teste foram utilizadas lagartas de terceiro instar (10 dias de vida). Os tratamentos foram preparados diluindo-se os óleos essenciais das folhas e botões florais de *S. aromaticum*, o composto eugenol e os controles positivos (Azamax e Decis 25 EC) em álcool p.a. Na testemunha foi utilizado apenas álcool. As seções foliares de milho, cultivadas em estufa com aproximadamente trinta dias, foram cortadas em pedaços de 10 cm² e mergulhadas por 5 segundos nos respectivos tratamentos. Após a total evaporação do solvente, estas foram transferidas uma a uma para tubos de ensaios de 15 cm de altura por 3 cm de diâmetro. Uma lagarta foi colocada em cada tubo e estes vedados com algodão. Foram realizadas cinco repetições

para cada tratamento, com seis lagartas individualizadas. A mortalidade foi avaliada após 24h. Os dados foram analisados pelo modelo Probit através do software Polo-PC para a determinação dos valores das CL₅₀, com intervalos de confiança a 95%.

Toxicidade Via Contato Tópico. A metodologia usada para avaliar a toxicidade via contato tópico foi adaptada de Hummelburnner & Isman (2001). No teste foram utilizadas lagartas de terceiro instar (10 dias de vida). Os tratamentos foram preparados diluindo-se os óleos essenciais das folhas e botões florais de *S. aromaticum*, o composto eugenol e os controles positivos (Azamax e Decis 25 EC) em álcool p.a. Na testemunha foi utilizado apenas álcool. O bioensaio consistiu na aplicação de 1,0 µL de cada tratamento na parte protorácica do inseto, utilizando-se uma microseringa Hamilton. As lagartas foram individualizadas em tubos de ensaios de 15 cm de altura por 3 cm de diâmetro contendo a mesma dieta artificial da criação de manutenção. Foram realizadas 5 repetições para cada tratamento, sendo seis lagartas por repetição. Avaliou-se a toxicidade aguda do óleo essencial, pela contagem de lagartas mortas após 48, 72 e 96 h. Os dados foram analisados pelo modelo Probit através do software Polo-PC para a determinação dos valores das DL₅₀, com intervalos de confiança a 95%.

Atividade Ovicida. A metodologia foi adaptada de Tavares e colaboradores (2010). Ovos de *S. frugiperda* com até 48 h de idade foram delicadamente separados e aderidos com água em pedaços de papel (15 x 5 cm) em forma de cartela. Os tratamentos foram preparados diluindo-se os óleos essenciais de folhas e botões florais de *S. aromaticum*, o composto eugenol e os controles positivos (Azamax e Decis 25 EC) em álcool p.a. A testemunha recebeu apenas álcool. As cartelas de ovos foram então mergulhadas por 5 segundos nos tratamentos e colocadas sobre superfície por 10 minutos, para evaporação do solvente. Foram realizadas 4 repetições com 20 ovos cada. As cartelas foram então acondicionadas em placas de Petri (12 x 1,5 cm). A mortalidade dos ovos (subtração do número total de ovos pelo número de lagartas que eclodiram) foi avaliada diariamente por cinco

dias. Os dados foram analisados pelo modelo Probit através do software Polo-PC para a determinação dos valores das CL₅₀, com intervalos de confiança a 95%.

Deterrência Alimentar. Para avaliar a deterrência alimentar foi realizado teste de preferência, em condições de dupla escolha (tratamento x controle), utilizando-se como tratamentos as CL₃₀ dos óleos essenciais, o composto e dos controles positivos (Azamax e Decis 25 EC) obtidas no teste residual. As folhas de milho foram cortadas em discos foliares com área de cerca de 6,15 cm² (vazador de 2,8 cm de diâmetro). Como arenas, foram utilizadas placas de Petri (15 cm de diâmetro), com fundo coberto por papel umedecido. Cada placa foi dividida em quatro quadrantes: em dois deles foram colocados dois discos de folhas (opostos) com os tratamentos e nos outros dois quadrantes foram colocados dois discos tratados apenas com álcool (testemunha). No centro de cada placa foi liberada uma lagarta de terceiro ínstar de *S. frugiperda*, e após 24 h foi determinada a área restante dos discos foliares, por meio de um medidor da área foliar (Li-Cor, modelo LI-3000A). A área consumida foi calculada pela diferença entre a área fornecida e a área restante. Foram realizados bioensaios independentes para cada um dos tratamentos sempre em comparação com o controle, utilizando-se 20 repetições para cada tratamento. Em cada bioensaio foi mantida uma alíquota, medindo-se 10 discos foliares inteiros e usando-se a média das 10 medidas como área fornecida.

A comparação da área consumida entre os diferentes tratamentos foi feita por meio de um índice de preferência, adaptado de Kogan & Goeden (1970):

$$IP = (2 \times T)/(C + T)$$

onde: IP = índice de preferência; T = área consumida no disco de folha tratado; C = área consumida no disco de folha controle.

Para a interpretação dos resultados, foi determinado o Intervalo de Classificação (IClass) para as médias de tratamentos, com base no IP e desvio padrão, pela fórmula:

$$I_{Class} = 1 \pm t(n-1; \alpha=0,05) \times DP/\sqrt{n},$$

onde t = valor de "t" tabelado; DP = desvio padrão; n = número de repetições. Os tratamentos foram considerados quando o valor do IP ficou compreendido dentro do IClass; fagodeterrente quando o valor do IP for inferior ao menor valor obtido para o IClass, e fagoestimulante quando o IP for superior ao maior IClass calculado. Deste modo:

IP=1 ± IClass, indica efeito neutro;

IP>1 ± IClass, indica efeito fagoestimulante;

IP<1 ± IClass, indica efeito fagodeterrente.

Resultados e Discussão

Toxicidade Residual. A praga mostrou-se mais suscetível ao óleo essencial dos botões florais (CL₅₀= 16,88 mg/mL) de cravo-da-india que ao das folhas (CL₅₀= 25,03 mg/mL) (Tabela 1). O constituinte eugenol apresentou mesmo nível de toxicidade que os óleos. O controle positivo Azamax (CL₅₀= 34,53 mg/mL) foi menos ativo que os óleos e o eugenol. O inseticida sintético Decis 25 EC foi o mais tóxico à lagarta-do-cartucho.

Affonso e colaboradores (2012) apresentaram a composição química de diferentes partes da planta *S. aromaticum* onde relataram que a concentração de fenilpropanóides, em especial o eugenol varia de acordo com a porção do vegetal analisada. Deste modo, o óleo essencial extraído das folhas frescas de cravo-da-índia apresentou menor quantidade de eugenol e dois constituintes não identificados nos óleos extraídos dos botões florais (1,44% de α -Humuleno e 0,47% de óxido de cariofileno). Além disso, 99,36% do óleo essencial dos botões florais é composto por fenilpropanóides, 0,64% por sesquiterpenos não oxigenados e não há sesquiterpenos oxigenados; enquanto que no óleo essencial extraído das folhas foram identificados 84,36%, 12,22%, 0,47% de fenilpropanóides, sesquiterpenos não oxigenados e sesquiterpenos oxigenados, respectivamente. A

razão da maior toxicidade apresentada pelos óleos dos botões florais certamente se encontra nestas diferenças na composição química. É provável que a maior quantidade de eugenol ou a presença de algum constituinte presente no óleo das folhas que esteja causando antagonismo na mistura dos constituintes seja responsável pela redução da atividade biológica via contato residual.

De toda forma a toxicidade dos óleos de *Syzygium* e de seu constituinte eugenol foi consideravelmente maior que aquela apresentada pelo inseticida comercial botânico Azamax, o que indica grande potencial no controle de *S. frugiperda* e de uso na formulação de novos inseticidas.

Toxicidade via Contato Tópico. A susceptibilidade da praga a todos os tratamentos não variou com o tempo (48,72 e 96h). Diferente do observado no teste de contato residual, em todos os tempos testados o óleo essencial das folhas de cravo-da-índia foi mais tóxico (menor CL₅₀) à praga que o dos botões florais (Tabela 2). O eugenol apresentou toxicidade estatisticamente igual à apresentada pelos óleos. Somente o óleo essencial das folhas apresentou mesma atividade biológica que a causada pelo Azamax. O Decis 25 EC foi o tratamento mais tóxico à lagarta-do-cartucho.

Diferente do teste residual, em que os tratamentos entraram em contato com os insetos predominantemente via alimentação, no teste de contato tópico os tratamentos entram em contato primordialmente através da penetração na cutícula do pronoto da praga. Essa diferença na toxicidade apresentada pelos óleos essenciais pode estar relacionada a alta polaridade de constituintes presentes apenas no óleo essencial extraído das folhas de *S. aromaticum* tais como o α -humuleno (Affonso *et al.* 2012, Migliato *et al.* 2011), embora o eugenol presente em ambos os óleos e testado isoladamente seja também polar é provável que o sinergismo com estes constituintes (eugenol mais α -humuleno, por exemplo) tenha ocasionado uma intensificação na penetração na cutícula pelo óleo das folhas. O caráter lipofílico de alguns inseticidas, associado à espessura e composição lipídica da cutícula dos insetos, é responsável pela maior penetração do produto na cutícula e sua translocação até o sítio alvo (Leite *et al.* 1998). De mesma forma, compostos

lipofílicos, dada a sua semelhança com a cutícula, geralmente penetram em maiores taxas no corpo do inseto.

Atividade Ovicida. Os óleos essenciais de cravo-da-índia (botões), o eugenol e o controle positivo Azamax apresentaram mesmo nível de toxicidade (CL_{50}) sobre os ovos de *S. frugiperda*. O inseticida sintético Decis 25 EC apresentou maior potencial ovicida dentre os tratamentos (Tabela 3).

A atividade ovicida de *S. aromaticum* já foi relatada para pragas de importância médica tais como *Aedes aegypti*, *Anopheles dirus* e *Culex quinquefasciatus* (Siriporn & Mayura 2012). De forma similar, a atividade biológica sobre ovos de insetos do eugenol foi observada in vitro sobre *Haemonchus contortus* (Strongylida: Trichostrongylidae) sendo obtida eficácia acima de 50% na concentração de 0,0625% (Pessoa *et al.* 2002). Esta atividade normalmente está relacionada ao bloqueio do processo de incubação e ruptura do córion dos ovos dos insetos (Moreira *et al.* 2007). Além disso já foram relatadas atividades de deterrência na oviposição sobre *A. gemmatalis* (Ribeiro *et al.* 2015) e *S. littoralis* (Pavela 2005). A atividade ovicida da azadiractina, princípio ativo do Azamax já foi descrita por Santos e colaboradores (2012).

Deterrência Alimentar. Apenas o óleo extraído das folhas e o controle positivo Decis 25 EC causaram deterrência alimentar sobre a lagarta-do-cartucho. Os demais tratamentos foram neutros em relação alimentação das lagartas, não a inibindo ou estimulando (Tabela 4).

Uma vez que o eugenol e o óleos essencial dos botões florais (Affonso *et al.* 2012), não inibiram a alimentação das lagartas de *S. frugiperda*, pode-se inferir que os sítios fagodeterrentes específicos devam ser estimulados, não pelo eugenol, composto majoritário, mas por alguns dos constituintes minoritários presentes no óleo das folhas, mas ausentes no dos botões, tais como α -Humuleno e o óxido de cariofileno.

Agradecimentos

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) e à Fundação de Amparo à Ciência e Tecnologia do Estado de Pernambuco – Facepe, pela concessão de bolsa de Pós-Graduação (IBPG-0667-5.01/11), e ao CNPQ pela concessão de bolsa de produtividade (proc . 312277/2013-0) e apoio financeiro (proc 477778/2013-5).

Literatura Citada

- Abo-El-Saad, M.M., A.M.Al. Ajlan, M.A. Al-Eid & I.A. Bou-Khowh. 2011.** Repellent and fumigant effects of essential oil from clove buds *Syzygium aromaticum* L. against *Tribolium castaneum* (Herbest) (Coleoptera: Tenebrionidae). *J. Agr. Sci. Tech.* 1:613-620.
- Affonso, R.S., M.N. Rennó, G.B.C.A Slana & T.C.C. França. 2012.** Aspectos químicos e biológicos do óleo essencial de cravo da Índia. *Rev. Virtual Quim.* 4: 146-161.
- Borgoni, P.C. & J.D. Vendramim. 2005.** Efeito subletal de extratos aquosos de *Trichilia* spp. sobre o desenvolvimento de *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith) (Lepidoptera: Noctuidae) em milho. *Neotrop. Entomol.* 34: 311-317.
- Burton, R.L. & W.D. Perkins. 1972.** A new laboratory diet for the corn earworm and the fall armyworm. *J. Econ. Entomol.* 65: 385-386.
- Carvalho, A.O.R. 1982.** Pragas e seu controle, p.217-246. In: IAPAR. O milho no Paraná. Londrina. (Circular 29).
- Cruz, G.S., V. Wanderley-Tiexeira, J.V. Oliveira, A.A. Correia, M.O. Breda, T.J.S. Alves, F.M. Cunha, A.A.C. Teixeira, K.A. Dutra & D.M.A.F. Navarro. 2014.** Bioactivity of *Piper hispidinervum* (Piperales: Piperaceae) and *Syzygium aromaticum* (Myrtales: Myrtaceae) oils, with or without formulated Bt on the biology and immunology of *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae). *J. Econ. Entomol.* 107: 144-153.
- Haddi, K., E.E. Oliveira, D.C. Guedes, N.N. Miranda & L.R.A. Faroni. 2015.** Sublethal exposure to clove and cinnamon essential oils induces hormetic-like responses and disturbs behavioral and respiratory responses in *Sitophilus zeamais* (Coleoptera: Curculionidae). *J. Econ. Entomol.* 108: 2815-22.
- Jun, H., C. Byeoung-Ryeol, L. Sang-Gyeu, K. Soon Il & A. Young-Joon. 2010.** Toxicity of plant essential oils to acaricide-susceptible and resistant *Tetranychus urticae* (Acari: Tetranychidae) and *Neoseiulus californicus* (Acari: Phytoseiidae). *J. Econ. Entomol.* 103: 1293-1298.

- Hummelbrunner, L.A. & M.B. Isman. 2001.** Acute, sublethal, antifeedant, and synergistic effects of monoterpenoid essential oil compounds on the tobacco cutworm, *Spodoptera litura* (Lepidoptera: Noctuidae). J. Agric. Food Chem. 49: 715-720.
- Jiang, Z.L., Y. Akhtar, X. Zhang, R. Bradbury & M.B. Isman. 2012.** Insecticidal and feeding deterrent activities of essential oils in the cabbage looper, *Trichoplusia ni* (Lepidoptera: Noctuidae). J. Appl. Entomol. 136: 191-202.
- Soon-II, K., R., Jung-Yeon, K. Do-Hyoung, L. Han-Seung & A. Young-Joon. 2003.** Insecticidal activities of aromatic plant extracts and essential oils against *Sitophilus oryzae* and *Callosobruchus chinensis*. J. Stored Prod. Res. 39: 293-303.
- Kogan, M. & R.D. Goeden. 1970.** The host-plant range of *Lema trilineata daturaphila* (Coleoptera: Chrysomelidae). Ann. Entomol. Soc. Am. 63: 1175-1180.
- Leite, G.L.D., M.C. Picanço, R.N.C. Guedes & M.R. Gusmão. 1998.** Selectivity of insecticides with and without mineral oil to *Brachygastra lecheguana* (Hymenoptera: Vespidae): a predator of *Tuta absoluta* (Lepidoptera: Gelechiidae). Ceiba 39: 3-6.
- Machial, C.M., I. Shikano., M. Smirle., R. Bradbury & M.B. Isman. 2010.** Evaluation of the toxicity of 17 essential oils against *Choristoneura rosaceana* (Lepidoptera: Tortricidae) and *Trichoplusia ni* (Lepidoptera: Noctuidae). Pest Manag. Sci. 66: 1116-1121.
- Maggi, M.D., S.R. Ruffinengo, L.B. Gende, E.G. Sarlo, M.J. Eguaras, P.N. Bailac & M.I. Ponzi. 2010.** Laboratory evaluations of *Syzygium aromaticum* (L.) Merr. et Perry essential oil against *Varroa destructor*. J. Essent Oil Res. 22:119-122.
- Migliato, K.F., M.A. Corrêa, H.R.N. Salgado, J.O. Tognolli, L.V.S. Sacramento, J.C.P. de Mello, M.J.S.M. Giannini, A.M.F. Almeida & A.C. Pizzolitto. 2011.** Factorial design of the optimization extraction of *Syzygium cumini* (L.) Skeels fruits. Quím. Nova 34: 695-699.
- Mishra, B.B., S.P. Tripathi & C.P.M. Tripathi. 2013.** Bioactivity of two plant derived essential oils against the rice weevils *Sitophilus oryzae* (L.) (Coleoptera: Curculionidae). Proc. Natl. Acad. Sci. India 83:171-175.
- Moreira M.F., A.S. Santos, H.R. Marotta, J.F. Mansur, I.B. Ramos, E.A. Machado, G.H. Souza, M.N. Eberlin, C.R. Kaiser, K.J. Kramer, S. Muthukrishnan & A.M. Vasconcellos. 2007.** A chitin-like component in *Aedes aegypti* eggs hells, eggs and ovaries. Insect Biochem. Mol. Biol. 37: 1249–1261.
- Nascimento, A.F., C.A.G. Camara, M.M. Moraes & C.S. Ramos. 2012.** Essential oil composition and acaricidal activity of *Schinus terebinthifolius* from Atlantic Forest of Pernambuco, Brazil against *Tetranychus urticae*. Nat. Prod. Commun. 7: 129-132.
- Néri, D.K.P., J.C. Moraes & M.A. Gavino. 2005.** Interação silício com inseticida regulador de crescimento no manejo da lagarta-do-cartucho *Spodoptera frugiperda* (J. E. Smith, 1797) (Lepidoptera: Noctuidae) em milho. Ciênc. Agrotec. 29:1167-1174.

- Oliveira, M.S.S., A.R. Roel, E.J. Arruda & A.S. Marques. 2007.** Eficiência de produtos vegetais no controle da lagarta-do-cartucho-do-milho *Spodoptera frugiperda* (J.E.Smith, 1797) (Lepidoptera: Noctuidae). Ciênc. Agrotec. 31:326-331.
- Il-Kwon, P., C., Kwang-Sik, K. Do-Hyung, C. In-Ho, K. Lee-Sun, B, Won-Chull, C. Joon-Weon & S. Sang-Chul. 2006.** Fumigant activity of plant essential oils and components from horseradish (*Armoracia rusticana*), anise (*Pimpinella anisum*) and garlic (*Allium sativum*) oils against *Lycoriella ingenua* (Diptera: Sciaridae). Pest Manag. Sci. 62:723-728.
- Pavela, R. 2005.** Insecticidal activity of some essential oils against larvae of *Spodoptera littoralis*. Fitoterapia 76: 691-696.
- Pessoa, L.M., S.M. Morais, C.M.L. Bevilaqua & J.H.S. Luciano. 2002.** Anthelmintic activity of essential oil of *Ocimum gratissimum* Linn. and eugenol against *Haemonchus contortus*. Vet. Parasitol. 109: 59-63.
- Purhematy, A., K. Ahmadi & M. Moshrefi. 2013.** Lethal efficacy of seven plant essential oils against confused flour beetle adults, *Tribolium confusum* Jacquelin du Val. ACS Natl. Meet. Exp.X: 8-12.
- Ribeiro, R.C., T.V. Zanuncio, F.S. Ramalho, C.A.D. Silva, J.E. Serrão & J.C. Zanuncio. 2015.** Feeding and oviposition of *Anticarsia gemmatalis* (Lepidoptera: Noctuidae) with sublethal concentrations of ten condiments essential oils. Ind. Crop Prod. 74: 139-143.
- Li-rong, S., L., Hong-yan, Z., Yan-gang, G., Song & L. Yong-gen. 2007.** Ovicidal activity of nine essential oils against *Chrysomya megacephala* in bacon and kipper. Yingyong Shengtai Xuebao. 18: 2343-2346.
- Siriporn P. & S. Mayura. 2012.** The effects of herbal essential oils on the oviposition-deterrent and ovicidal activities of *Aedes aegypti* (Linn.), *Anopheles dirus* (Peyton and Harrison) and *Culex quinquefasciatus* (Say). Trop. Biomed. 29:138-50.
- Su, X., Z. Huo-Qing, F. Zhong-Hua & H. Fu-Liang. 2012.** Effectiveness of herbal essential oils as fumigants to control *Varroa destructor* in laboratory assays. Entomol. Knowledg. 49: 1189-1195.
- Tavares W.S., I. Cruz, F.G. Fonseca, N.L. Gouveia, J.E. Serrão, J.C. Zanuncio. 2010.** Deleterious activity of natural products on postures of *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae) and *Diatraea saccharalis* (Lepidoptera: Pyralidae). Z. Naturforsch. 65: 412-418.
- Viteri, J., O. Luis, L.R.A. Faroni, E.E. Oliveira, M.A. Pimentel & G.N. Silva. 2014.** Potential use of clove and cinnamon essential oils to control the bean weevil, *Acanthoscelides obtectus* Say, in small storage units. Ind. Crop Prod. 56: 27-34.

Tabela1. Concentrações letais (CL₅₀), grau de liberdade (G.L.), qui-quadrado (χ^2), curvas de concentração-mortalidade de óleos de *Syzygium*, do constituinte eugenol e dos controles positivos Azamax e Decis 25 EC sobre lagartas de *Spodoptera frugiperda* de terceiro instar via residual.

Tratamento	CL ₅₀ (IC 95%) (mg/mL)	CL ₉₀ (IC 95%) (mg/mL)	G.L	χ^2	Equação
<i>S. aromaticum</i> ¹	25,03 _(21,34-28,61)	52,40 _(43,49-71,65)	3	3,17	Y=3,99 _{LogX} -5,59
<i>S. aromaticum</i> ²	16,88 _(14,63-19,62)	37,46 _(29,69-56,52)	3	4,84	Y=3,70 _{LogX} -4,54
Eugenol	19,17 _(16,95-21,99)	37,28 _(30,56-51,91)	3	0,84	Y=4,44 _{LogX} -5,69
Azamax	34,53 _(30,07-39,90)	73,80 _(59,32-107,50)	3	0,79	Y=3,39 _{LogX} -5,98
Decis 25 EC	0,30 _(0,23-0,38)	1,09 _(0,78-1,85)	3	1,43	Y=2,26 _{LogX} +1,20

¹Óleo extraído de folhas; ²Óleo extraído de botões.

Tabela 2. Tempos, doses letais (DL₅₀), grau de liberdade (G.L.), qui-quadrado (χ^2), curvas de concentração-mortalidade de óleos de *Syzygium*, do constituinte eugenol e dos controles positivos Azamax e Decis 25 EC sobre lagartas de *Spodoptera frugiperda* de terceiro instar via

Tratamento	T	DL ₅₀ (IC 95%) ($\mu\text{g/lagarta}$)	DL ₉₀ (IC 95%) ($\mu\text{g/lagarta}$)	G.L	χ^2	Equação
<i>Syzygium aromaticum</i> ¹	48h	127,88 _(73,65-221,01)	319,36 _(193,22-1514)	3	6,46	Y=3,22 _{LogX} -6,79
	72h	104,67 _(54,87-186,75)	281,36 _(164,46-1649)	3	6,83	Y=2,98 _{LogX} -6,03
	96h	98,14 _(47,09-183,44)	258,44 _(148,74-1979)	3	7,75	Y=3,05 _{LogX} -6,07
<i>Syzygium aromaticum</i> ²	48h	543,83 _(442,33-715,04)	1664 ₍₁₁₃₃₋₃₃₂₇₎	3	1,61	Y=2,64 _{LogX} -7,22
	72h	432,18 _(358,70-539,81)	1211 _(875,91-2119)	3	2,41	Y=2,87 _{LogX} -7,55
	96h	395,07 _(314,73-516,66)	1485 _(970,77-3354)	3	5,62	Y=2,23 _{LogX} -5,79
Eugenol	48h	350,75 _(178,96-659,36)	869,35 _(518,43-13103)	3	7,77	Y=3,25 _{LogX} -8,27
	72h	325,86 _(162,83-577,08)	862,81 _(512,78-10491)	3	6,94	Y=3,03 _{LogX} -7,62
	96h	264,67 _(164,61-413,81)	842,13 _(507,71-3190)	4	8,11	Y=2,55 _{LogX} -6,18
Azamax	48h	68,67 _(48,41-98,49)	565,23 _(326,35-1355)	4	5,40	Y=1,40 _{LogX} -2,57
	72h	46,94 _(32,87-65,98)	365,39 _(221,87-790,83)	4	6,79	Y=1,44 _{LogX} -2,40
	96h	38,20 _(26,82-52,86)	264,48 _(168,20-522,74)	4	3,55	Y=1,53 _{LogX} -2,41
Decis 25 EC	48h	0,12 _(0,01-0,29)	5,87 _(2,55-59,08)	4	1,55	Y=0,77 _{LogX} +0,69
	72h	0,12 _(0,01-0,25)	1,97 _(1,08-10,15)	3	1,92	Y=1,05 _{LogX} +0,97
	96h	0,11 _(0,01-0,21)	1,23 _(0,74-3,70)	3	2,67	Y=1,21 _{LogX} +1,17

contato tópico.

¹Óleo extraído de folhas; ²Óleo extraído de botões

Tabela 3. Concentrações letais (CL₅₀), grau de liberdade (G.L.), qui-quadrado (χ^2), curvas de concentração-mortalidade de óleos de *Syzygium*, do constituinte eugenol e dos controles positivos Azamax e Decis 25 EC sobre ovos de *Spodoptera frugiperda* com até 48h após postura.

Tratamento	CL ₅₀ (IC 95%) (mg/mL)	CL ₉₀ (IC 95%) (mg/mL)	G.L.	χ^2	Equação
<i>Syzygium aromaticum</i> ¹	7,84(6,01-9,80)	34,77(24,59-61,91)	3	5,87	Y=1,98LogX-1,77
<i>Syzygium aromaticum</i> ²	10,47(7,94-13,49)	69,73(42,85-170,55)	4	6,48	Y=1,56LogX-1,59
Eugenol	19,71(11,70-112,07)	6,47(3,75-10,49)	3	6,35	Y=2,65LogX-2,15
Azamax	7,70 (0,84-21,56)	84,97(27,34-156,99)	3	7,28	Y=1,23LogX-1,09
Decis	0,38(0,32-0,47)	1,28(0,96-1,97)	3	2,76	Y=2,42LogX-1,00

¹Óleo extraído de folhas; ²Óleo extraído de botões.

Tabela 4 - Área foliar média consumida e preferência alimentar de lagartas de terceiro ínstar de *Spodoptera frugiperda*, 24 h após liberação em arenas com chance de escolha entre discos foliares tratados com óleos essenciais das folhas e botões florais de *Syzygium aromaticum*, o constituinte principal eugenol e controles positivos Azamax e Decis 25 EC e não tratados.

Tratamento (CL ₃₀ Residual)	Área foliar consumida (\pm EP)		IP ¹ \pm EP	1 \pm IClass ²	Classificação
	Tratamento	Controle			
<i>Syzygium aromaticum</i> ³	1,36 (\pm 0,47)	2,86 (\pm 0,26)	0,63 (\pm 0,11)	1 \pm 0,23	Fagodeterrente
<i>Syzygium. aromaticum</i> ⁴	2,29 (\pm 0,35)	2,35 (\pm 0,45)	0,99 (\pm 0,17)	1 \pm 0,18	Neutro
Eugenol	2,91 (\pm 0,52)	2,07 (\pm 0,66)	1,18 (\pm 0,08)	1 \pm 0,25	Neutro
Azamax	2,79(\pm 0,27)	1,77 (\pm 0,33)	1,21(\pm 0,14)	1 \pm 0,12	Neutro
Decis	0,50 (\pm 0,26)	3,51 (\pm 0,28)	0,25(\pm 0,13)	1 \pm 0,11	Fagodeterrente

¹Índice de Preferência; ²Intervalo de Classificação; ³Óleo extraído de folhas; ⁴Óleo extraído de botões.

CAPÍTULO 5

ATIVIDADE BIOLÓGICA DOS ÓLEOS ESSENCIAIS DAS FOLHAS DE *Eucalyptus citriodora*, *Eucalyptus globulus* E DO CONSTITUINTE MAJORITÁRIO SOBRE *Spodoptera frugiperda* (J.E. SMITH) (LEPIDOPTERA: NOCTUIDAE)¹

ALINE F. NASCIMENTO², CLAUDIO A. G. CAMARA³ E FLÁVIA SOUZA BORN⁴

²Programa de Pós-Graduação em Entomologia Agrícola, Departamento de Agronomia – Universidade Federal Rural de Pernambuco, Rua Dom Manoel de Medeiros, s/n, Dois Irmãos, 52171-900 Recife, PE, Brasil.

³Programa de Pós-Graduação em Química, Departamento de Química Universidade Federal Rural de Pernambuco, Rua Dom Manoel de Medeiros, s/n, Dois Irmãos, 52171-900 Recife, PE, Brasil.

⁴Instituto Agrônomo de Pernambuco – IPA, Av. General San Martin, 1371, Bongi - Recife/PE CEP: 50761-000

¹Nascimento, A.F., C.A.G. Camara & F.S. Born. Atividade biológica dos óleos essenciais das folhas de *Eucalyptus citriodora*, *Eucalyptus globulus* e do constituinte majoritário sobre *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith) (Lepidoptera: Noctuidae). A ser submetido a *Acta Scientiarum. Agronomy*.

RESUMO – Este trabalho teve por objetivo investigar a ação inseticida de óleos essenciais das folhas de *Eucalyptus citriodora* Hook e *Eucalyptus globulus* Labill, bem como a do constituinte s-citronellal e dos controles positivos Azamax e Decis 25 EC sobre *Spodoptera frugiperda*. Em relação a toxicidade via residual, não houve diferença estatística entre as concentrações letais (CL₅₀) do óleo de *E. citriodora* e o constituinte S-citronellal. Apenas o *E. globulus* não alcançou mesmo nível de toxicidade que o controle positivo Azamax. No teste de toxicidade tópica, não houve aumento da toxicidade com o passar do tempo (48, 72, 96h) em nenhum dos tratamentos. Nas primeiras 48 h a toxicidade dos óleos de *Eucalyptus* e os S-citronellal não diferiram estatisticamente (DL₅₀) e, com exceção do constituinte, não chegaram a atingir o mesmo nível de toxicidade do controle positivo Azamax. No teste de atividade ovicida, a toxicidade causada pelo óleo *E. citriodora* e pelo constituinte S-citronellal foi a mesma que a apresentada pelo controle positivo, o inseticida botânico Azamax, entretanto, o óleo de *E. citriodora* foi estatisticamente (CL₅₀) menos tóxico que o constituinte. Além disso, o óleo essencial de *E. globulus* apresentou toxicidade bastante reduzida em relação aos demais tratamentos. Todos os tratamentos testados foram neutros em relação alimentação da lagarta-do-cartucho, ou seja, nem inibiram, nem estimularam; com exceção do controle positivo Decis 25 EC que foi fagodeterrente.

PALAVRAS-CHAVE: Lagarta-do-cartucho, *Eucalyptus* sp., ação residual, contato tópico, atividade ovicida, deterrência alimentar

BIOLOGICAL ACTIVITY OF ESSENTIAL OILS OF LEAVES OF *Eucalyptus citriodora*, *E. globulus* AND THE MAJOR CONSTITUENT ON *Spodoptera frugiperda* (J.E. SMITH)
(LEPIDOPTERA: NOCTUIDAE)

ABSTRACT – This study aimed to investigate the insecticidal activity of essential oils from the leaves of the *Eucalyptus citriodora* and *E. globulus*, as well as the s-citronellal constituent and positive controls Azamax and Decis 25 EC on *Spodoptera frugiperda*. In relation the way residual toxicity, there was no statistical difference between the lethal concentrations (LC₅₀) of from *Eucalyptus* oil and the S-citronellal constituent. Only the *E. globulus* has not reached the same level of toxicity that Azamax positive control. In the topical toxicity test, there was no increase in toxicity over time (48, 72, 96h) in the treatments. The first 48 hours the toxicity of *Eucalyptus* oil and the S-citronellal were not statistically different (LD₅₀) and, except for the constituent, they have not reached the same level of Azamax positive control of toxicity. In ovicidal activity test, the toxicity caused by *E. citriodora* oil and the S-citronellal constituent was the same as that shown by the positive control, the botanical insecticide Azamax, however, the *E. citriodora* oil was statistically (LC₅₀) less toxic the constituent. All treatments were neutral about feeding armyworm, ie neither inhibited nor stimulated; except positive control of Decis 25 EC which was fagodeterrente.

KEY WORDS: Armyworm, *Eucalyptus* sp., residual action, topical contact, ovicidal activity, feeding deterrence

Introdução

Na cultura do milho, a lagarta de *Spodoptera frugiperda* tem o cartucho como seu nicho preferido (Cruz & Turpin 1983, Cruz & Monteiro 2004). No algodoeiro, as lagartas alimentam-se de folhas, de botões florais e, principalmente, de maçãs em formação (Luttrell & Mink 1999). No milheto, o hábito alimentar é similar ao observado no milho, enquanto que em soja, as lagartas alimentam-se inicialmente das folhas, passando depois a consumir também vagens na fase inicial de formação (Barros *et al.* 2010). O controle normalmente é realizado via inseticidas sintéticos, entretando, as aplicações freqüentemente são tardias e/ou acima do nível de controle (Grützmacher *et al.* 2000), os quais nem sempre são eficientes e podem acarretar diversos problemas, tais como: resíduos em alimentos, eliminação de inimigos naturais, intoxicação dos aplicadores, seleção de populações de pragas resistentes aos inseticidas, entre outros efeitos diretos e indiretos (Diez – Rodriguez & Omoto 2001). A busca de outros métodos de controle inclui a utilização de produtos menos agressivos ao ambiente como é o caso dos inseticidas de origem vegetal (Vendramim 2000).

Óleos essenciais são obtidos, sobretudo, a partir da destilação por arraste com vapor d'água. De forma geral, são misturas complexas de substâncias voláteis lipofílicas geralmente odoríferas e líquidas. Sua principal característica é a volatilidade, diferindo-se, assim, dos óleos fixos, mistura de substâncias lipídicas, obtidos geralmente de sementes (Andrade *et al.* 2010). Possuem em sua composição misturas complexas de fenilpropanóides ou terpenóides, sendo os últimos mais frequentes. Em geral possuem um composto majoritário (Simões & Spitzer, 2002).

Pesquisas na área de fitotecnia tem relatado atividade de extratos e óleos essenciais de plantas tais como efeito fungistático, bactericida, herbicida e inseticida. No controle de pragas tem sido observados efeitos como repelência; inibição da oviposição, alimentação e crescimento; alterações do sistema hormonal, morfogenéticas, no comportamento sexual; esterilização dos adultos;

mortalidade na fase imatura ou adulta e deterrência na alimentação; dentre outros (Procópio *et al.* 2003, Akob & Ewete 2007, Kabeh & Jalingo 2007, Kagale *et al.* 2004).

Eucalyptus citriodora é uma árvore de porte médio, que apresenta cascas rosadas. No Brasil o óleo de *E. citriodora* é comercializado bruto, ou então, tendo como base o citronelal, para obter-se o citronelol, o hidroxicitronelal e o mentol. A literatura reporta sua utilização no controle de diversas pragas tais como: *Myzus persicae* e *Frankliniella schultzei* (Costa *et al.* 2015), *Tetranychus urticae* (Choi *et al.* 2004, Han *et al.* 2010, Han *et al.* 2011), *Atta sexdens rubropilosa* (Batista-Pereira *et al.* 2006), *Lycoriella ingênua* (Park *et al.* 2006), *Trialeurodes vaporariorum* (Choi *et al.* 2003), *Tribolium castaneum* (Bossou *et al.* 2015), *Callosobruchus maculatus* (Raja *et al.* 2008, Gusmao *et al.* 2013, Pandey *et al.* 2013) e *Z. subfasciatus* (Franca *et al.* 2012).

A espécie *Eucalyptus globulus* foi a primeira do gênero a ser introduzida no Brasil, em 1855, entretanto, o início da extração de óleo desta espécie ocorreu somente durante a Segunda Guerra Mundial, devido às dificuldades de importação deste tipo de óleo essencial (Braga 1971). Já foi reportado potencial da utilização deste óleo no controle de diversas pragas: *Agrotis ipsilon* (Jeyasankar 2012), *T. urticae*, e seletividade sobre seu inimigo natural, *Phytoseiulus persimilis* (Choi *et al.* 2004, Lim *et al.* 2012, Roh *et al.* 2013), *Sternechus pinguis* e *Rhyssomatus subtilis* (Zunino *et al.* 2012), *Choristoneura rosaceana* e *Trichoplusia ni* (Machial *et al.* 2010), *Aphis gossypii* (Papachristos & Stamopoulos 2004, Mareggiani *et al.* 2008) e *Trialeurodes vaporariorum* (Choi *et al.* 2003).

Deste modo, o objetivo desse trabalho foi investigar a ação inseticida de óleos essenciais das folhas de *E. citriodora* e *E. globulus*, bem como a do constituinte s-citronellal e dos controles positivos Azamax e Decis 25 EC sobre *S. frugiperda*.

Material e Métodos

Obtenção dos Óleos Essenciais. Os óleos essenciais das folhas de *Eucalyptus citriodora* e *E. globulus*, bem como a do constituinte s-citronellal, utilizados nos testes foram comprados na Ferquima Indústria e Comércio LTDA. Os inseticidas Azamax e Decis 25 EC foram comprados em lojas especializadas em produtos agropecuárias da cidade de Recife/PE.

Criação de *Spodoptera frugiperda*. A criação de *S. frugiperda* foi mantida no laboratório de Inseticidas botânicos, do departamento de Agronomia, da Universidade Federal Rural de Pernambuco (UFRPE). As lagartas foram alimentadas com dieta artificial (Burton & Perkins 1972), e os adultos receberam solução de água e mel (10%).

Cultivo das Plantas de Milho. Sementes de milho foram semeadas em vasos plásticos contendo solo, areia e húmus. Após a germinação foi realizado o desbaste, de modo arestarem de quatro a seis plantas por vaso. As plantas foram adubadas com sulfato de amônio aos 20 dias após a germinação e regadas diariamente. Para os experimentos, foram utilizadas plantas com 30-40 dias de idade.

Toxicidade Residual. A metodologia usada para avaliar a toxicidade residual foi adaptada de Borgoni & Vendramim (2005). Neste teste foram utilizadas lagartas de terceiro instar (10 dias de vida). Os tratamentos foram preparados diluindo-se os óleos essenciais, o composto e os controles positivos (Azamax e Decis 25 EC) em álcool p.a. e a testemunha apenas em álcool. As seções foliares de milho, cultivadas em estufa com aproximadamente trinta dias, foram cortadas em pedaços de 10 cm² e mergulhadas por 5 segundos nos respectivos tratamentos. Após a total evaporação do solvente, as folhas tratadas foram transferidas uma a uma para tubos de ensaios de 15 cm de altura por 3 cm de diâmetro. Uma lagarta foi colocada em cada tubo e estes vedados com algodão. Foram realizadas cinco repetições para cada tratamento (óleos de *Eucalyptus*, constituinte e controles positivos e negativo), com seis lagartas individualizadas. Foram utilizados um mínimo

de 5 concentrações por tratamento, as concentrações variaram de 0,1 a 85,95 mg/mL. A mortalidade foi avaliada após 24h. Os dados foram analisados pelo modelo Probit através do software Polo-PC para a determinação dos valores das CL₅₀, com intervalos de confiança a 95%.

Toxicidade Via Contato Tópico. A metodologia usada para avaliar a toxicidade via contato tópico foi adaptada de Hummelburnner & Isman (2001). Foram utilizadas lagartas de terceiro instar (10 dias de vida). Os tratamentos foram preparados diluindo-se os óleos essenciais de *E. globulus* e *E. citriodora*, o composto S-citronellal e os controles positivos (Azamax e Decis 25 EC) em álcool p.a. na testemunha foi utilizado apenas em álcool. O bioensaio consistiu na aplicação de 1,0 µL de cada tratamento na parte protorácica do inseto, utilizando-se uma microseringa Hamilton. As lagartas foram individualizadas em tubos de ensaios de 15 cm de altura por 3 cm de diâmetro contendo a mesma dieta artificial da criação de manutenção. Foram realizadas 5 repetições para cada tratamento, sendo seis lagartas por repetição. Avaliou-se a toxicidade aguda do óleo essencial, pela contagem de lagartas mortas após 48, 72 e 96 h, foram utilizados um mínimo de 5 doses por tratamento em cada tempo. Estas variaram de 0,18 a 375 µg/lagarta. Os dados foram analisados pelo modelo Probit através do software Polo-PC para a determinação dos valores das DL₅₀, com intervalos de confiança a 95%.

Atividade Ovicida. A metodologia foi adaptada de Tavares e colaboradores (2010). Ovos de *S. frugiperda* com até 48 h de idade foram delicadamente separados e aderidos com água em pedaços de papel (15 x 5 cm) em forma de cartela. Os tratamentos foram preparados diluindo-se os óleos essenciais de *E. citriodora* e *E. globulus*, o constituinte S-citronellal e os controles positivos Azamax e Decis 25 EC em álcool p.a., a testemunha recebeu apenas álcool. Foram utilizadas um mínimo de 5 concentrações por tratamento, estas variaram de 0,10 a 109,38 mg/mL. As cartelas de ovos foram então mergulhadas por 5 segundos nos tratamentos e colocadas sobre superfície por 10 minutos, para evaporação do solvente. Foram realizadas 4 repetições com 20 ovos cada. As cartelas

foram então acondicionadas em placas de Petri (12 x 1,5 cm). A mortalidade dos ovos (subtração do número total de ovos pelo número de lagartas que eclodiram) foi avaliada diariamente por cinco dias. Os dados foram analisados pelo modelo Probit através do software Polo-PC para a determinação dos valores das CL₅₀, com intervalos de confiança a 95%.

Deterrência Alimentar. Adeterrência alimentar foi avaliada a partir de um teste de preferência alimentar, em condições de dupla escolha (tratamento x controle), utilizando-se como tratamentos as CL₃₀ dos os óleos essenciais de *E. citriodora* e *E. glubulus*, o composto S-citronellal e dos controles positivos Azamax e Decis 25 EC obtidas no teste residual. As folhas de milho foram cortadas em discos foliares com área de cerca de 6,15 cm² (vazador de 2,8 cm de diâmetro). Como arenas, foram utilizadas placas de Petri (15 cm de diâmetro), com fundo coberto por papel umedecido. Cada placa foi dividida em quatro quadrantes: dois deles foram colocados dois discos de folhas (opostos) com os tratamentos e nos outros dois quadrantes foram colocados dois discos tratados apenas com álcool (testemunha). No centro de cada placa foi liberada uma lagarta de terceiro ínstar de *S. frugiperda*, e após 24 h foi determinada a área restante dos discos foliares, por meio de um medidor da área foliar (Li-Cor, modelo LI-3000A). A área consumida foi calculada pela diferença entre a área fornecida e a área restante. Foram realizados bioensaios independentes para cada um dos tratamentos sempre em comparação com o controle, utilizando-se 20 repetições para cada tratamento. Em cada bioensaio foi mantida uma alíquota, medindo-se 10 discos foliares inteiros e usando-se a média das 10 medidas como área fornecida.

A comparação da área consumida entre os diferentes tratamentos foi feita por meio de um índice de preferência, adaptado de Kogan & Goeden (1970):

$$IP = (2 \times T)/(C + T)$$

onde: IP = índice de preferência; T = área consumida no disco de folha tratado; C = área consumida no disco de folha controle.

Para a interpretação dos resultados, foi determinado o Intervalo de Classificação (IClass) para as médias de tratamentos, com base no IP e desvio padrão, pela fórmula:

$$\text{IClass} = 1 \pm t(n-1; \alpha=0,05) \times \text{DP}/\sqrt{n},$$

Onde t = valor de "t" tabelado; DP = desvio padrão; n = número de repetições. Os tratamentos foram considerados quando o valor do IP ficou compreendido dentro do IClass; fagodeterrente quando o valor do IP for inferior ao menor valor obtido para o IClass, e fagoestimulante quando o IP for superior ao maior IClass calculado. Deste modo:

IP=1 ± IClass, indica efeito neutro;

IP>1 ± IClass, indica efeito fagoestimulante;

IP<1 ± IClass, indica efeito fagodeterrente.

Resultados e Discussão

Toxicidade Residual. Com relação à toxicidade residual, não houve diferença estatística entre as concentrações letais (CL₅₀) do óleo de *E. citriodora* e o constituinte S-citronellal (Tabela1). Apenas o *E. globulus* não alcançou mesmo nível de toxicidade que o controle positivo Azamax. O controle positivo Decis 25 EC foi o mais tóxico à lagarta-do-cartucho.

O fato de apenas o óleo de *E. citriodora* ter alcançado mesmo nível de toxicidade do inseticida botânico utilizado como controle positivo, e do constituinte S-citronellal ter sido maior que este controle positivo, em detrimento do *E. globulus* sugere que o composto S-citronellal, presente majoritariamente em ambos os óleos, parece ser responsável pela toxicidade apresentada, entretanto, é possível que outros compostos possam apresentar uma interação antagônica com este, reduzindo sua atividade quando nos óleos essenciais em relação à sua atuação isolada (Isman *et al.* 2011).

Toxicidade via Contato Tópico. Não houve aumento da toxicidade com o passar do tempo (48, 72, 96h) em nenhum dos tratamentos. Em todos os tempos testados a toxicidade dos óleos de *Eucalyptus* não diferiram estatisticamente (DL_{50}) e não chegaram a atingir o mesmo nível de toxicidade do controle positivo Azamax (Tabela 2). Nas primeiras 48 h, o constituinte S-citronellal apresentou mesma toxicidade dos óleos, embora tenha alcançado mesma atividade biológica que o controle positivo Azamax. A partir de 72 h de aplicação dos tratamentos, o constituinte S-citronellal foi mais tóxico à lagarta-do-cartucho que os óleos essenciais. Não foi observada mortalidade na testemunha. O inseticida sintético Decis 25 EC foi o mais tóxico em todos os tempos testados.

O aumento na toxicidade aguda a partir das 72 h de aplicação do S-citronellal parece estar relacionado a maior volatilidade dos óleos essenciais, de modo que o constituinte, por ser menos volátil, permanece mais tempo sendo absorvido pela camada cuticular do inseto, chegando em maior quantidade aos sítios ativos e sendo mais letal.

Atividade ovicida. A toxicidade causada pelo óleo *E. citriodora* e pelo constituinte S-citronellal foram iguais a apresentada pelo controle positivo, o inseticida botânico Azamax, entretanto, o óleo de *E. citriodora* foi estatisticamente (CL_{50}) menos tóxico que o constituinte. Além disso, o óleo essencial de *E. globulus* apresentou toxicidade bastante reduzida em relação aos demais tratamentos (Tabela 3).

A atividade ovicida da azadiractina, princípio ativo do Azamax já foi descrita por Santos e colaboradores (2012). Embora tenha considerável atividade biológica sobre larvas, esta baixa atividade ovicida de *E. globulus* já foi relatada por Macedo e colaboradores (2009), inclusive quando comparada com outras espécies deste mesmo gênero tais como *E. citriodora* e *E. staigeriana*. A atividade ovicida normalmente está relacionada ao bloqueio do processo de incubação e a ruptura do córion dos ovos dos insetos (Moreira *et al.* 2007), deste modo é provável que o *E. globulus* não esteja conseguindo causar estes efeitos e que este fato esteja relacionado a

algum outro constituinte do óleo que não o S-citronellal, uma vez que este apresentou atividade ovicida.

Deterrência alimentar. Todos os tratamentos testados foram neutros em relação alimentação da lagarta-do-cartucho, ou seja, nem inibiram, nem estimularam; com exceção do controle positivo Decis 25 EC que foi fagodeterrente.

Os resultados do presente trabalho indicam que os óleos de *Eucalyptus* testados especialmente o constituinte S-citronellal apresentam potencial no uso de formulações de inseticidas tendo demonstrado ação residual, tópica e ovicida no controle da praga *S. frugiperda*.

Agradecimentos

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) e à Fundação de Amparo à Ciência e Tecnologia do Estado de Pernambuco – FACEPE, pela concessão de bolsa de pós graduação (IBPG-0667-5.01/11), e ao CNPQ pela concessão de bolsa de produtividade (Proc. 312277/2013-0) e apoio financeiro (Proc. 477778/2013-5).

Literatura Citada

- Akob, C.A. & F.K. Ewete. 2007.** The efficacy of ashes of four locally used plant materials against *Sitophilus zeamais* (Coleoptera: Curculionidae) in Cameroon. *Int. J. Trop. Insect Sci.* 27: 21-26.
- Barros E.M., J.B. Torres, J.R. Ruberson & M.D. Oliveira. 2010.** Development of *Spodoptera frugiperda* on different hosts and damage to reproductive structures in cotton. *Entomol. Exp. Appl.* 137: 237-245.
- Batista-Pereira, L.G., J.B. Fernandes, M.F.G.F. Silva, P.C. Vieira, O.C. Bueno & A.G. Correa. 2006.** Electrophysiological responses of *Atta sexdens rubropilosa* workers to essential oils of *Eucalyptus* and its chemical composition. *Z. Naturforsch. J. Biosc.* 61: 749-755.

- Borgoni, P.C. & J.D. Vendramim. 2005.** Efeito subletal de extratos aquosos de *Trichilia* spp. sobre o desenvolvimento de *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith) (Lepidoptera: Noctuidae) em milho. Neotrop. Entomol. 34: 311-317.
- Bossou, A.D., E. Ahoussi, E. Ruysbergh, A. An, G. Smagghe, N. Kimpe, F. Avlessi, D.C.K. Sohounhloue & S. Mangelinckx. 2015.** Characterization of volatile compounds from three *Cymbopogon* species and *Eucalyptus citriodora* from Benin and their insecticidal activities against *Tribolium castaneum*. Ind. Crop Prod. 76: 306-317.
- Braga, N.C. 1971.** Os óleos essenciais no Brasil: estudo econômico. Rio de Janeiro, Instituto de Óleos, 158p.
- Burton, R.L. & W.D. Perkins. 1972.** A new laboratory diet for the corn earworm and the fall armyworm. J. Econ. Entomol. 65: 385-386.
- Won-Il, C., L., Eun-Hee, C., Byeoung-Ryeol, P., Hyung-Man & A., Young-Joon. 2003.** Toxicity of plant essential oils to *Trialeurodes vaporariorum* (Homoptera: Aleyrodidae). J. Econ. Entomol. 96: 1479-1484.
- Won-Il, C., L. Sang-Geui, P., Hyung-Man & A., Young-Joon. 2004.** Toxicity of plant essential oils to *Tetranychus urticae* (Acari: Tetranychidae) and *Phytoseiulus persimilis* (Acari: Phytoseiidae). J. Econ. Entomol. 97:553-558.
- Coitinho, R.L.B.C, J.V. Oliveira, M.G.C. Gondim Junior & A.G.C. da Camara. 2006.** Residual effect of natural insecticides in the control of *Sitophilus zeamais* Mots. on stored corn. Caatinga 19:183-191.
- Costa, A., P.F Pinheiro, V.T. Queiroz, V.M. Rondelli, A.K. Marins, W.R. Valbon & D. Pratissoli. 2015.** Chemical composition of essential oil from *Eucalyptus citriodora* leaves and insecticidal activity against *Myzus persicae* and *Frankliniella schultzei*. J. Essent. Oil Bear. Pl. 18: 374-381.
- Cruz I. & F.T. Turpin. 1983.** Yield impact of larval infestation of the fall armyworm *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith) to mid - whorl growth stage of corn. J. Econ. Entomol. 76: 1052-1054.
- Cruz I. & M.A.R. Monteiro 2004.** Controle biológico da lagarta-do-cartucho do milho *Spodoptera frugiperda* utilizando o parasitóide de ovos *Trichogramma pretiosum*. Sete Lagoas, Embrapa Milho e Sorgo, 4p. (Comunicado Técnico 98).
- Diez-Rodriguez, G.I. & C. Omoto. 2001.** Herança da resistência de *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith) (Lepidoptera: Noctuidae) a lambda-cialotrina. Neotrop. Entomol. 30: 311-316.
- Franca, S.M., J.V. Oliveira, A.B. Esteves Filho & C.M. Oliveira. 2012.** Toxicity and repellency of essential oils to *Zabrotes subfasciatus* (Boheman) (Coleoptera, Chrysomelidae, Bruchinae) in *Phaseolus vulgaris* L. Acta Amaz. 42: 381-386.
- Grützmacher, A.D., J.F.S. Martins & U.S. Cunha. 2000.** Insetos-pragas das culturas do milho e do sorgo no agroecossistema de várzea, p. 87-101. In: J.M.B. Parfitt, (Coord.) Produção de

milho e sorgo em várzea. Pelotas, Embrapa Clima Temperado, (Embrapa Clima Temperado), 146p.

- Gusmão, N.M.S., J.V. Oliveira., Navarro, M.A.F. Daniela, K.A. Dutra, W.A. Silva & M.J.A. Wanderley. 2013.**Contact and fumigant toxicity and repellency of *Eucalyptus citriodora* Hook., *Eucalyptus staigeriana* F., *Cymbopogon winterianus* Jowitt and *Foeniculum vulgare* Mill. essential oils in the management of *Callosobruchus maculatus* (Fabr.) (Coleoptera: Chrysomelidae, Bruchinae). J. Stored Prod. Res. 54: 41-47.
- Jun, H., C., Byeoung-Ryeol, L., Sang-Gyeu, K., Soon Il & A., Young-Joon. 2010.** Toxicity of plant essential oils to acaricide-susceptible and resistant *Tetranychus urticae* (Acari: Tetranychidae) and *Neoseiulus californicus* (Acari: Phytoseiidae). J. Econ. Entomol. 103: 1293-1298.
- Jun, H., K., Soon-Il, C., Byeoung-Ryeol., L., Sang-Guei & A., Young-Joon. 2011.** Fumigant toxicity of lemon eucalyptus oil constituents to acaricide-susceptible and acaricide-resistant *Tetranychus Urticae*. Pest Manag. Sci. 67: 1583-1588.
- Hummelbrunner, L.A. & M.B. Isman. 2001.** Acute, sublethal, antifeedant, and synergistic effects of monoterpenoid essential oil compounds on the tobacco cutworm, *Spodoptera litura* (Lepidoptera: Noctuidae). J. Agric. Food Chem. 49: 715-720.
- Isman, M. B, S. Miresmailli & C. Machial. 2011.** Commercial opportunities for pesticides based on plant essential oils in agriculture, industry and consumer products. Phytochem. Rev. 10: 197-204.
- Jeyasankar, A. 2012.** Antifeedant, insecticidal and growth inhibitory activities of selected plant oils on black cutworm, *Agrotis ipsilon* (Hufnagel) (Lepidoptera: Noctuidae). Asian Pac. J. Trop. Dis. 2:347-351.
- Kabeh, J.D. & M.G.D.S.S. Jalingo. 2007.** Pesticidal effect of bitter leaf plant *Vernonia amygdalina* (Compositae) leaves and pirimiphosmethyl on larvae of *Callosobruchus maculates* (Coleoptera: Bruchidae) and *Sitophilus zeamais* (Coleoptera: Curculionidae). Int. J. Agric. Biol. 9: 452-454.
- Kagale, S., T. Marimuthu, B. Thayumanavan, R. Nandakumar & R. Samiyappan. 2004.** Antimicrobial activity and induction of systemic resistance in rice by leaf extract of *Datura metel* against *Rhizoctonia solani* and *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae*. Physiol. Mol. Pl. Pathol. 65: 91-100.
- Kogan, M. & R.D. Goeden. 1970.** The host-plant range of *Lema Trilineata daturaphila* (Coleoptera: Chrysomelidae). Ann. Entomol. Soc. Am. 63: 1175-1180.
- Lim, E., B.H. Lee & C.G. Park. 2012.** Fumigant activity of essential oils and their components from *Eucalyptus codonocarpa* and *Eucalyptus dives* against *Tetranychus urticae* (Acari: Tetranychidae) at three temperatures. J. Appl. Entomol. 136:698-703.

- Luttrell R.G. & J.S. Mink. 1999.** Damage to cotton fruiting structures by the fall armyworm, *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuide). J. Cotton Sci. 3: 35-44.
- Macedo, I.T.F, C.M.L. Bevilaqua, L.M.B. de Oliveira, A.L.F. Camurça-Vasconcelos, L.S. Vieira, F.R. Oliveira, E.M. Queiroz-Junior, B.G. Portela, R.S. Barros, A.C.S. Chagas. 2009.** Ovicidal and larvicidal activity in vitro of *Eucalyptus globulus* essential oils on *Haemonchus contortus*. Rev. Bras. Parasitol. Vet. 18: 62-66.
- Macedo, I.T.F. 2008.** Atividade anti-helmíntica de óleos essenciais de *Eucalyptus* spp sobre nematóides gastrintestinais. Dissertação de mestrado, Fortaleza, UFC, 87p.
- Machial, C.M., I. Shikano, M. Smirle, R. Bradbury & M.B. Isman. 2010.** Evaluation of the toxicity of 17 essential oils against *Choristoneura rosaceana* (Lepidoptera: Tortricidae) and *Trichoplusia ni* (Lepidoptera: Noctuidae). Pest Manag. Sci. 66:1116-1121.
- Mareggiani, G., S. Russo & M. Rocca. 2008.** *Eucalyptus globulus* (Mirtaceae) essential oil: efficacy against *Aphis gossypii* (Hemiptera: Aphididae), an agricultural pest. Rev. Latinoam. Quim. 36: 16-21.
- Matos, F.J.A. 2002.** Farmácias vivas: sistema de utilização de plantas medicinais projetado para pequenas comunidades. Fortaleza, UFC, Comunicado Técnico 11p.
- Pandey, A.K., P. Singh, U.T. Palni & N.N. Tripathi. 2013.** Bioefficacy of plant essential oils against pulse beetles *Callosobruchus* spp. (Coleoptera: Bruchidae) in pigeon pea seeds with particular reference to *Clausena pentaphylla* (Roxb.) DC. Arch. Phytopathol. Pfl. 46:1408-1416.
- Papachristos, D. P. & Stamopoulos, D. C. 2004.** Fumigant toxicity of three essential oils on the eggs of *Acanthoscelides obtectus* (Say) (Coleoptera: Bruchidae). J. Stored Prod, Res. 40:517-525.
- Il-Kwon, P., C., Kwang-Sik., K., Do-Hyung., C., In-Ho., K., Lee-Sun., B., Won-Chull., C., Joon-Weon & S., Sang-Chul. 2006.** Fumigant activity of plant essential oils and components from horseradish (*Armoracia rusticana*), anise (*Pimpinella anisum*) and garlic (*Allium sativum*) oils against *Lycoriella ingenua* (Diptera: Sciaridae). Pest Manag. Sci. 62:723-728.
- Procópio, S.O., J.D. Vendramim, J.I. Ribeiro Júnior & J.B. Santos. 2003.** Bioatividade de diversos pós de origem vegetal em relação a *Sitophilus zeamais* Mots. (Coleoptera: Curculionidae). Ciênc. Agrotec. 27: 1231-1236.
- Raja, M., William, S. John. 2008.** Impact of volatile oils of plants against the cowpea beetle *Callosobruchus maculatus* (Fab.) (Coleoptera: Bruchidae). Int. J. Int. Biol. 2: 62-64.
- Roh, H.S., B.H. Lee & C.G. Park. 2013.** Acaricidal and repellent effects of myrtacean essential oils and their major constituents against *Tetranychus urticae* (Tetranychidae). J. Asia-Pacific Entomol. 16: 245-249.

- Tavares, W.S., I. Cruz, F.G. Fonseca, N.L. Gouveia, J.E. Serrão, J.C. Zanuncio. 2010.** Deleterious activity of natural products on postures of *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae) and *Diatraea saccharalis* (Lepidoptera: Pyralidae). *Z. Naturforsch.* 65: 412–418.
- Vendramim, J.D. & E. Castiglioni. 2000.** Aleloquímicos, resistência de plantas e plantas inseticidas. Bases e técnicas do manejo de insetos. Santa Maria, UFSM/CCR/DFS, 128p.
- Zunino, M.P., V.A. Areco & J.A. Zygadlo. 2012.** Insecticidal activity of three essential oils against two new important soybean pests: *Sternechus pinguis* (Fabricius) and *Rhysomatus subtilis* Fiedler (Coleoptera: Curculionidae). *Bol. Latin. Caribe Pl. Med. Aromat.* 11: 269-277.

Tabela1. Concentrações letais (CL₅₀), grau de liberdade (G.L.), qui-quadrado (X²), curvas de concentração-mortalidade de óleos de *Eucalyptus*, do constituinte S-citronellal e dos controles positivos Azamax e Decis 25 EC sobre lagartas de *Spodoptera frugiperda* de terceiro instar via residual

Tratamento	CL ₅₀ (IC 95%) (mg/mL)	CL ₉₀ (IC 95%) (mg/mL)	G.L.	χ ²	Equação
<i>Eucalyptus citriodora</i>	53,97 _(29,00-96,37)	140,96 _(84,31-2229)	3	6,67	Y=3,07 _{LogX} -5,32
<i>Eucalyptus globulus</i>	75,65 _(67,60-89,05)	141,28 _(111,99-228,39)	3	2,47	Y=4,72 _{LogX} -8,87
S- Citronellal	46,08 _(41,06-51,01)	77,38 _(67,30-96,10)	3	3,64	Y=5,69 _{LogX} -9,47
Azamax	34,11 _(29,46-39,67)	57,62 _(48,11-77,21)	3	0,75	Y=3,69 _{LogX} -5,57
Decis 25 EC	0,31 _(0,23-0,40)	1,20 _(0,84-2,13)	3	2,55	Y=2,17 _{LogX} +1,10

Tabela 2. Tempos, doses letais (DL₅₀), grau de liberdade (G.L.), qui-quadrado (χ^2), curvas de concentração-mortalidade de óleos de *Eucalyptus*, do constituinte S-citronellal e dos controles positivos Azamax e Decis 25 EC sobre lagartas de *Spodoptera frugiperda* de terceiro instar via contato tópico.

Tratamento	T	DL ₅₀ (IC 95%) ($\mu\text{g/lagarta}$)	DL ₉₀ (IC 95%) ($\mu\text{g/lagarta}$)	G.L.	χ^2	Equação
<i>Eucalyptus citriodora</i>	48h	169,50 _(142,11-200,49)	432,67 _(343,00-615,13)	4	5,67	Y=3,15 _{LogX} -7,02
	72h	151,70 _(125,27-181,64)	428,85 _(333,52-627,40)	4	4,38	Y=2,84 _{LogX} -6,19
	96h	122,81 _(99,15-148,87)	383,14 _(294,59-568,19)	4	4,58	Y=2,59 _{LogX} -5,42
<i>Eucalyptus globulos</i>	48h	164,43 _(133,77-205,15)	479,88 _(351,49-94,79)	3	4,37	Y=2,76 _{LogX} -6,11
	72h	144,18 _(118,51-175,72)	380,04 _(291,13-572,84)	3	0,89	Y=3,05 _{LogX} -6,57
	96h	130,71 _(106,10-161,35)	379,55 _(284,00-595,92)	3	3,18	Y=2,77 _{LogX} -5,86
S-citronellal	48h	73,98 _(25,86-172,31)	354,72 _(156,62-4655)	3	6,59	Y=1,88 _{LogX} -3,52
	72h	57,80 _(40,96-79,15)	291,64 _(195,79-521,20)	3	4,96	Y=1,82 _{LogX} -3,21
	96h	38,54 _(25,24-55,77)	291,53 _(178,45-621,57)	3	4,07	Y=1,46 _{LogX} -2,31
Azamax	48h	68,90 _(48,69-98,50)	557,38 _(323,24-1325)	4	5,31	Y=1,40 _{LogX} -2,59
	72h	44,22 _(18,44-95,13)	324,00 _(136,20-3333)	4	8,79	Y=1,48 _{LogX} -2,43
	96h	38,45 _(27,10-53,06)	261,58 _(166,97-514,11)	4	3,50	Y=1,54 _{LogX} -2,44
Decis 25 EC	48h	0,13 _(0,02-0,29)	5,07 _(2,34-34,24)	4	1,55	Y=0,81 _{LogX} +0,77
	72h	0,11 _(0,01-0,22)	1,55 _(0,89-6,01)	3	1,38	Y=1,10 _{LogX} +1,07
	96h	0,11 _(0,02-0,21)	1,11 _(0,68-3,11)	3	0,53	Y=1,26 _{LogX} +1,23

Tabela 3. Concentrações letais (CL₅₀), grau de liberdade (G.L.), qui-quadrado (χ^2), curvas de concentração-mortalidade de óleos de *Eucalyptus*, do constituinte S-citronellal e dos controles positivos Azamax e Decis 25 EC sobre ovos de *Spodoptera frugiperda* com até 48h após postura.

Tratamento	CL ₅₀ (IC 95%) (mg/mL)	CL ₉₀ (IC 95%) (mg/mL)	G.L.	χ^2	Equação
<i>E. citriodora</i>	5,04 _(3,66-6,56)	28,42 _(19,45-52,01)	3	0,41	Y=1,71 _{LogX} -1,20
<i>E. globulos</i>	53,76 _(46,94-62,90)	119,80 _(95,95-166,72)	3	2,09	Y=6,68 _{LogX} -6,37
S- citronellal	2,71 _(2,02-3,51)	13,22 _(9,49-21,17)	3	4,57	Y=1,86 _{LogX} -0,81
Azamax	8,63 _(1,83-20,47)	76,43 _(28,27-135,67)	3	6,43	Y=1,35 _{LogX} -1,27
Decis	0,40 _(0,32-0,49)	1,40 _(1,03-2,25)	3	1,56	Y=2,33 _{LogX} -0,94

Tabela 4. Área foliar média consumida e preferência alimentar de lagartas de terceiro ínstar de *Spodoptera frugiperda*, 24 h após liberação em arenas com chance de escolha entre discos foliares tratados com óleos de *Eucalyptus*, com o constituinte S-citronellal e controles positivos Azamax e Decis 25 EC e não tratados.

Tratamento (CL ₃₀ Residual)	Área foliar consumida (\pm EP)		IP ¹ \pm EP	1 \pm IClass ²	Classificação
	Tratamento	Controle			
<i>Eucalyptus citriodora</i>	2,34 (\pm 0,47)	2,10 (\pm 0,63)	1,06 (\pm 0,25)	1 \pm 0,22	Neutro
<i>Eucalyptus globulus</i>	2,15 (\pm 0,55)	2,78 (\pm 0,33)	0,87 (\pm 0,07)	1 \pm 0,27	Neutro
S – citronelal	2,24 (\pm 0,28)	2,15 (\pm 0,55)	1,03 (\pm 0,07)	1 \pm 0,14	Neutro
Azamax	2,72(\pm 0,25)	1,80(\pm 0,33)	1,21(\pm 0,13)	1 \pm 0,12	Neutro
Decis	0,48 (\pm 0,27)	3,56 (\pm 0,31)	0,24 (\pm 0,14)	1 \pm 0,13	Fagodeterrente

¹ Índice de Preferência; ² Intervalo de Classificação.

CAPÍTULO 6

ATIVIDADE BIOLÓGICA DOS ÓLEOS ESSENCIAIS DAS CASCAS DE *Citrus* spp. E DE ENANTIÔMEROS DE LIMONENO SOBRE *Spodoptera frugiperda* (J.E. SMITH) (LEPIDOPTERA: NOCTUIDAE) ¹

ALINE F. NASCIMENTO², CLAUDIO A. G. CAMARA³ E FLÁVIA SOUZA BORN⁴

²Programa de Pós-Graduação em Entomologia Agrícola, Departamento de Agronomia – Universidade Federal Rural de Pernambuco, Rua Dom Manoel de Medeiros, s/n, Dois Irmãos, 52171-900 Recife, PE, Brasil.

³Programa de Pós-Graduação em Química, Departamento de Química Universidade Federal Rural de Pernambuco, Rua Dom Manoel de Medeiros, s/n, Dois Irmãos, 52171-900 Recife, PE, Brasil.

⁴Instituto Agrônomo de Pernambuco – IPA, Av. General San Martin, 1371, Bongi - Recife/PE CEP: 50761-000

¹Nascimento, A.F., Camara, C.A.G. & F.S. Born. Atividade biológica dos óleos essenciais das cascas de *Citrus* spp. e de enantiômeros de limoneno sobre *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith) (Lepidoptera: Noctuidae). A ser submetido à Acta Scientiarum. Agronomy.

RESUMO – O objetivo deste trabalho foi avaliar a atividade biológica de *Citrus aurantium* var. *amara* e var. *dulcis*, *Citrus limon*, *Citrus aurantifolia* e *Citrus reticulata*, bem como dos enantiômeros R e S-limoneno, utilizando dois controles positivos, o inseticida botânico Azamax e o inseticida sintético Decis 25 EC sobre *Spodoptera frugiperda*. No teste de contato residual, dentre os óleos essenciais e constituintes testados o único cuja concentração letal (CL₅₀) alcançou mesmo nível de toxicidade observado para o controle positivo Azamax foi o *C. aurantifolia*. O constituinte R-limoneno não causou mortalidade na praga mesmo nas maiores concentrações testadas (125 µl/mL). No teste de contato tópico, nas primeiras 48 h, o único dentre os óleos essenciais e compostos a alcançar mesmo nível de toxicidade apresentado pelo controle positivo Azamax foi o S-limoneno. Após 72 h da aplicação dos tratamentos os constituintes R e S-limoneno, bem como os óleos essenciais das espécies *C. aurantium* var. *amara* e *C. reticulata* tiveram toxicidade estatisticamente igual a apresentada pelo Azamax. Com relação a atividade ovicida, todos os óleos e compostos testados, com exceção do óleo de *C. aurantium* var. *dulcis*, atingiram mesmo nível de toxicidade que a do controle positivo Azamax. Dentre os tratamentos testados apenas os óleos essenciais das cascas de *C. aurantium* var. *amara*, *C. limon* e o controle positivo Decis 25 EC apresentaram efeito de deterrência sobre a alimentação de larvas de terceiro instar de *S. frugiperda*, todos os demais tratamentos foram neutros.

PALAVRAS-CHAVE: Lagarta-do-cartucho, *Citrus*, ação residual, contato tópico, atividade ovicida, deterrência alimentar

BIOLOGICAL ACTIVITY OF ESSENTIAL OILS OF PEEL OF *Citrus* spp. AND LIMONENE ENANTIOMERS ON *Spodoptera frugiperda* (J.E. SMITH) (LEPIDOPTERA: NOCTUIDAE)

ABSTRACT – The objective of this study was to evaluate the biological activity of *Citrus aurantium* var. *amara* e var. *dulcis*, *Citrus limon*, *Citrus aurantifolia* e *Citrus reticulata*, and the R and S-limonene enantiomers using two positive controls, botanical pesticide Azamax and synthetic insecticide Decis 25 EC on *Spodoptera frugiperda*. The residual contact test, among the essential oils and components tested the one whose lethal concentration (LC₅₀) reached the same level of toxicity observed for the positive control Azamax was *C. aurantifolia*. The R-limonene constituent caused no mortality even at the highest concentrations tested (125 µL/mL). In the topic contact test, the first 48 hours, the only one of essential oils and compounds to achieve the same level of toxicity presented by positive control Azamax was the S-limonene. After 72 hours of treatment application compounds R- and S-limonene and essential oils of *C. aurantium* var. *dulcis* and *C. reticulata* had statistically equal toxicity presented by Azamax. Among the treatments tested only the essential oils from the peel of *C. aurantium* var. *amara*, *C. limon* and the positive control Decis 25EC showed deterrence feeding effect on third instar larvae of *S. frugiperda*, all other treatments were neutral.

KEY WORDS: Armyworm, *Citrus* sp., residual action, topical contact, ovicidal activity, feeding deterrence

Introdução

A lagarta-do-cartucho, *Spodoptera frugiperda* Smith, tem mais de 60 variedades de plantas como hospedeiras, distribuídas em mais de 20 famílias botânicas (Cruz 1995). Sua ocorrência tem sido generalizada nos últimos anos logo após a emergência do milho, causando redução no número de plantas na área. Além disso, ataca e causa severos danos em outras fases de desenvolvimento da planta, inclusive durante a fase de formação da espiga e dos grãos (Cruz 1999). Apresenta ampla distribuição geográfica, ocorrendo desde a região central dos Estados Unidos até a Argentina e em algumas ilhas da Índia (Schmidt 2002). No Brasil, ocorre durante todo o ano e as perdas podem variar com a cultivar, local de semeadura e práticas agronômicas (Matos Neto *et al.* 2004, Silva *et al.* 2008). O manejo desta praga é normalmente realizado através de produtos sintéticos cuja escolha nem sempre leva em consideração o grau de seletividade aos agentes de controle biológico, além disso tem sido observado um aumento na frequência de resistência nas populações de *S. frugiperda*. Em razão destes fatores, dentre outros, vem se verificando uma crescente procura por defensivos alternativos para o efetivo controle de insetos-praga.

Uma das classes de compostos derivados de plantas que vem se destacando no controle de insetos são os óleos essenciais. São também fontes primárias de constituintes utilizados nas formulações de muitos inseticidas sintéticos, capazes de matar e causar alterações no comportamento e biologia de insetos (Isman 2000). Deste modo, nos últimos anos, como alternativa aos inseticidas sintéticos, óleos essenciais vêm sendo amplamente investigados quanto ao seu potencial contra insetos e ácaros, inclusive com avaliação direta de alguns compostos principais destes óleos (Oliveira *et al.* 2015, Camara *et al.* 2015, Alves *et al.* 2013, Araujo *et al.* 2012, Born *et al.* 2012, Nascimento *et al.* 2012).

Conhecida popularmente como laranja amarga, *Citrus aurantium* var. *amara*, é uma árvore frutífera pequena, em torno de 5 metros de altura, (Marchei *et al.* 2006), nativa do sudoeste asiático

e cultivada em pomares domésticos em todo o Brasil. A laranja doce, *C. aurantium* var. *dulcis*, é uma árvore pequena com uma casca castanho acinzentado suave e ramos que se espalham de forma regular. O fruto é um pouco mais áspero e mais escuro do que a laranja amarga, as flores são mais fortemente perfumadas e as glândulas da casca são côncavas (Lorenzi *et al.* 2006). A literatura reporta atividade inseticida do óleo essencial da espécie *C. aurantium* sobre diversos artrópodes de importância agrícola, tais como: *Tribolium castaneum* (Pugazhvendan *et al.* 2012), *Corcyra cephalonica* (Jacob *et al.* 2013), *Sitotroga cerealella*, (Ja-Eun *et al.* 2016), *Tetranychus urticae* (Choi *et al.* 2004, Araujo *et al.* 2010, Attia *et al.* 2012), *Bemisia tabaci* biotipo B (Ribeiro *et al.* 2010), *Trialeurodes vaporariorum* (Choi *et al.* 2003), *Cadra cautela*, (Sim *et al.* 2006), *Lycoriella mali* (Choi *et al.* 2006) e *Odontotermes obesus* (Singh *et al.* 2001), além disso já foi relatada atividade biológica quando diluída em dieta de *S. frugiperda* (Villafane *et al.* 2011).

O limoeiro verdadeiro, *Citrus limon*, conhecido popularmente como limão siciliano é originário da Região Sudeste da Ásia (Penidon & Silva 2007). Diversos trabalhos apontam o potencial praguicida do óleo essencial desta espécie sobre diversos artrópodes, tais como: *T. castaneum* (Abou-Taleb *et al.* 2015), *Callosobruchus* spp. (Pandey *et al.* 2013), *Z. subfasciatus* (Franca *et al.* 2012), *Ephestia kuehniella*, (Ayvaz *et al.* 2009, Karaborklu *et al.* 2011), *Anastrepha fraterculus* e *Ceratitis capitata* (Ruiz *et al.* 2014), *Sternechus pinguis* e *Rhyssomatus subtilis* (Zunino *et al.* 2012), *Aceria guerreronis* (Patnaik *et al.* 2010) e sobre *Spodoptera littoralis* (Pavela 2005).

Citrus aurantifolia é conhecida popularmente como lima ácida, lima da Pérsia, limão tahiti ou limão galego. A espécie, é nativa do sudeste da Ásia (Saunt 1990). Seus frutos são pequenos de formato oval ou esférico, superfície lisa de coloração verde-amarelada quando maduros e sabor muito ácido (Lorenzi *et al.* 2006). A literatura reporta o potencial do óleo essencial da lima ácida

sobre os mais diversos artrópodes praga: *T. castaneum* (Abou-Taleb *et al.* 2015), *T. vaporariorum* (Choi *et al.* 2003, Delkhoon *et al.* 2013), *S. littoralis* (Pavela 2005) e *T. urticae* (Choi *et al.* 2004).

Segundo Lorenzi *et al.* (2006), *Citrus reticulata* é uma árvore de pequeno porte, flores perfumadas, conhecidas pela facilidade com que sua casca é retirada e com que seus gomos se separam. Seu óleo essencial já apresentou potencial no controle de diversos grupos de pragas tais como: *T. castaneum* (Mohamed *et al.* 2008, Zia *et al.* 2013, Chen *et al.* 2014, Mobki *et al.* 2014), *Callosobruchus chinensis* (Zia *et al.* 2013), *Trogoderma granarium* (Zia *et al.* 2013), *Z. subfasciatus* (Franca *et al.* 2012), *E. kuehniella* (Mikhaiel *et al.* 2011), *S. oryzae* (Mohamed *et al.* 2008), *T. urticae* (Choi *et al.* 2004) e *T. vaporariorum*, (Choi *et al.* 2003).

Geralmente, a ação inseticida de um óleo essencial está relacionada à sua complexa composição química, dentre seus constituintes estão presentes compostos quirais. Um composto é dito quiral quando não pode ser sobreposto à sua imagem especular e possui dois enantiômeros (Substância R e substância S) (Zhao & Liu 2009). Resultados interessantes foram observados para os compostos enantiômeros, como o R e S-limoneno. Exposição desses compostos ao ácaro rajado, *T. urticae*, promoveu diferenças significativas na mudança de comportamento da praga. O R-limoneno não apresentou ação repelente e os ácaros preferiram ovipositar no disco tratado. Por outro lado, o estereoisômero, S-limoneno apresentou atividade repelente e deterrente de oviposição (Camara *et al.* 2015).

Deste modo o objetivo deste trabalho foi avaliar a atividade biológica dos óleos essenciais das cascas de *C. aurantium* var. *amara* e var. *dulcis*, *C. limon*, *C. aurantifolia* e *C. reticulata*, bem como dos enantiômeros R e S-limoneno sobre *S. frugiperda*.

Material e Métodos

Obtenção dos Óleos Essenciais. Os óleos essenciais utilizados nos testes foram comprados na Ferquima Indústria e Comércio LTDA. Os inseticidas Azamax e Decis 25 EC foram comprados em lojas especializadas em produtos agropecuárias da cidade de Recife/PE.

Criação de *Spodoptera frugiperda*. A criação de *S. frugiperda* foi mantida no laboratório de Inseticidas botânicos, do departamento de Agronomia, da Universidade Federal Rural de Pernambuco (UFRPE). As lagartas foram alimentadas com dieta artificial (Burton & Perkins 1972), e os adultos receberam solução de água e mel (10%).

Cultivo das Plantas de Milho. Sementes de milho foram semeadas em vasos plásticos contendo solo, areia e húmus. Após a germinação foi realizado o desbaste, de modo arestarem de quatro a seis plantas por vaso. As plantas foram adubadas com sulfato de amônio aos 20 dias após a germinação e regadas diariamente. Para os experimentos, foram utilizadas plantas com 30-40 dias de idade.

Toxicidade Residual. A metodologia usada para avaliar a toxicidade residual foi adaptada de Borgoni & Vendramim (2005). Neste teste foram utilizadas lagartas de terceiro instar (10 dias de vida). Os tratamentos foram preparados diluindo-se os óleos essenciais, os compostos e os controles positivos (Azamax e Decis 25 EC) em álcool p.a. e a testemunha apenas em álcool. As seções foliares de milho, cultivadas em estufa com aproximadamente trinta dias, foram cortadas em pedaços de 10 cm² e mergulhadas por 5 segundos nos respectivos tratamentos. Após a total evaporação do solvente, estas foram transferidas uma a uma para tubos de ensaios de 15 cm de altura por 3 cm de diâmetro. Para cada tratamento foi utilizado um mínimo de 5 concentrações, estas variaram de 0,10 a 10,38 mg/mL. As lagartas foram individualizadas nos tubos de ensaio e estes vedados com algodão. Foram realizadas cinco repetições para cada tratamento, com seis lagartas individualizadas. A mortalidade foi avaliada após 24h. Os dados foram analisados pelo

modelo Probit através do software Polo-PC para a determinação dos valores das CL_{50} , com intervalos de confiança a 95%.

Toxicidade via Contato Tópico. A metodologia usada para avaliar a toxicidade via contato tópico foi adaptada de Hummelburnner & Isman (2001). No teste foram utilizadas lagartas de terceiro instar (10 dias de vida). Os tratamentos foram preparados diluindo-se os óleos essenciais, os compostos e os controles positivos (Azamax e Decis 25 EC) em álcool p.a. e a testemunha apenas em álcool. O bioensaio consistiu na aplicação de 1,0 μ L de cada tratamento na parte protorácica do inseto, utilizando-se uma microseringa Hamilton. As lagartas foram individualizadas em tubos de ensaios de 15 cm de altura por 3 cm de diâmetro contendo a mesma dieta artificial da criação de manutenção. Utilizou-se um mínimo de cinco doses por tratamento, estas variaram de 0,2 a 500 μ g/lagarta. Foram realizadas cinco repetições para cada tratamento, sendo seis lagartas individualizadas por repetição. Avaliou-se a toxicidade aguda do óleo essencial, pela contagem de lagartas mortas após 48, 72 e 96 h. Os dados foram analisados pelo modelo Probit através do software Polo-PC para a determinação dos valores das DL_{50} , com intervalos de confiança a 95%.

Atividade Ovicida. A metodologia foi adaptada de Tavares e colaboradores (2010). Ovos de *S. frugiperda* com até 48 h de idade foram delicadamente separados e aderidos com água em pedaços de papel (15 x 5 cm) em forma de cartela. Os tratamentos foram preparados diluindo-se os óleos essenciais de *Citrus*, os enantiômeros de R e S-limoneno e os controles positivos Azamax e Decis 25 EC em álcool p.a., a testemunha recebeu apenas álcool. As cartelas de ovos foram então mergulhadas por 5 segundos nos tratamentos e colocadas sobre superfície por 10 minutos, para evaporação do solvente. Foram realizadas 4 repetições com 20 ovos cada. Utilizou-se um mínimo de 5 concentrações por tratamento, estas variaram de 0,1 a 62,5 mg/mL. As cartelas foram então acondicionadas em placas de Petri (12 x 1,5 cm). A mortalidade dos ovos (subtração do número total de ovos pelo número de lagartas que eclodiram) foi avaliada diariamente por cinco dias. Os

dados foram analisados pelo modelo Probit através do software Polo-PC para a determinação dos valores das CL₅₀, com intervalos de confiança a 95%.

Deterrência Alimentar. Para avaliar a deterrência alimentar provocada pelos tratamentos foi realizado teste de preferência alimentar, em condições de dupla escolha (tratamento x controle), utilizando-se como tratamentos as CL₃₀ dos os óleos essenciais, os compostos e dos controles positivos (Azamax e Decis 25 EC) obtidas no teste residual. As folhas de milho foram cortadas em discos foliares com área de cerca de 6,15 cm² (vazador de 2,8 cm de diâmetro). Como arenas, foram utilizadas placas de Petri (15 cm de diâmetro), com fundo coberto por papel umedecido. Cada placa foi dividida em quatro quadrantes: dois deles foram colocados dois discos de folhas (opostos) com os tratamentos e nos outros dois quadrantes foram colocados dois discos tratados apenas com álcool (testemunha). No centro de cada placa foi liberada uma lagarta de terceiro ínstar de *S. frugiperda*, e após 24 h foi determinada a área restante dos discos foliares, por meio de um medidor da área foliar (Li-Cor, modelo LI-3000A). A área consumida foi calculada pela diferença entre a área fornecida e a área restante. Foram realizados bioensaios independentes para cada um dos tratamentos sempre em comparação com o controle, utilizando-se 20 repetições para cada tratamento. Em cada bioensaio foi mantida uma alíquota, medindo-se 10 discos foliares inteiros e usando-se a média das 10 medidas como área fornecida.

A comparação da área consumida entre os diferentes tratamentos foi feita por meio de um índice de preferência, adaptado de Kogan & Goeden (1970):

$$IP = (2 \times T)/(C + T)$$

onde: IP = índice de preferência; T = área consumida no disco de folha tratado; C = área consumida no disco de folha controle.

Para a interpretação dos resultados, foi determinado o Intervalo de Classificação (IClass) para as médias de tratamentos, com base no IP e desvio padrão, pela fórmula:

$$I_{Class} = 1 \pm t(n-1; \alpha=0,05) \times DP/\sqrt{n},$$

Onde t = valor de "t" tabelado; DP = desvio padrão; n = número de repetições. Os tratamentos foram considerados quando o valor do IP ficou compreendido dentro do IClass; fagodeterrente quando o valor do IP for inferior ao menor valor obtido para o IClass, e fagoestimulante quando o IP for superior ao maior IClass calculado. Deste modo:

IP=1 ± IClass, indica efeito neutro;

IP>1 ± IClass, indica efeito fagoestimulante;

IP<1 ± IClass, indica efeito fagodeterrente.

Resultados e Discussão

Toxicidade Residual. O constituinte R-limoneno não causou mortalidade na praga mesmo nas maiores concentrações testadas (125 µl/mL). Dentre os óleos essenciais e constituintes testados o único cuja concentração letal (CL₅₀) alcançou mesmo nível de toxicidade observado para o controle positivo Azamax foi o *C. aurantifolia*. O óleo essencial de *C. reticulata* alcançou mesmo nível de atividade biológica que o apresentado por *C. aurantifolia*. A mortalidade causada pelas espécies *C. reticulata* e *C. aurantium* var. *amara* e var. *dulcis* e o constituinte S-limoneno não diferiram estatisticamente.

A baixa atividade biológica do óleo essencial das folhas de *C. limon* em relação a outras espécies de mesmo gênero foi anteriormente relatada por Villafane e colaboradores (2011) ao testar mortalidade larval e de pupas de *S. frugiperda* a partir da ingestão de óleos essenciais diluídos em dieta. No teste de contato residual, de forma similar à metodologia testada por Villafane *et al.* (2011) a principal forma de penetração dos tratamentos é via mesentero, a partir da alimentação.

Óleos essenciais são geralmente misturas de monoterpenos, sesquiterpenos e fenilpropanóides, que podem existir nas formas estereoisômeras. Em geral, a presença desses

estereoisômeros na natureza é na forma de excesso enantiomérico, ou seja, a presença de uma das formas estereoisomérica em maior quantidade. Em óleos essenciais de frutos de espécies de *Citrus* spp. o R-limoneno é mais abundante do que o S-limoneno (Palacios *et al.* 2009, Melliou *et al.* 2009). É possível que essa diferença na toxicidade apresentada pelos óleos essenciais testados esteja relacionada à proporção entre R e S-limoneno e a interação destes com os demais constituintes presentes em cada um dos óleos essenciais.

Toxicidade via Contato Tópico. Com relação à toxicidade a partir da aplicação via tegumento, não foi observado aumento na toxicidade com o passar do tempo (48, 72, 96h) em nenhum dos tratamentos testados, com exceção do óleo essencial de *C. aurantium* var. *dulcis* cuja CL₅₀ na avaliação 96 h após a aplicação (164,26 µg/lagarta) foi estatisticamente menor que a da avaliação de 48 h (256,28 µg/lagarta) (Tabela 1). Nas primeiras 48 h, o único dentre óleos essenciais e compostos a alcançar mesmo nível de toxicidade apresentado pelo controle positivo Azamax foi o S-limoneno. Após 72 h da aplicação dos tratamentos os constituintes R e S-limoneno, bem como os óleos essenciais das espécies *C. aurantium* var. *amara* e *C. reticulata* tiveram toxicidade estatisticamente igual a apresentada pelo Azamax. Após 96 h nenhum dos óleos ou compostos alcançou mesmo nível de atividade biológica do Azamax, entretanto *C. aurantium amara* e *C. reticulata* foram os mais tóxicos dentre os óleos testados. O inseticida sintético Decis foi mais tóxico que os demais tratamentos.

O óleo essencial de *C. aurantium* apresentou maior toxicidade dentre os do gênero *Citrus* spp. quando 20 espécies foram testadas sobre o lepidóptero-praga *Sitotroga cerealella* (Ja-Eun *et al.* 2016). Além disso, já apresentou toxicidade sobre *S. frugiperda* quando diluído em dieta (Villafane *et al.* 2011). De forma similar, *C. reticulata* também já apresentou toxicidade de contato a outros lepidópteros praga, tais como *Ephestia kuehniella* (Mikhael *et al.* 2011).

Atividade Ovicida. Na Tabela 3 é apresentada a atividade ovicida dos óleos das cascas de *Citrus* spp., dos constituintes R e S-limoneno e dos controles positivos Azamax e Decis 25 EC sobre ovos de *S. frugiperda* com até 48h pós postura. Não houve diferença estatística entre os óleos essenciais testados, com exceção do *C. reticulata* (CL₅₀= 13,33 mg/mL), que foi mais tóxico que os demais. Todos os óleos essenciais testados atingiram mesmo nível de toxicidade que o controle positivo Azamax, com exceção de *C. aurantium* var. *dulcis*. As concentrações letais causadas pelos constituintes R e S-limoneno sobre ovos de *S. frugiperda* foram estatisticamente iguais. O inseticida sintético Decis 25 EC foi o mais tóxico entre os tratamentos.

A atividade ovicida dos óleos essenciais do gênero *Citrus* spp., embora pouco citada na literatura para lepidópteros, já é conhecida para insetos da ordem Diptera. O óleo essencial das cascas de *C. limon*, cujo constituinte principal é o limoneno (R e S), apresentou CL₅₀ e CL₉₀ de 95,8 mg/mL e 102,7 mg/mL, respectivamente sobre *Aedes aegypti* (Furtado *et al.* 2005). Lamiri *et al.* (2001) demonstraram a atividade ovicida de óleos essenciais do gênero *Citrus* contra o díptero *Mayetiola destructor* Say.

Deterrência Alimentar. Dentre os tratamentos testados apenas os óleos essenciais das cascas de *C. aurantium* var. *amara*, *C. limon* e o controle positivo Decis 25 EC apresentaram efeito de deterrência sobre a alimentação de larvas de terceiro instar de *S. frugiperda* (Tabela 4), todos os demais tratamentos foram neutros.

Terpenos e fenilpropanoides voláteis sintetizados por espécies vegetais podem ter, dependendo do inseto em análise, propriedades atrativas (alimentação, polinização) e/ou deterrentes e inseticidas (Simas *et al.* 2004). Entretanto, os terpenóides R e S-limoneno isoladamente não inibiram nem estimularam a alimentação das larvas da lagarta-do-cartucho. Deste modo, pode-se inferir que outros constituintes presentes nos óleos essenciais de *C. aurantium* var. *amara*, *C. limon* sejam responsáveis pela ação de deterrência alimentar verificada, tornando o alimento impalatável

aos insetos por ação direta. Compostos fagoderrentes interferem nos quimiorreceptores das larvas, pela estimulação de células “deterrentes” específicas, que são células que causam comportamento antagônico à alimentação, situadas nas peças bucais – palpos maxilares e probócide, e também nas extremidades das pernas – nos tarsos (Blaney & Simmonds, 1990).

Agradecimentos

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) e à Fundação de Amparo à Ciência e Tecnologia do Estado de Pernambuco – Facepe, pela concessão de bolsa de pós graduação (IBPG-0667-5.01/11), e ao CNPQ pela concessão de bolsa de produtividade (proc . 312277/2013-0) e apoio financeiro (proc 477778/2013-5).

Literatura Citada

- Abou-Taleb, H.K., M.I.E. Mohamed, M.S. Shawir & S.A.M. Abdelgaleil. 2015.** Insecticidal properties of essential oils against *Tribolium castaneum* (Herbst) and their inhibitory effects on acetylcholinesterase and adenosine triphosphatases. *Nat. Prod. Commun.* 6: 710-714.
- Alves, T.J.S, G.S. Cruz, V. Wanderley-Teixeira, A.A.C. Teixeira, J.V. Oliveira, A.A. Correia, C.A.G. Câmara & F.M. Cunha. 2013.** Effects of *Piper hispidinervum* on spermatogenesis and histochemistry of ovarioles of *Spodoptera frugiperda*. *Biotech. Histochem.* 1: 1-11.
- Araujo, C.P., C.A.G. Camara, I.A. Neves., N.C. Ribeiro., C.A. Gomes., M.M. Moraes & P.S. Botelho. 2010.** Acaricidal activity against *Tetranychus urticae* and chemical composition of peel essential oils of three Citrus species cultivated. *Nat. Prod. Commun* 5: 471-476.
- Araújo, M.J.C., C.A.G. Câmara, F.S. Born, M.M. Moraes, C.A. Badji & C.A.G. Camara. 2012.** Acaricidal activity and repellency of essential oil from *Piper aduncum* and its components against *Tetranychus urticae*. *Exp. Appl. Acarol.* 57: 139-155.
- Attia, S., K.L. Grissa., Z.G. Ghrabi., A.C. Maillieux., G. Lognay & T. Hance. 2012.** Acaricidal activity of 31 essential oils extracted from plants collected in Tunisia. *J. Essent. Oil Res.* 24: 279-288.
- Ayvaz, A., S. Karaborklu & O. Sagdic. 2009.** Fumigant toxicity of five essential oils against the eggs of *Ephestia kuehniella* Zeller and *Plodia interpunctella* (Hubner) (Lepidoptera: Pyralidae). *Asian J. Chem.* 21: 596-604.

- Blaney, W.M. & M.S.J. Simmonds. 1990.** A behavioural and electrophysiological study of the role of tarsal chemoreceptors in feeding by adults of *Spodoptera*, *Heliothis virescens* and *Helicoverpa armigera*. J. Insect Physiol. 36: 43-56.
- Borgoni, P.C. & J.D. Vendramim. 2005.** Efeito subletal de extratos aquosos de *Trichilia* spp. sobre o desenvolvimento de *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith) (Lepidoptera: Noctuidae) em milho. Neotrop. Entomol. 34: 311-317.
- Born, F.S., E.M. Bianco, C.A.G. Camara C.A.G. 2012.** Acaricidal and repellent activity of Terpenoids from seaweeds collected in Pernambuco, Brazil. Nat. Prod. Commun. 7: 463-466.
- Burton, R.L. & W.D. Perkins. 1972.** A new laboratory diet for the corn earworm and the fall armyworm. J. Econ. Entomol. 65: 385-386.
- Camara, C.A.G., Y. Akhtar, M.B. Isman, R.C. Seffrin & F.S. Born. 2015.** Repellent activity of essential oils from two species of Citrus against *Tetranychus urticae* in the laboratory and greenhouse. Crop Prot. 74: 110.
- Won-II, C., L., Eun-Hee, C., Byeoung-Ryeol, P., Hyung-Man & A., Young-Joon. 2003.** Toxicity of plant essential oils to *Trialeurodes vaporariorum* (Homoptera: Aleyrodidae). J. Econ. Entomol. 96:1479-1484.
- Won-II, C., L. Sang-Geui, P. Hyung-Man & A. Young-Joon. 2004.** Toxicity of plant essential oils to *Tetranychus urticae* (Acari: Tetranychidae) and *Phytoseiulus persimilis* (Acari: Phytoseiidae). J. Econ. Entomol. 97:553-558.
- Won-Sik, C., P., Byeoung-Soo, L., Young-Haeng, J., Do Youn, Y., Hey Young & L., Sung-Eun. 2006.** Fumigant toxicities of essential oils and monoterpenes against *Lycoriella mali* adults. Crop Prot. 25: 398-401.
- Cruz, I., M.L.C. Figueiredo, A.C. Oliveira & C.A. Vasconcelo. 1999.** Damage of *Spodoptera frugiperda* (Smith) in different maize genotypes cultivated in soil under three levels of aluminum saturation. Int. J. Pest Manag. 45: 293-296.
- Cruz, I.A. 1995.** A lagarta-do-cartucho na cultura do milho. Sete Lagoas, CNPMS, (Circular Técnica, 21). 45p.
- Delkhooon, S., M. Fahim, J. Hosseinzadeh & O. Panahi. 2013.** Effect of lemon essential oil on the developmental stages of *Trialeurodes vaporariorum* West. (Homoptera: Aleyrodidae). Arch. Phytopathol. Pl. Prot. 46: 569-574.
- Eleni, M., M. Antonio, K. George, S. Alexios-Leandros & Magiatis Prokopios. 2009.** High quality bergamot oil from greece: chemical analysis using chiral gas chromatography and larvicidal activity against the west Nile virus vector. Molecules 14: 839-849.
- Franca, S.M., J.V. Oliveira, A.B. Esteves Filho & C.M. Oliveira. 2012.** Toxicity and repellency of essential oils to *Zabrotes subfasciatus* (Boheman) (Coleoptera, Chrysomelidae, Bruchinae) in *Phaseolus vulgaris* L. Acta Amaz. 42: 381-386.

- Furtado, R.F., M.G.A. de Lima, M. Andrade Neto, J.N.S. Bezerra & M.G.V. Silva. 2005.** Atividade Larvicida de Óleos Essenciais Contra *Aedes aegypti* L. (Diptera: Culicidae). Neotrop. Entomol. 34:843-847.
- Harri, L. & Matos, F.J.A. 2002.** Plantas Medicinais no Brasil nativas e exóticas. São Paulo, Instituto Plantarum, 544p.
- Hummelbrunner, L.A. & M.B. Isman. 2001.** Acute, sublethal, antifeedant, and synergistic effects of monoterpene essential oil compounds on the tobacco cutworm, *Spodoptera litura* (Lep., Noctuidae). J. Agric. Food Chem. 49: 715-720.
- Isman, M.B. 2000.** Plant essential oil for pest and disease management. Crop Prot. 19: 603-608.
- Ja-Eun, S., Na-Hyun, L., Ji-Yeon Y., Hoi-Seon L. & L. Jeong-Moon. 2016.** Acaricidal and Insecticidal activities of essential oils against a stored-food mite and stored-grain insects. J. Food. Prot. 79: 174-182.
- Karaborklu, S., A. Ayvaz, S. Yilmaz & M. Akbulut. 2011.** Chemical composition and fumigant toxicity of some essential oils against *Ephesia kuehniella*. J. Econ. Entomol. 104:1212-1219.
- Kogan, M. & R.D. Goeden. 1970.** The host-plant range of *Lema Trilineata daturaphila* (Coleoptera: Chrysomelidae). Ann. Entomol. Soc. Am. 63: 1175-1180.
- Lamiri, A, S. Lhaloui, B. Benjilali & M. Berrada. 2001.** Insecticidal effects of essential oils against hessian fly *Mayetiola destructor* (Say). Field Crops Res. 71: 9-15.
- Lorenzi, H., L. Bacher, M. Lacerda & S. Sartori. 2006.** Frutas brasileiras e exóticas cultivadas (de consumo in natura). São Paulo, Instituto Plantarum de Estudos da Flora, 672p.
- Matos Neto, F.C., I. Cruz, J.C. Zanuncio, C.H.O. Silva & M.C. Picanço. 2004.** Parasitism by *Campoletis flavicincta* on *Spodoptera frugiperda* in corn. Pesqu. Agropecu. Bras. 39: 1077-1081.
- Mohamed, M.I. & S.A.M. Abdelgaleil. 2008.** Chemical composition and insecticidal potential of essential oils from Egyptian plants against *Sitophilus oryzae* (L.) (Coleoptera: Curculionidae) and *Tribolium castaneum* (Herbst) (Coleoptera: Tenebrionidae), Appl. Entomol, Zool. 43: 599-607.
- Nascimento, A.F., C.A.G. Camara & M.M. Moraes. 2012.** Essential Oil Composition and Acaricidal Activity of *Schinus terebinthifolius* from Atlantic Forest of Pernambuco, Brazil against *Tetranychus urticae*. Nat. Prod. Commun. 7: 129-132.
- Oliveira, T.R.S., C.A.G. Camara & V. Loges. 2015.** Postharvest durability of *Heliconia bihai* flower stem treated with essential oils for insect control. Acta Hort. 1060: 229-234.
- Palacios, S. M., A.Bertoni, Y. Rossi, R. Santander & A.Urzúa. 2009.** Efficacy of essential oils from edible plants as insecticides against the house fly, *Musca Domestica* L. Molecules 14. 1938-1947.

- Pandey, A.K., P. Singh, U.T. Palni & N.N. Tripathi. 2013.** Bioefficacy of plant essential oils against pulse beetles *Callosobruchus* spp. (Coleoptera: Bruchidae) in pigeon pea seeds with particular reference to *Clausena pentaphylla* (Roxb.) DC. Arch. Phytopathol. Pfl. 46:1408-1416.
- Patnaik, S., K. Rout, S. Pal, P.S. Mukherjee, P.K. Panda & S. Sahoo. 2010.** Effect of botanicals on infestation intensity of *Aceria guerreronis* Keifer in coconut. J. Pl. Prot. Res. 50:193-196.
- Pavela, R. 2005.** Insecticidal activity of some essential oils against larvae of *Spodoptera littoralis*. Fitoterapia 76: 691-696.
- Pugazhvendan, S.R., P. Ross, E. Ronald & K. Source. 2012.** Insecticidal and repellent activities of plants oil against stored grain pest, *Tribolium castaneum* (Herbst) (Coleoptera: Tenebrionidae). Asian Pac. J. Trop. Dis. 2:412-415.
- Ribeiro, N.C., C.A.G. Camara, F.S. Born & H.A.A. Siqueira. 2010.** Insecticidal activity against *Bemisia tabaci* biotype B of peel essential oil of *Citrus sinensis* var. pear and *Citrus aurantium* cultivated in northeast Brazil. Nat. Prod. Res. 5: 1819-1822.
- Ruiz, M.J., M.L. Juarez, R.A. Alzogaray, F. Arrighi, L. Arroyo, G. Gastaminza, E. Willink, A.V. Bardon & T. Vera. 2014.** Toxic effect of citrus peel constituents on *Anastrepha fraterculus* W. and *Ceratitidis capitata* W. immature stages. J. Agric. Food Chem. 62:10084-10091.
- Saunt, J. 1990.** Citrus varieties of the world: an illustrated guide. Norwich, Sinclair International Limited, 128p.
- Schmidt, F.B. 2002.** Linha básica de suscetibilidade de *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae) a lufenuron na cultura do milho. Dissertação de Mestrado, ESALQ/USP, SãoPaulo, 63p.
- Silva, A.B., E.B. Beserra & J.P. Dantas. 2008.** Utilização de *Metarhizium anisopliae* e extratos vegetais para o controle de *Spodoptera frugiperda* e *Helicoverpa zea* (Lepidoptera: Noctuidae) em milho. Eng. Ambient. 5: 77-85.
- Sim, Mi-Jin., Choi, Dong-Ro & Ahn, Young-Joon. 2006.** Vapor phase toxicity of plant essential oils to *Cadra cautella* (Lepidoptera: Pyralidae). J Economic Entomol. 99:593-598.
- Simas, N.K., E.C. Lima, S.R. Conceição, R.M. Kuster & A.M. Oliveira Filho 2004.** Produtos naturais para o controle da transmissão da dengue—atividade larvicida de *Myroxylon balsamum* (óleo vermelho) e de terpenoides e fenilpropanoides. Quím. Nova 27:46-49.
- Singh, G., O.P. Singh, P. Rao, P.K. Singh & K.P. Pandey. 2001.** Studies on essential oils, part 29: Insecticidal activity of some volatile oils and monoterpenoids against white termite (*Odontotermes obesus* Rhamb). SugarCane Int. 29:18-20.

- Tavares, W.S., I. Cruz, F.G. Fonseca, N.L. Gouveia, J.E. Serrão, J.C. Zanuncio. 2010.** Deleterious activity of natural products on postures of *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae) and *Diatraea saccharalis* (Lepidoptera: Pyralidae). *Z. Naturforsch.* 65:412–418.
- Villafane, E., D. Tolosa, A. Bardon & A. Neske. 2011.** Toxic effects of *Citrus aurantium* and *C. limon* essential oils on *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae). *Nat. Prod. Commun.* 6: 1389-92.
- Zhao, M. & W. Liu. 2009.** Enantioselectivity in the immunotoxicity of the insecticide acetofenate in an in vitro model. *Environ. Toxicol.* 28: 578–585.
- Zunino, M.P., V.A. Areco & J.A. Zygadlo. 2012.** Insecticidal activity of three essential oils against two new important soybean pests: *Sternechus pinguis* (Fabricius) and *Rhysomatus subtilis* Fiedler (Coleoptera: Curculionidae). *Bull. Latinoam. Caribe* 11: 269-27.

Tabela1. Concentrações letais (CL₅₀), grau de liberdade (G.L.), qui-quadrado (χ^2), curvas de concentração-mortalidade de óleos de *Piper*, do constituinte safrol e dos controles positivos Azamax e Decis 25 EC sobre lagartas de *Spodoptera frugiperda* de terceiro instar via residual

Tratamento	CL ₅₀ (IC 95%) (mg/mL)	CL ₉₀ (IC 95%) (mg/mL)	G.L.	χ^2	Equação
<i>Citrus aurantium</i> var. <i>amara</i>	66,05 _(57,45-76,54)	141,84 _(112,59-217,52)	3	0,97	Y=3,86 _{LogX} -7,03
<i>Citrus aurantium</i> var. <i>dulcis</i>	69,97 _(50,10-95,37)	136,64 _(94,54-710,27)	3	7,50	Y=4,41 _{LogX} -8,13
<i>Citrus limon</i>	95,97 _(90,01-103,11)	136,80 _(123,02-164,03)	3	5,59	Y=8,32 _{LogX} -16,50
<i>Citrus aurantifolia</i>	40,58 _(36,47-45,75)	69,57 _(59,03-90,69)	3	4,43	Y=5,47 _{LogX} -8,80
<i>Citrus reticulata</i>	54,06 _(45,56-67,10)	135,34 _(99,85-229,91)	3	4,42	Y=3,22 _{LogX} -5,57
S-limoneno	60,21 _(54,81-65,93)	97,88 _(85,80-121,77)	3	4,35	Y=7,84 _{LogX} -7,64
Azamax	34,06 _(29,46-39,58)	75,27 _(59,93-111,72)	3	0,83	Y=3,72 _{LogX} -5,70
Decis 25 EC	0,26 _(0,20-0,34)	1,02 _(0,73-1,71)	3	4,71	Y=2,18 _{LogX} +1,27

Tabela 2. Tempos, doses letais (DL₅₀), grau de liberdade (Gl), qui-quadrado (χ^2), curvas de concentração-mortalidade de óleos de *Citrus*, dos constituintes R e S-limoneno e dos controles positivos Azamax e Decis 25 EC sobre lagartas de *Spodoptera frugiperda* de terceiro instar via contato tópico.

Tratamento	T	DL ₅₀ (IC 95%) ($\mu\text{g/lagarta}$)	DL ₉₀ (IC 95%) ($\mu\text{g/lagarta}$)	G.L.	χ^2	Equação
<i>Citrus aurantium</i> var. <i>amara</i>	48h	121,83(100,50-147,80)	309,32(239,74-454,32)	3	1,16	Y=3,31 _{LogX} -6,91
	72h	102,95(85,02-123,47)	245,39(195,15-343,10)	3	0,13	Y=3,40 _{LogX} -6,84
	96h	93,39(76,02-113,21)	243,03(189,98-349,88)	3	0,07	Y=3,09 _{LogX} -6,08
<i>Citrus aurantium</i> var. <i>dulcis</i>	48h	256,28(212,89-310,54)	642,96(495,41-966,83)	3	3,64	Y=3,21 _{LogX} -7,73
	72h	235,22(193,18-287,53)	638,92(484,42-986,60)	3	4,19	Y=2,95 _{LogX} -7,00
	96h	164,26(124,75-209,13)	632,61(445,50-1147)	3	4,65	Y=2,19 _{LogX} -4,85
<i>Citrus limon</i>	48h	211,00(171,01-258,54)	639,70(474,56-1050)	3	3,02	Y=2,66 _{LogX} -6,18
	72h	188,28(149,46-233,18)	624,39(454,56-1067)	3	5,67	Y=2,46 _{LogX} -5,60
	96h	171,54(59,94-336,65)	605,88(316,97-23804)	3	6,83	Y=2,34 _{LogX} -5,23
<i>Citrus aurantifolia</i>	48h	395,35(281,83-698,29)	382,84(289,98-549,01)	5	5,09	Y=1,62 _{LogX} 4,18
	72h	302,01(230,94-415,91)	1853(1100-4485)	5	8,43	Y=1,63 _{LogX} -4,03
	96h	214,21(162,15-286,43)	1400(856,01-3198)	6	3,32	Y=1,57 _{LogX} -3,66
<i>Citrus reticulata</i>	48h	150,76(111,72- 193,35)	613,57(429,16-1136,00)	3	0,23	Y=2,10 _{LogX} -4,58
	72h	110,25(80,52- 148,25)	592,33(374,66-1322)	3	4,18	Y=1,56 _{LogX} -3,48
	96h	104,98(77,98 -138,45)	498,43(329,94-1000)	3	5,38	Y=1,84 _{LogX} -3,83
R-limoneno	48h	194,08(153,58-251,95)	756,80(513,81-1418)	3	5,99	Y=2,17 _{LogX} -4,96
	72h	164,33(83,17-371,76)	613,47(298,57-9868)	3	7,05	Y=2,24 _{LogX} -4,96
	96h	147,43(73,09-312,44)	534,35(268,37-7002)	3	7,08	Y=2,29 _{LogX} -4,97
S-limoneno	48h	116,28(82,66-156,25)	782,95(475,94-1957)	4	2,92	Y=1,55 _{LogX} -3,20
	72h	89,31(63,36-119,43)	467,60(305,52-976,27)	3	1,96	Y=1,78 _{LogX} -3,48
	96h	76,72(55,30-100,52)	339,61(234,93-623,80)	3	0,36	Y=1,98 _{LogX} -3,74
Azamax	48h	63,06(44,60-89,61)	503,19(295,63-1165)	4	6,97	Y=1,42 _{LogX} -2,56
	72h	44,80(19,10-95,10)	321,54(136,90-3109)	4	8,61	Y=1,49 _{LogX} -2,47
	96h	35,55(25,24-48,63)	225,45(146,57-429,00)	4	3,37	Y=1,60 _{LogX} -2,48
Decis 25 EC	48h	0,14(0,02-0,31)	5,05(2,36-32,67)	4	1,50	Y=0,82 _{LogX} +0,69
	72h	0,11(0,01-0,23)	1,54(0,89-5,89)	3	0,68	Y=1,12 _{LogX} +1,07
	96h	0,11(0,01-0,21)	1,15(0,70-3,21)	3	0,53	Y=1,24 _{LogX} +1,21

Tabela 3. Concentrações letais (CL₅₀), grau de liberdade (G.L.), qui-quadrado (χ^2), curvas de concentração-mortalidade de óleos de *Citrus*, dos constituintes R e S-limoneno e dos controles positivos Azamax e Decis 25 EC sobre ovos de *Spodoptera frugiperda* com até 48h após postura.

Tratamento	CL ₅₀ (IC 95%) (mg/mL)	CL ₉₀ (IC 95%) (mg/mL)	G.L	χ^2	Equação
<i>C. aurantium</i> var. <i>amara</i>	29,92 _(21,44-59,26)	237,75 _(97,17-2559)	3	5,05	Y=1,42 _{LogX} -2,10
<i>C. aurantium</i> var. <i>dulcis</i>	29,57 _(23,06-39,90)	142,14 _(90,11-297,58)	3	5,36	Y=3,02 _{LogX} -4,48
<i>C. limon</i>	30,56 _(22,31-50,44)	81,23 _(49,57-349,77)	4	8,83	Y=1,88 _{LogX} -2,76
<i>C. aurantifolia</i>	18,87 _(17,63-26,36)	100,85 _(58,35-289,86)	3	2,28	Y=1,76 _{LogX} -2,25
<i>C. reticulata</i>	13,33 _(9,33-17,44)	87,27 _(52,72-251,56)	3	5,25	Y=1,57 _{LogX} -1,77
R-limoneno	22,05 _(6,30-35,32)	75,21 _(43,13-4239)	3	6,49	Y=2,41 _{LogX} -3,23
S-limoneno	26,24 _(19,79-43,11)	164,63 _(79,55-931,10)	3	2,39	Y=1,61 _{LogX} -2,28
Azamax	7,44 _(0,52-23,01)	93,29 _(27,63-10330)	3	7,71	Y=1,17 _{LogX} -1,02
Decis	0,39 _(0,32-0,48)	1,31 _(0,98-2,04)	3	2,71	Y=2,42 _{LogX} -1,00

Tabela 4. Área foliar média consumida e preferência alimentar de lagartas de terceiro ínstar de *Spodoptera frugiperda*, 24 h após liberação em arenas com chance de escolha entre discos foliares tratados com óleos de *Citrus* spp., com o constituinte S-limoneno e controles positivos Azamax e Decis 25 EC e não tratados.

Tratamento (CL ₃₀ Residual)	Área foliar consumida (\pm EP)		IP ¹ \pm EP	1 \pm IClass ²	Classificação
	Tratamento	Controle			
<i>C. aurantium</i> var. <i>amara</i>	1,02 (\pm 0,24)	3,24 (\pm 0,42)	0,48 (\pm 0,13)	1 \pm 0,12	Fagodeterrente
<i>C. aurantium</i> var. <i>dulcis</i>	2,19 (\pm 0,50)	2,39 (\pm 0,21)	0,95 (\pm 0,16)	1 \pm 0,24	Neutro
<i>C. limon</i>	1,54 (\pm 0,33)	3,85 (\pm 0,27)	0,57 (\pm 0,11)	1 \pm 0,05	Fagodeterrente
<i>C. aurantifolia</i>	2,21 (\pm 0,24)	2,38 (\pm 0,23)	0,96 (\pm 0,06)	1 \pm 0,12	Neutro
<i>C. reticulata</i>	2,59 (\pm 0,40)	2,18 (\pm 0,24)	1,08 (\pm 0,13)	1 \pm 0,19	Neutro
S-limoneno	2,32 (\pm 0,39)	2,26 (\pm 0,40)	1,01 (\pm 0,17)	1 \pm 0,19	Neutro
Azamax	2,77(\pm 0,30)	1,70(\pm 0,42)	1,24(\pm 0,12)	1 \pm 0,13	Neutro
Decis	0,51 (\pm 0,23)	3,51 (\pm 0,25)	0,26 (\pm 0,12)	1 \pm 0,11	Fagodeterrente

¹ Índice de Preferência; ² Intervalo de Classificação.

CAPÍTULO 7

CONSIDERAÇÕES FINAIS

Os experimentos realizados demonstraram o potencial dos óleos essenciais de diferentes partes de plantas das famílias Piperaceae, Myrtaceae e Rutaceae no controle da lagarta-do-cartucho, *Spodoptera frugiperda*. Na avaliação da toxicidade via dérmica e ingestão (metodologias de contato tópico e residual) os destaques foram os óleos do gênero *Piper* e o constituinte safrol. Os tratamentos mais tóxicos à fase embrionária da praga foram o óleo essencial extraído da folha de *Eucalyptus citriodora* e o constituinte S- citronellal. Grande parte dos tratamentos testados apresentaram toxicidade similar ou maior que o inseticida botânico Azamax, o que reforça o potencial destes no controle alternativo de pragas e a possibilidade de uso dos composto identificados na formulação de inseticidas. Entretanto, para que isso seja viabilizado são necessários experimentos adicionais, testando mais compostos provenientes dos óleos essenciais em sua forma isolada e também sob a forma de misturas (blendas), objetivando verificar a interação destes e potencializar o seu efeito.