
Bioatividade de óleos essenciais de espécies de eucalipto para o controle de *Spodoptera frugiperda* (J. E. Smith, 1797) (Lepidoptera: Noctuidae).

Bioactivity of essential oils of eucalyptus species for control of *Spodoptera frugiperda* (JE Smith, 1797) (Lepidoptera: Noctuidae).

SOUZA, Tacyany Ferreira¹; FAVERO, Silvio²; CONTE, Cíntia de Oliveira³

¹Universidade Anhanguera-Uniderp, Campo Grande/MS- Brasil tacyferreira@hotmail.com;

²Universidade Anhanguera-Uniderp, Campo Grande, MS- Brasil silvio.favero@pq.cnpq.br; ³Universidade Anhanguera-Uniderp, Campo Grande, MS- Brasil, cintinhabr@hotmail.com

RESUMO

Este trabalho tem por objetivo avaliar a ação tóxica e fagoinibidora de óleos essenciais de *Corymbia citriodora*, *Eucalyptus urograndis* e *E. urophylla* para o controle de *Spodoptera frugiperda* (J. E. Smith, 1797) (Lepidoptera: Noctuidae) em milho em ensaios de laboratório e semi-campo. Após a coleta, o material botânico fresco foi processado por turbólise na proporção de 200g de matéria fresca para 1 L de água, e depois submetida à extração de óleo essencial em extrator Clevenger por 3 h. Os óleos essenciais obtidos foram avaliados em relação à referida praga quanto à sua ação tóxica, fagoinibição sem chance de escolha, fagoinibição com chance de escolha e dano causado em plantas de milho pulverizadas. Constatou-se que os óleos essenciais testados apresentaram toxicidade tóxica, sendo o de *C. citriodora* mais eficiente por ocasionar maior taxa de mortalidade. Verificou-se que os 3 óleos essenciais apresentaram atividade antialimentar em relação à testemunha. A aplicação dos óleos essenciais de *C. citriodora* e *E. urograndis* por pulverização mostraram-se promissoras para a proteção do cultivo.

PALAVRAS-CHAVE: lagarta-do-cartucho; óleos essenciais; inseticida natural.

ABSTRACT

This research aimed to evaluate the toxicity and feeding deterrent of *Corymbia citriodora*, *Eucalyptus urophylla* and *E. urograndis* essential oils to control *Spodoptera frugiperda* (J. E. Smith, 1797) (Lepidoptera: Noctuidae) on corn in laboratory assays and semi-field. After collection, the fresh plant material was processed by turbolysis in the proportion of 200g of fresh weight to 1 L of water and then subjected to extraction of essential oil extractor Clevenger for 3 h. The essential oils obtained were evaluated concerning the plague about its topical action, antifeeding test without double-choice, antifeeding test with double-choice, and sprayed on corn plant. It was found that the essential oils tested showed toxicity topical, and the *C. citriodora* was more efficient by causing higher mortality rate. It was found that three essential oils showed antifeedant activity compared to control. The application of essential oils of *C. citriodora* and *E. urograndis* spraying were promising to protect the crop.

KEY WORDS: Fall armyworm; essential oils; natural insecticide.

Correspondências para: tacyferreira@hotmail.com

Aceito para publicação em 12/07/2010

Introdução

A cultura do milho é de grande importância por ser um cereal que constitui a base da alimentação humana e animal. No Brasil, presente de Norte a Sul, é considerado 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 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)

O potencial produtivo do milho pode ser afetado, principalmente, pelo ataque de pragas, sobretudo a lagarta-do-cartucho, *Spodoptera frugiperda* (J. E. Smith, 1797) (Lepidoptera: Noctuidae), sendo considerada a mais importante praga da cultura do milho no Brasil. É responsável por causar perdas na produção de até 34% do rendimento dos grãos, pois o seu ataque ocorre em todos os estádios da cultura. O principal método de controle dessa praga é a utilização de inseticidas sintéticos e seu uso incorreto vem alterando o número de aplicações e diminuindo sua eficiência, permitindo ainda o surgimento de populações de insetos resistentes; resíduos nos alimentos e efeitos prejudiciais em organismos benéficos, entre outros efeitos, agravando, dessa forma, ainda mais o problema de contaminação ambiental (VIANA E PRATES, 2003; ESTRELA et al., 2003; GONÇALVES E VENDRAMIM, 2004).

Uma das alternativas para o sucesso no controle de pragas é a utilização de substâncias extraídas de plantas com potencial inseticida, que apresentam algumas vantagens em relação aos inseticidas sintéticos por serem facilmente degradáveis e por não oferecerem riscos de contaminação ambiental; além de serem seguros para os operadores e apresentarem baixo custo aos pequenos produtores (OLIVEIRA et al., 2007; BATISH et al., 2008).

Diante disso muitos pesquisadores têm

estudado a diversidade de plantas com potencial, visando o controle de *S. frugiperda*, bem como de diversas pragas agrícolas. Entre as plantas estudadas, destacam-se *Azadirachta indica* (VIANA E PRATES, 2003), *Trichilia casaretti*, *T. catigua*, *T. clauseni*, *T. elegans*, *T. pallens* e *T. pallida* (BOGORNÍ E VENDRAMIM, 2003), *Piper nigrum* (ESTRELA et al., 2003), *Achillea millefolium*, *Thymus vulgaris* (CASTRO et al., 2006) e *Eucalyptus spp.* (BRITO et al., 2006).

Considerando a necessidade de estabelecer novas técnicas para melhorias econômicas, sociais e ambientais, o presente trabalho teve por objetivo avaliar a ação tóxica e fagoinibidora dos óleos essenciais de *Corymbia citriodora* (Hook) Hill & L.A.S. Johnson (anteriormente denominado *Eucalyptus citriodora*), *Eucalyptus urograndis* e *E. urophylla* (S. T. Blake) para o controle de *S. frugiperda* em milho com ensaios de laboratório e semi-campo.

Materiais e métodos

Os experimentos foram realizados no Laboratório de Entomologia da Universidade Anhanguera-Uniderp, na cidade de Campo Grande, M.S, Brasil, no período de Março à Outubro de 2008.

Extração do óleo essencial

Os produtos vegetais testados foram obtidos de folhas de árvores de *C. citriodora* coletados no Horto de Plantas Medicinais da Universidade Anhanguera-Uniderp, e *E. urograndis* e *E. urophylla* coletados na Fazenda Escola Três Barras, município de Campo Grande, M.S, Brasil. A identificação taxonômica baseou-se em consultas à literatura especializada e especialistas. As exsiccatas estão depositadas no herbário do Laboratório de Botânica da Universidade Anhanguera-Uniderp. O material botânico fresco foi processado por turbólise na proporção de 200 g de matéria fresca para 1 L de

água, e depois levada para a extração de óleo essencial em extrator Clevenger por 3h. O óleo essencial foi coletado com o auxílio de uma micropipeta e colocado em um frasco âmbar e armazenado a 5°C até a utilização nos ensaios por um período de 3 dias.

Bioensaios

Criação dos insetos

A criação da lagarta-do-cartucho iniciou-se a partir de lagartas coletadas em milho no Horto de Plantas Medicinais da Universidade Anhanguera-Uniderp. Os insetos foram levadas ao Laboratório de Entomologia e mantidas em tubos de vidro (2,5 cm x 8,5 cm) contendo folhas de milho como alimento, cada tubo recebeu uma lagarta. Diariamente, era trocado o alimento e retiradas às fezes. Após a pupação, os insetos foram sexados e colocados em gaiolas de PVC com 10 cm de diâmetro, revestidas internamente com papel toalha que servia como substrato de postura. Os adultos, cinco casais por gaiola, foram alimentados com solução de mel a 10%. Diariamente, era realizada a manutenção e retirada dos ovos, que eram colocados em placas de Petri (90 mm x 10 mm) mantidas em câmaras climáticas a $25^{\circ} \pm 1$ C de temperatura; 70 ± 5 % de umidade relativa (UR) e fotoperíodo de 12 horas, até a eclosão das larvas quando, então, foram transferidas para tubos contendo dieta artificial (MACHADO, 1988).

Exposição por aplicação tópica

No teste por contato tópico foram realizados 6 tratamentos e 10 repetições para cada tratamento, sendo uma lagarta por repetição. Os tratamentos consistiram na diluição do óleo essencial em acetona, obtendo-se as concentrações de 0,75; 0,50; 0,25; 0,125 mL de óleo. mL⁻¹ de acetona, e o óleo puro e uma testemunha contendo apenas acetona. O bioensaio consistiu nas aplicações, por meio de uma micropipeta, de 1µL de cada

concentração na região protorácica do inseto de 4º ínstar. As lagartas foram acondicionadas individualmente em placas de Petri (90 mm x 10 mm) de diâmetro com o fundo forrado com papel filtro e contendo a mesma dieta artificial de manutenção. Após 24 h, foi avaliada a mortalidade por dose e repetição, os dados foram tabulados e calculadas as DL50 e DL99 pelo teste de Probit (FINNEY, 1971).

Fagoinibição sem chance de escolha

Os testes foram realizados conforme método descrito por Escoubas et al. (1993) com adaptações (FAVERO et al., 2002).

Para cada óleo essencial testado foi colocado em cada placa de Petri (90 mm x 10 mm) um disco de folha de milho com $5,4 \pm 0,1$ cm², sobre o qual foi aplicado 0,1mL de óleo essencial puro, exceto a testemunha contendo apenas 0,1 mL de acetona. Em cada placa foi liberada uma lagarta de 4º ínstar que tinha sido mantida sem alimento por aproximadamente 24 h. Depois de 2 h da liberação as larvas de *S. frugiperda* foram retiradas. Após este período os discos foram digitalizados e, com auxílio de um macrodesenvolvido no programa MATLAB 6.1, foi efetuada a medição da área consumida pelos indivíduos. Foram realizadas 10 repetições para cada tratamento e uma lagarta de 4º ínstar por repetição.

Os dados foram tabulados e submetidos à análise exploratória dos dados e posteriormente análise de variância em delineamento inteiramente casualizado e as médias foram comparadas pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

Fagoinibição com chance de escolha

Os testes foram realizados conforme método descrito por Escoubas et al. (1993) com adaptações (FAVERO et al., 2002).

Os ensaios foram realizados em placas de

Petri (90 mm x 10 mm) contendo 2 discos de folhas de milho com $5,4 \pm 0,1 \text{ cm}^2$, tendo um deles recebido aplicação de 0,1mL de óleo essencial puro e o outro de 0,1 mL de acetona. Em cada placa os discos de folhas de milho foram colocados equidistantes de um ponto central, onde foi liberada uma lagarta de 4^o ínstar. Os demais procedimentos, incluindo a avaliação do consumo e a análise estatística foram semelhantes ao descrito para o teste sem chance de escolha.

Pulverização a semi-campo

Os testes de semi-campo foram executados em plantas de milho cultivadas em vasos mantidos em sala climatizada a $25 \pm 1 \text{ }^\circ\text{C}$ de temperatura e $70 \pm 5 \%$ de umidade relativa do ar. Semearam-se 3 sementes de milho AG 1051 (Agrocere) por vaso com capacidade para 3 L de substrato. A umidade do substrato foi mantida por meio de irrigações diárias. Após 20 dias de emergência, procedeu-se o desbaste das plantas excedentes deixando apenas a planta mais vigorosa por vaso.

Os tratamentos foram os óleos essenciais de

C. citriodora, *E. urograndis* e *E. urophylla* com concentrações 5 , 10 e 15 mL ha⁻¹ diluídos em tensoativo (Tween 80, 0,02 mL/L de água), além do controle (água + Tween 80). Antes da pulverização foram realizadas as infestações artificiais com uma lagarta de 4^o instar no interior do cartucho de cada planta . Após 20 dias da emergência aproximadamente às 8 horas da manhã a aplicação por pulverização foi realizada uma vez para cada tratamento com volume de calda estimado em 233 L/ha. O equipamento utilizado foi um pulverizador costal manual com ponta de pulverização do tipo leque 80.02 a 40 psi (libras por polegada quadrada). Os vasos foram mantidos sob proteção de filó a fim de evitar a fuga do inseto. Foram utilizados 4 tratamentos para cada óleo essencial num total de 20 vasos, sendo 5 repetições para cada tratamento.

Após a pulverização foram realizadas avaliações de danos, utilizando uma escala visual adaptada da proposta por SMITH et al. (1994) (Quadro 1), sendo as notas atribuídas após 3 dias da infestação. Os dados foram tabulados e submetidos à análise exploratória, e

Quadro 1. Escala de notas de danos por *S. frugiperda*, adaptada de SMITH et al. (1994).

Nota	Danos ocasionados nas folhas
0	Sem danos visíveis.
1	Com pontuações em folhas novas.
2	Com pontuações e pequenos orifícios circulares no cartucho.
3	Com pontuações, pequenos orifícios e lesões alongados com até 1,3cm no cartucho e folhas enroladas.
4	Lesões entre 1,3-2,5cm no cartucho.
5	Lesões maiores que 2,5cm e/ou poucos orifícios irregulares nas folhas.
6	Lesões nas folhas e muitos orifícios irregulares.
7	Muitas lesões de diversos tamanhos.
8	Muitas lesões de médio a grande tamanho.
9	Folha totalmente destruída.

posteriormente à análise de variância em delineamento inteiramente casualizado e as médias foram comparadas com o controle pelo teste de Dunnet a 5% de probabilidade.

Resultado e discussão

Os óleos essenciais de *C. citriodora*, *E. urograndis* e *E. urophylla* através do teste por aplicação tópica apresentaram atividade inseticida para *S. frugiperda* após 24 h da aplicação, sendo que o de *C. citriodora* foi o mais eficiente, pois apresentou as menores DL50 e DL99 (Tabela 1).

A curva de *C. citriodora* apresentou menor declividade indicando que as larvas de *S. frugiperda* responderam mais homoganeamente a esse óleo essencial, o que diferiu de *E. urograndis* e *E. urophylla*, para os quais as declividades foram maiores indicando uma resposta heterogênea, ou seja, que pequenas variações nas doses

promovem grandes variações na mortalidade. Os resultados observados no teste de toxicidade tópica foi similar ao observado em outros trabalhos para óleos essenciais de *Eucalyptus* sp. com outras espécies de artrópodos, como *Aedes aegypti* (LUCIA et al., 2007), *Sitophilus* spp. (ALMEIDA et al., 1999) e *Boophilus microplus* (CHAGAS et al., 2002). Segundo Clemente et al. (2007), o óleo essencial de *C. citriodora* apresentou maior eficiência em relação ao *Cymbopogon nardus*, no controle do carrapato *B. microplus*. Sandi e Blanco (2007) verificaram que o óleo essencial *E. globulus* obtido pelo processo de hidrodestilação, possui atividade inseticida sobre *S. zeamais*, causando mortalidade de 65% em 24 h.

Todos os óleos essenciais testados reduziram o consumo das seções foliares, sendo significativamente menor em relação a

Tabela 1. Toxicidade tópica dos óleos essenciais de *C. Citriodora*, *E. urograndis* e *E. urophylla* para *S. Frugiperda*.

Óleos essenciais	n	Declividade	DL ₅₀ µL inseto ⁻¹	DL ₉₉ µL inseto ⁻¹
<i>C. citriodora</i>	60	1,7910	0,1033	2,0568
<i>E. urograndis</i>	60	3,0282	0,5424	3,1811
<i>E. urophylla</i>	60	3,1415	0,4099	2,2552

apresentando efeito fagoinibidor. Os dados ainda revelam que o efeito supressor alimentar foi considerado quando as substâncias em estudo ocasionaram redução à área foliar consumida quando comparada ao controle, independente da ação deterrente ou tóxica. No ensaio que avalia a preferência de lagartas a seções foliares com diferentes tratamentos, pode-se observar o comportamento do inseto na opção de escolha

apenas das testemunhas, demonstrando 100% do efeito antialimentar dos óleos essenciais de *C. citriodora*, *E. urograndis* e *E. urophylla* sobre as lagartas *S. frugiperda*. Segundo Batish et al. (2008) o óleo essencial de eucalipto apresenta atividade antialimentar contra insetos herbívoros.

Nos testes de pulverização a semi-campo ocorreram diferenças significativas entre a testemunha e o óleo essencial de *C. citriodora*,

Tabela 2. Área consumida no teste de fagoinibição sem chance de escolha dos óleos essenciais de *C. citriodora*, *E. urograndis* e *E. urophylla* para *S. frugiperda*.

Óleos essenciais	Área consumida ¹
	cm ² ± dp
<i>C. citriodora</i>	0,218 ± 0,135 a
<i>E. urograndis</i>	0,138 ± 0,102 a
<i>E. urophylla</i>	0 ± 0,0 a
Testemunha	1,096 ± 0,425 b

testemunha (Tabela 2). Pode-se constatar que *E. urophylla* inibiu qualquer início de alimentação, onde a concentração de 5 mL ha⁻¹ mostrou eficiência semelhante a 15 mL ha⁻¹ (Tabela 3). No entanto, *E. urograndis* causou ação deterrente apenas com as concentrações de 10 mL ha⁻¹ e 15 mL ha⁻¹, mostrando menor potencial de controle de dano na cultura quando comparado com o óleo essencial de *C. citriodora*. O óleo essencial de *E. urophylla* mostrou um desempenho numericamente inferior que os demais tratamentos durante a realização dos experimentos apresentando apenas atividade inseticida com a concentração de 15 mL ha⁻¹. O fato mostra que

os óleos essenciais possuem princípios ativos que promovem a diminuição de dano no cultivo pelo método de pulverização. Já Oliveira et al. (2007) não observaram eficiência necessária como único método de controle da *S. frugiperda* em condições de campo com a pulverização na cultura de milho dos extratos aquosos de *A. indica* 2%, *T. pallida* 5%, *Quassia amara* 2% e *Melia azedarach* 2% e 5% e o óleo de *A. indica* 1% e 2% com adição de tensoativo não iônico.

Embora preliminares, os resultados apresentados neste trabalho são importantes, uma vez que tentativas para o uso de óleos essenciais de *Eucalyptus* sp. como bioinseticidas

Tabela 3. Nota da média de dano de *S. frugiperda* em plantas de milho tratadas com óleos essenciais de *C. citriodora*, *E. urograndis* e *E. Urophylla*.

Óleos essenciais	Nota média ± dp			
	Controle	5 mL ha ⁻¹	10 mL ha ⁻¹	15 mL ha ⁻¹
<i>C. citriodora</i>	8,2±0,447a	6,4±0,547b	7,6±0,547a	6,4±1,816b
<i>E. urograndis</i>	8,2±0,447a	8,2±0,447a	7,0±0,707b	6,0±1,224b
<i>E. urophylla</i>	8,2±0,447a	7,8±0,447a	7,6±0,547a	6,6±0,547b

no controle de *S. frugiperda* não têm sido relatadas. Além disso, o manejo deste inseto praga requer medidas alternativas aos inseticidas organosintéticos, dada a sua importância para o setor da agricultura no Brasil.

Conclusões

Os óleos essenciais testados apresentaram toxicidade tóxica, sendo o de *C. citriodora* mais eficiente por ocasionar maior taxa de mortalidade.

Os óleos essenciais de *C. citriodora*, *E. urograndis* e *E. urophylla* apresentaram atividade antialimentar sobre *S. frugiperda*.

A aplicação dos óleos essenciais de *C. citriodora* e *E. urograndis* por pulverização mostraram-se promissoras para a proteção do cultivo.

Referências

- ALMEIDA, F. A. et al. Avaliação de extratos vegetais e métodos de aplicação no controle de *Sitophilus* spp. **Revista Brasileira de Produção Agroindustrial**, Campina Grande, v.1, n.1, p.13-20, 1999.
- BATISH, D. R. et al. Eucalyptus essential oil as a natural pesticide. **Forest Ecology and Management**, India, v. 256, p. 2166-2174, 2008.
- BRITO, J. P. et al. Toxicidade de óleos essenciais de *Eucalyptus* spp. sobre *Callosobruchus maculatus* (Fabr., 1775) (Coleoptera: Bruchidae). **Revista de Biologia e Ciências Terra**, Jaboticabal, v.6, n.1, p.96-103, 2006.
- BOGORNI, P. C.; VENDRAMIM, J. D. Bioatividade de extratos aquosos de *Trichilia* spp. sobre *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith) (Lepidoptera: Noctuidae) em milho **Neotropical Entomology**, São Paulo, v.32, n.4, p.311-317, 2003.
- CASTRO, D. P. et al. Não-preferência de *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae) por óleos essenciais de *Achillea millefolium* L. e *Thymus vulgaris* L. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, Botucatu, v.8, n.4, p.27-32, 2006.
- CHAGAS, A. C. et al. Efeito acaricida de óleos essenciais e concentrados emulsionáveis de *Eucalyptus* spp em *Boophilus microplus*. **Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science**, São Paulo, v.39, n.5, p.247-253, 2002.
- CLEMENTE, M. A. et al. Avaliação do potencial de plantas medicinais no controle de *Boophilus microplus* (Acari: Ixodidae). **Revista Brasileira de Biociências**, Porto Alegre, v. 5, supl. 2, p. 516-518, 2007.
- MACHADO, L. A. Criações de insetos em laboratório para utilização em pesquisas de controle biológico. In: CRUZ, B. P. B. **Pragas da cultura e controle biológico**. Campinas: Fundação Cargill, 1988. Cap. 2, p. 29.
- ESCOUBAS, P. et al. An improved leaf-disk antifeedant bioassay and its application for the screening of Hokkaido plants. **Entomologia Experimentalis et Applicata**, Japan, v.66, n.1, p.99-107, 1993.
- ESTRELA, J. L. V. et al. Toxicidade de amidas análogas à piperina a larvas de *Ascia monuste* orseis Godart (Lepidoptera: Pieridae) e *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith) (Lepidoptera: Noctuidae). **Neotropical Entomology**, Viçosa, v.32, n.2, p.343-346, 2003.
- FAVERO, S. et al. Atividade anti-alimentar de óleos essenciais de plantas aromáticas sobre *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae). **Horticultura Brasileira**, v.20, n.2, supl. 2. 2002.
- FINNEY, D. J. **Probit Analysis**. London: Cambridge Press, 1971. 338p.
- GONÇALVES, G. R. C. R.; VENDRAMIM, J. D. Modo de ação de extratos de melíceas sobre *Tuta absoluta* (Meyrick, 1917) (Lepidoptera: Gelechiidae). **Arquivos do Instituto Biológico**, São Paulo, v.71, n.2, p.215-220, 2004.
- LUCIA, A. et al. Larvicidal effect of *Eucalyptus grandis* essential oil and turpentine and their major components on *Aedes aegypti* larvae. **Journal of the American Mosquito Control Association**, Buenos Aires v. 23, n. 3, p. 299-303, 2007.
- NÉRI, D. K. P. et al. Interação silício com inseticida regulador de crescimento no manejo da lagarta-do-cartucho *Spodoptera frugiperda* (J. E. Smith, 1797) (Lepidoptera: Noctuidae) em milho. **Revista Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v.29, n.6, p.1167-1174, 2005.
- OLIVEIRA, M. S. S. et al. Eficiência de produtos vegetais no controle da lagarta-do-cartucho-do-milho *Spodoptera frugiperda* (J.E.Smith, 1797)

- (Lepidoptera: Noctuidae). **Revista Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v.31, n.2, p.326-331, 2007.
- SANDI, J. T. T.; BLANCO, R.F. Atividade Inseticida do óleo essencial obtido de eucalipto, *Eucalyptus globulus* Labill (Myrtaceae), sobre o gorgulho-do-milho, *Sitophilus zeamais* (Coleoptera: Curculionidae). **Revista de Biologia e Saúde da UNISEP**, Paraná, v.1, n.1, p.93-100, 2007.
- SMITH, C. M. et al. **Techniques for evaluating insect resistance in crop plants**. Boca Raton: CR-CPress, 1994. 320p.
- VIANA, P. A.; PRATES, H. T. Desenvolvimento e mortalidade larval de *Spodoptera frugiperda* em folhas de milho tratadas com extrato aquoso de folhas de *Azadirachta indica*. **Bragantia**, Campinas, v.62, n.1, p.69-74, 2003.