

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

Priscila Stinguel

Bioinseticidas à base de óleos vegetais, visando o manejo de *Duponchelia fovealis* Zeller, 1847 (Lepidoptera: Crambidae)

ALEGRE
ESPÍRITO SANTO – BRASIL
2020

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

Priscila Stinguel

**Formulações de emulsões bioinseticidas à base de óleos vegetais,
visando o manejo de *Duponchelia fovealis* Zeller, 1847 (Lepidoptera:
Crambidae)**

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Produção Vegetal do Centro de Ciências Agrárias e Engenharias da Universidade Federal do Espírito Santo, como requisito parcial para a obtenção do título de Doutor em Produção Vegetal, na área de concentração Fitossanidade, linha Entomologia.

Orientador: Prof. Dr. Dirceu Pratisoli

ALEGRE
ESPÍRITO SANTO – BRASIL
2020

Ficha catalográfica disponibilizada pelo Sistema Integrado de
Bibliotecas - SIBI/UFES e elaborada pelo autor

S854b Stinguel, Priscila, 1988-
Bioinseticidas à base de óleos vegetais, visando o manejo de
Duponchelia fovealis Zeller, 1847 (Lepidoptera: Crambidae) /
Priscila Stinguel. - 2020.
98 f. : il.

Orientador: Dirceu Pratissoli.
Coorientadores: Anderson Mathias Holtz, Luciano Menini.
Tese (Doutorado em Produção Vegetal) - Universidade Federal
do Espírito Santo, Centro de Ciências Agrárias e Engenharias.


1. Encapsulamento. 2. Emulsões. 3. Estabilidade. 4.
Armazenamento. I. Pratissoli, Dirceu. II. Holtz, Anderson
Mathias. III. Menini, Luciano. IV. Universidade Federal do
Espírito Santo. Centro de Ciências Agrárias e Engenharias. V.
Título.

CDU: 63

Bioinseticidas à base de óleos vegetais, visando o manejo de *Duponchelia fovealis* Zeller, 1847 (Lepidoptera: Crambidae)

Aprovada em: 18/02/2020

Comissão examinadora:



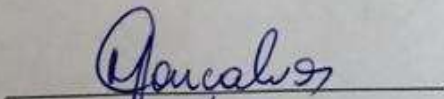
Doutor Dirceu Pratissoli

Orientador



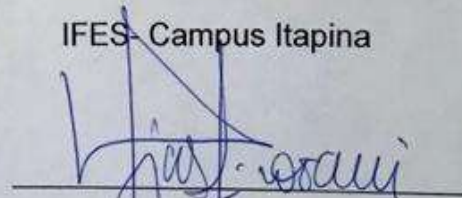
Anderson Mathias Holtz

IFES- Campus Itapina



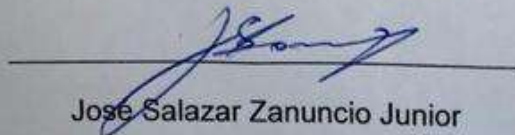
Hugo José G. dos Santos Junior

UFES- Campus Alegre



Victor Dias Pirovani

IFES- Campus Alegre



José Salazar Zanuncio Junior

INCAPER

DEDICATÓRIA

Dedico esta tese às pessoas mais importantes da minha vida...
Pelo que me ensinaram e transmitiram...
Pelo apoio incondicional...
Pelo que sou...
Pelo que me tornei...

Aos meus pais e irmão... João Luiz, Helena e Alex.

AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus pela vida, pelas oportunidades que me foram dadas e me dar força para concluir mais uma etapa;

Aos meus pais, João Luiz e Helena, pelo amor, incentivo e confiança e ao meu irmão Alex, pelo carinho e apoio;

Ao meu namorado e amigo, Ronaldo Felipe, pelo carinho, pela companhia, pela cumplicidade, pelo amor e incentivo ao longo desses anos de estudo;

Aos meus familiares, por compreenderem minha ausência em muitos momentos;

Ao meu orientador, Prof. Dr. Dirceu Pratissoli, pela oportunidade, confiança, tempo e paciência;

Ao meu coorientador, Professor Dr. Anderson Mathias Holtz, pelo tempo, conselhos e sugestões;

Ao coorientador, Dr. Luciano Menini, pela co-orientação e pelo auxílio quando requisitado;

Ao Programa de Pós-Graduação em Produção Vegetal do CCAE- UFES, por possibilitar a continuidade dos meus estudos;

Ao IFES, Campus de Alegre, pela parceria e uso de suas dependências por várias vezes solicitadas;

Aos integrantes do Setor de Entomologia do NUDEMAFI, pelo apoio e estrutura disponibilizada para execução desse trabalho;

As agências de fomento e apoio científico, FAPES, CNPq e FINEP, pelo financiamento direto e indireto do projeto;

Aos amigos do “NUDEMAFI”, em especial, às minhas estagiárias do coração, Jéssica Barbosa e Andressa Huver, por terem me acompanhado durante todos esses anos; a Lorena Contarini, obrigada por sua amizade, obrigada pelo apoio, obrigada por estar sempre disposta a um conselho e palavra amiga, você nos incentiva a ser melhores e ao José Romário de Carvalho, pela ajuda na estatística;

Ao Engenheiro da UFES e amigo, Carlos Eduardo Costa Paiva, por todos os ensinamentos;

Enfim, a todas as pessoas que colaboraram direta ou indiretamente para mais esta conquista... MUITO OBRIGADA!!!

BIOGRAFIA

Priscila Stinguel, nascida em Laranjal, zona rural do município de Itaguaçu, Estado do Espírito Santo, no dia 27 de dezembro de 1988, primogênita da família composta de dois filhos de João Luiz Stinguel e Helena Corona Stinguel. Fez os estudos fundamentais na Escola Municipal de Educação Infantil e ensino fundamental “Pedro Thomazini” e concluiu o ensino médio e técnico na antiga Escola Agrotécnica Federal de Colatina (IFES, Campus Itapina). Aos 19 anos ingressou na Universidade Federal do Espírito Santo, na cidade de Alegre, com o propósito de se tornar Engenheira Agrônoma. Durante a graduação, fez parte da equipe do NUDEMAFI/Entomologia, estagiando e participando do programa de iniciação científica, onde teve a oportunidade de crescer pessoal e profissionalmente. Em fevereiro de 2016, tornou-se mestre e Aos 18 de fevereiro de 2020, defendeu sua tese, para obtenção do título de doutora em Produção Vegetal, pela mesma Universidade.

"Tudo tem seu tempo! A maior das árvores um dia foi semente. Não é preciso apressar o passo, mas sim, acalmar o coração. No tempo certo virá, e quando vier, será de forma tão linda e divina, que direi: Valeu a pena Deus, obrigada."

Yla Fernandes

Sumário

1 CAPÍTULO I	12
1. INTRODUÇÃO	12
1.2. REVISÃO DE LITERATURA	14
1.2.1 <i>Duponchelia fovealis</i> (Zeller, 1847)	14
1.2.2 Características biológicas e injúrias de <i>Duponchelia fovealis</i>	14
1.3 Alternativas para o manejo de <i>Duponchelia fovealis</i>	18
1.4 Métodos de manejo para <i>Duponchelia fovealis</i>	18
1.4.1 Controle cultural	18
1.4.2 Controle mecânico	19
1.4.3 Controle comportamental	19
1.4.4 Controle químico	20
1.4.5 Controle Biológico	20
1.4.6 Inseticidas botânicos	21
1.5 Emulsão	24
1.6 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	25
2 CAPÍTULO II	31
2.1 INTRODUÇÃO	33
2.2 MATERIAL E MÉTODOS	35
2.2.1 Criação de <i>Duponchelia fovealis</i>	35
2.2.2 Óleo fixo de <i>Annona muricata</i>	35
2.2.2.1 Obtenção do material vegetal	35
2.2.2.2 Resíduo de graviola	36
2.2.2.3 Preparo das sementes no resíduo	36
2.2.2.4 Extração do óleo de graviola via extrusão	36
2.2.2.5 Análise do perfil cromatográfico de ácidos graxos do óleo de graviola	37
2.2.3 Óleo essencial de <i>Zingiber officinale</i>	38
2.2.3.1 Obtenção do material vegetal	38
2.2.3.2 Extração do óleo essencial de gengibre	38
2.2.3.3 Caracterização dos constituintes químicos presentes no óleo essencial de gengibre	39
2.2.4 Óleo fixo de <i>Azadirachta indica</i>	40
2.2.5 Preparo das emulsões	40

2.2.6	Análise microscópica	41
2.2.7	Avaliação da atividade inseticida	41
2.2.8	Ensaio em ovos.....	41
2.2.9	Ensaio com lagartas de 1 ^o e 2 ^o instar.....	43
2.3	RESULTADOS E DISCUSSÃO	44
2.3.1	Análise química da composição dos óleos.....	44
2.3.2	Emulsão	47
2.4	CONCLUSÃO.....	60
2.5	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	61
3	CAPÍTULO III	66
3.1	INTRODUÇÃO	68
3.2	MATERIAL E MÉTODOS	70
3.2.1	Criação de <i>Duponchelia fovealis</i>	70
3.2.2	Preparo das emulsões	70
3.2.3	Armazenamento das emulsões.....	70
3.2.4	Análise microscópica	70
3.2.5	Avaliação da atividade inseticida	70
3.3	RESULTADOS E DISCUSSÃO	71
3.3.1	Estabilidade das Emulsões	71
3.3.2	Avaliação da atividade inseticida	74
3.4	CONCLUSÃO.....	79
3.5	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	80
4	CAPÍTULO IV	83
4.1	INTRODUÇÃO	85
4.2	MATERIAL E MÉTODOS	87
4.2.1	Criação de <i>Duponchelia fovealis</i>	87
4.2.2	Preparo das emulsões	87
4.2.3	Degradação fotoquímica assistida das emulsões dos óleos de <i>Zingiber officinale</i> , <i>Azadirachta indica</i> e <i>Annona muricata</i>	87
4.2.4	Avaliação da atividade inseticida	87
4.3	RESULTADOS E DISCUSSÃO	88
4.5	CONCLUSÃO.....	94
4.5	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	95
5.	CONSIDERAÇÕES FINAIS	97

RESUMO

STINGUEL, Priscila, D.Sc., Universidade Federal do Espírito Santo. Fevereiro de 2020. **Formulações de emulsões bioinseticidas à base de óleos vegetais, visando o manejo de *Duponchelia fovealis* Zeller, 1847 (Lepidoptera: Crambidae)** Orientador: Prof. Dr. Dirceu Pratisoli.

A lagarta exótica do morangueiro *Duponchelia fovealis* Zeller, 1847 (Lepidoptera: Crambidae), foi confirmada no Brasil em 2010, desde então, vem causando grandes prejuízos nessa cultura no país, com destaque, para estado do Espírito Santo, grande produtor de morango. Assim, objetivou-se com esse estudo: (1) Extrair, caracterizar, formular emulsões estáveis e avaliar a atividade inseticida, contra *D. fovealis*, destas emulsões formuladas com os óleos de gengibre (*Zingiber officinale*) e graviola (*Annona muricata*), bem como de uma emulsão formulada com o óleo comercial de neem (*Azadirachta indica*) e avaliar a atividade inseticida das emulsões; (2) Avaliar a estabilidade físico-química das emulsões dos óleos de gengibre, graviola e neem, armazenadas por 365 dias e a atividade inseticida dessas, ao longo desse tempo e (3) Avaliar a persistência da atividade inseticida das emulsões, sobre lagartas de *D. fovealis*, após exposição à luz UVC (240 nm). A partir dos resultados, verificou-se que: (1) Os compostos majoritários foram ácido oleico (43,73%), ácido linoleico (29,51%) e ácido palmítico (20,50%) para o óleo fixo de graviola e α -zingibereno (29%), geranial (14,9%) e α -farneceno (12,9) para o óleo essencial de gengibre. Os três óleos estudados podem ser encapsulados, formando uma emulsão estável e com atividade inseticida contra *D. fovealis*, em diferentes fases de desenvolvimento de (2) As emulsões dos óleos de gengibre, graviola e neem permaneceram estáveis por até 365 dias de armazenamento e mantiveram a atividade inseticida ao longo desse período e (3) Após exposição à luz UVC (240 nm), por até 12 horas, não diminuiu a atividade inseticida das emulsões dos óleos de gengibre, graviola e neem sobre lagartas de 1º instar de *D. fovealis*. O manejo de *D. fovealis* pode ser realizado com as formulações desenvolvidas nesse estudo, pois além da eficiência como inseticidas, as formulações permaneceram estáveis durante o armazenamento por um ano e não foram inativadas após exposição à luz UV.

Palavras- chave: Encapsulamento; Emulsões; Estabilidade; Armazenamento.

ABSTRACT

STINGUEL, Priscila, D.Sc., Universidade Federal do Espírito Santo. Fevereiro de 2020. **Formulations of bioinsecticidal emulsions based on vegetable oils, for the management of *Duponchelia fovealis* Zeller, 1847 (Lepidoptera: Crambidae)**. Advisor: Prof. Dr. Dirceu Pratissoli.

The exotic caterpillar of the strawberry *Duponchelia fovealis* Zeller, 1847 (Lepidoptera: Crambidae), was confirmed in Brazil in 2010, since then, it has caused great losses in this culture in the country, especially in the state of Espírito Santo, a great strawberry producer. Thus, the objective of this study was: (1) Extract, characterize, formulate stable emulsions and evaluate the insecticidal activity, against *D. fovealis*, of these emulsions formulated with the oils of ginger (*Zingiber officinale*) and soursop (*Annona muricata*), as well as an emulsion formulated with commercial neem oil (*Azadirachta indica*) and to evaluate the insecticidal activity of the emulsions; (2) Evaluate the physicochemical stability of the emulsions of ginger, soursop and neem oils, stored for 365 days and their insecticidal activity, over that time; and (3) Evaluate the persistence of the insecticidal activity of the emulsions, on caterpillars of *D. fovealis*, even after exposure to UVC light (240 nm). From the results, it was found that: (1) The major compounds were oleic acid (43.73%), linoleic acid (29.51%) and palmitic acid (20.50%) for the fixed soursop oil and α -zingiberene (29%), geranial (14.9%) and α -farnecene (12.9) for ginger essential oil. The three oils studied can be encapsulated, forming a stable emulsion with insecticidal activity against *D. fovealis*, in different stages of development of (2) The emulsions of the oils of ginger, soursop and neem remained stable for up to 365 days of storage and maintained the insecticidal activity throughout this period and (3) After exposure to UVC light (240 nm), for up to 12 hours, the insecticidal activity of the emulsions of ginger, soursop and neem oils on 1st instar *D. fovealis*. The management of *D. fovealis* can be carried out with the formulations developed in this study, because besides the efficiency as insecticides, the formulations remained stable during storage for one year and were not inactivated after exposure to UV light.

Keywords: Encapsulation; Emulsions; Stability; Storage.

1 CAPÍTULO I

1. INTRODUÇÃO

O morangueiro (*Fragaria x Ananassa* Duchesne ex Rozier) é classificado botanicamente como uma hortaliça da família das rosáceas (DAROLT, 2008), possuindo grande expressão econômica dentre as frutas (OLIVEIRA; SCIVITTARO, 2006).

O Brasil produz cerca de 105 mil toneladas de pseudofrutos de morango por ano, em uma área cultivada de aproximadamente 4 mil hectares. Os principais estados produtores são Minas Gerais, Rio Grande do Sul, São Paulo, Espírito Santo, Santa Catarina e Distrito Federal, com uma produtividade média variando entre 30 e 60 t/ha, dependendo das tecnologias empregadas (REISSER JUNIOR et al., 2014).

A cultura do morangueiro foi implantada no Espírito Santo como uma opção de renda para a agricultora familiar da região serrana. A expansão significativa dessa cultura ocorreu apenas a partir da metade da década de 1990 (BALBINO et al., 2013). A área plantada é de aproximadamente 300 hectares, com uma produção em torno de 10.000 toneladas de frutas, concentrada nos municípios de Domingos Martins, Venda Nova do Imigrante, Santa Maria de Jetibá e Afonso Cláudio (INCAPER, 2018).

No Brasil, bem como, no Espírito Santo, os problemas mais importantes relacionados ao cultivo do morangueiro são causados por doenças e insetos pragas, prejudicando a produção. Os prejuízos vão desde a destruição de raízes e partes aéreas, até o ataque a pseudofrutos e transmissão de viroses (PRATISSOLI et al., 2015), sendo o ácaro-rajado *Tetranychus urticae* Koch, 1836 (Acari: Tetranychidae) tradicionalmente considerados como praga chave (GARCIA; CHIAVEGATO, 1997).

Entretanto, no ano de 2007, houve a introdução da praga exótica *Duponchelia fovealis* no Brasil e em 2010, no Espírito Santo (FORNAZIER et al., 2011; ZAWADNEAK et al., 2011; PAES et al., 2015; PRATISSOLI et al., 2015), estando presente nos principais campos de produção de morango do estado,

como Santa Maria de Jetibá, Venda Nova do Imigrante, Domingos Martins e Afonso Cláudio (PIROVANI, 2016).

O estabelecimento da praga no estado foi favorecido pelo rápido crescimento populacional e alta capacidade de dispersão, além da falta de conhecimento dos produtores e técnicos sobre o comportamento e a biologia da praga. O controle é basicamente realizado por inseticidas sintéticos, muitas vezes com produtos sem registros oficiais junto ao Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA) para uso na cultura do morangueiro e na praga em questão (PIROVANI, 2016).

1.2. REVISÃO DE LITERATURA

1.2.1 *Duponchelia fovealis* (Zeller, 1847)

A lagarta exótica do morangueiro *D. fovealis*, como é conhecida no Brasil, é popularmente conhecida em outros países como mariposa europeia da pimenta. O inseto praga é originário da região mediterrânea e Ilhas Canárias (BETHKE; VANDER MEY, 2010) e encontra-se em outras partes da África, Europa, Oriente Médio, Canadá e Estados Unidos (BRAMBILA; STOCKS, 2010; STOCKS; HODGES, 2013).

Nos Estados Unidos, no estado da Califórnia, *D. fovealis* foi detectada em begônias, em 2004, sendo esse, o primeiro relato no continente americano e verificada novamente no ano de 2010. No Brasil, em 2007, lagartas dessa espécie foram encontradas atacando folhas, flores, coroas e também os pseudofrutos do morangueiro, causando danos de até 20% de plantas infestadas com redução de produção e mortalidade das plantas (ZAWADNEAK et al., 2011). Porém, somente em 2010 a espécie foi confirmada pela Dra. Alma Solis, do Laboratório de Entomologia Sistemática (USDA) (ZAWADNEAK et al., 2011), com presença já confirmada em três estados: Paraná, Espírito Santo e Minas Gerais (FORNAZIER et al., 2011; ZAWADNEAK et al., 2011; SOUZA et al., 2013; PAES et al., 2015; PRATISSOLI et al., 2015).

1.2.2 Características biológicas e injúrias de *Duponchelia fovealis*

D. fovealis é uma praga polífaga, que se alimenta de diversas famílias de vegetais, incluindo gêneros de importância agrícola, plantas ornamentais, plantas daninhas e aquáticas. Entretanto, ainda não foi relatada no Brasil atacando outros cultivos, além do morangueiro, cultura a qual tem causado intensos prejuízos (FORNAZIER et al., 2011; ZAWADNEAK et al., 2011; SOUZA et al., 2013; PAES et al., 2015; PRATISSOLI et al., 2015).

É uma mariposa, pertencente à ordem Lepidoptera e à família Crambidae. O ciclo médio ovo-adulto é de 47 dias a 20 °C, porém, o seu desenvolvimento, que é holometábolo (ovo - larva - pupa - adulto), pode variar de acordo com as condições climáticas em que o inseto se encontra (PIJNAKKER, 2001).

Os adultos possuem uma coloração castanho-acinzentada, medindo em torno de 19 mm de envergadura e cerca de 10 mm de comprimento (BRAMBILA;

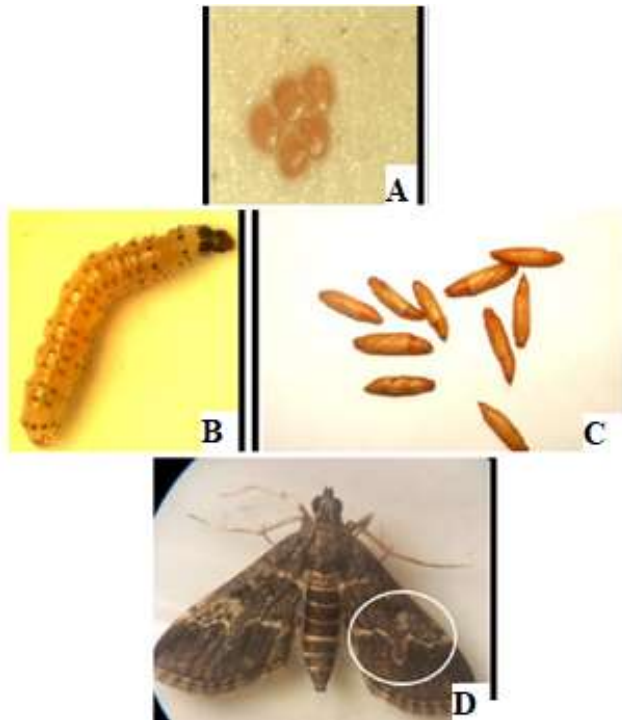
STOCKS, 2010), apresentando nas asas, duas linhas transversais amarelas e paralelas entre si, sendo que na linha mais próxima ao ápice, pode ser verificado a presença de um desenho em forma de "U" (BRAMBILA; STOCKS, 2010; STOKES; HODGES, 2013), característica esta, que facilita a identificação deste inseto (Figura 1D). Os machos têm abdome mais afilado que as fêmeas e possuem um tufo de pelos na extremidade (ZAWADNEAK et al., 2011). A mariposa adulta vive de uma a duas semanas (FRANCO; BAPTISTA, 2010) e pode colocar até 200 ovos (Figura 1F). (BRAMBILA; STOCKS, 2010), na parte inferior das folhas junto às nervuras, na base da planta do morango, no caule ou na camada superior do solo. Os ovos inicialmente possuem coloração amarelo-creme, passando a vermelhos próximos à eclosão das lagartas (Figuras 1A-C) (PAES et al., 2018). A eclosão ocorre cerca de oito dias após a oviposição (FRANCO; BAPTISTA, 2010). Apesar de ser uma espécie de hábito noturno, pode apresentar voos curtos durante o dia, mediante distúrbios exteriores (ZAWADNEAK et al., 2011).

A fase larval de *D. fovealis* dura entre 21 e 30 dias, passando por quatro instares de desenvolvimento, medindo entre 20-30 mm de comprimento no último instar. São branco-amareladas com pequenas pontuações marrons distribuídas ao longo do corpo. A cabeça é marrom-escura (Figura 1D) (PAES et al., 2018). As lagartas são ágeis e apresentam preferência pelas folhas localizadas próximas ao solo, porém, podem consumir brotos, flores, pseudofrutos e até restos vegetais em decomposição. Ocorrem durante todo o ciclo da cultura, sendo mais ativas nos dias mais quentes (HOFFMAN, 2013; SOUZA et al., 2013,). Preferem locais úmidos, onde normalmente se abrigam, podendo inclusive tolerar excesso de umidade e atacar plantas aquáticas (BRAMBILA; STOCKS, 2010).

Ao final do período larval as lagartas constroem os casulos através das teias, excrementos e partículas de solo (STOKES; HODGES, 2013). Os casulos encontram-se em locais protegidos na planta como folhas baixas rentes ao solo ou diretamente no próprio solo. É onde a fase de pupa ocorre (MURPHY, 2008; ZAWADNEAK et al., 2011; STOKES; HODGES, 2013). As pupas são amarelo-amarronzadas (Figura 1E), medem cerca de 10 mm de comprimento e

tornam-se bem escuras próximas à eclosão do adulto (STOKES; HODGES, 2013).

Em cultivos de morangueiro as lagartas têm atacado folhas, flores, coroas e também os pseudofrutos e em infestações severas são capazes de debilitar as plantas, reduzir a produtividade e levá-las a morte (Figura 2A-E) (BRAMBILA; STOCKS, 2010; FRANCO; BAPTISTA, 2010; PAES et al., 2015). No estado do Espírito Santo, o problema é agravado principalmente porque o cultivo é feito em duas épocas do ano, em áreas extensas e pouca ou nenhuma ação de manejo que vise o controle da praga (PIROVANI, 2016).



Fonte: Pirovani (2016)

Figura 1. Fases do desenvolvimento de *Duponchelia fovealis*. (A) ovos de *Duponchelia fovealis* (B) lagarta no quarto ínstar de desenvolvimento (C) pupas e (D) fêmea com destaque para a linha em forma de “U”.



Fonte: Pirovani (2016)

Figura 2: Injúrias provocadas por *Duponchelia fovealis* na cultura do morangueiro. (A) plantas atacadas, com perfurações nas folhas e desenvolvimento comprometido; (B) região basal da planta com folhas mortas; (C) lagartas alimentando-se do pseudofruto de morango; (D) folha danificada e pupa em casulo típico da praga; (E) lagartas alimentando-se da região da coroa da planta com intensa deposição de excrementos.

1.3 Alternativas para o manejo de *Duponchelia fovealis*

Uma das táticas, que tem sido empregada com sucesso é monitoramento das populações da praga, o que tem se tornado uma peça chave para o sucesso das táticas de manejo de *D. fovealis* (FADINI et al., 2004). O emprego de diversas táticas de manejo, como, o biológico, comportamental, cultural e controle químico, tem utilizadas em várias regiões do mundo como Europa e Estados Unidos e para diversas espécies praga (BRAMBILA; STOCKS, 2010; STOKES; HODGES, 2013).

A integração de diferentes formas de manejo favorece a manutenção da praga em níveis populacionais baixos, seja pela diminuição de adultos, por meio de coletas massal; pela eliminação de restos culturais; controle biológico através de liberação de parasitoides de ovos ou ainda pela utilização de bactérias ou nematoides entomopatogênicos para o controle de lagartas, dentre outros métodos. Essa integração também auxilia na escolha da melhor opção de controle de acordo com a situação ou momento, aspectos produtivos esses, que variam em tempo e espaço curtos, evitando assim, o calendário de aplicação de agrotóxicos, responsável por vários problemas no meio agrícola (PIROVANI, 2016).

1.4 Métodos de manejo para *Duponchelia fovealis*

1.4.1 Controle cultural

É comum que haja canteiros completamente abandonados ao lado de novos plantios de morango, devido a grande demanda por mão de obra no cultivo, impedindo que essas medidas sejam realizadas por alguns produtores (OLIVEIRA; SCIVITTARO, 2006). O que poderá prejudicar a efetividade de outros métodos de controle, como utilização de inseticidas químicos ou biológicos, que podem ser afetados pela ausência dessas medidas culturais (STOKES; HODGES, 2013). A permanência de folhas velhas pode dificultar o contato desses agentes de controle com o alvo, reduzindo a eficiência e aumentando os custos de produção. Pode ainda prejudicar a ação e eficiência do *Trichogramma* ou de outro parasitoide e/ou predador (PIROVANI, 2016).

Métodos de controle cultural podem influenciar diretamente nos níveis populacionais de *D. fovealis*, em razão do comportamento deste inseto (PAES,

2018). Práticas como limpeza das plantas, retirada de restos vegetais que servem de abrigo e eliminação de cultivos abandonados, desfavorecem o desenvolvimento e quebram o ciclo desta praga (BRAMBILA; STOCKS, 2010; GILL, 2013; STOKES; HODGES, 2013).

Pirovani (2016) corrobora com o que foi descrito anteriormente, afirmando que locais utilizados pela *D. fovealis* no processo reprodutivo e de alimentação, podem tornar-se desfavoráveis com a eliminação dos restos culturais, bem como proporcionar a redução no número de ovos, lagartas e até pupas nas áreas cultivadas, o que conseqüentemente, acarretará na redução do crescimento populacional da praga e na dispersão desses insetos entre os cultivos de morangueiro.

1.4.2 Controle mecânico

Consiste basicamente no emprego de barreiras ou destruição direta do inseto praga (GALLO et al., 2002). No Espírito Santo é muito comum à utilização de túneis baixos na produção de morango e esses podem ser fechados ou abertos em decorrência da variação de fatores ambientais como temperatura e precipitação, podendo haver o controle por barreira, ou por catação manual e destruição direta da praga, pois, o agricultor pode observar os sintomas fazendo um caminhamento diário, túnel a túnel, pelos canteiros de cultivo (PIROVANI, 2016). Nesse caso, detectando-se qualquer sinal visual de ataque da praga ao morangueiro (folhas ou pseudofrutos atacados, presença de fezes e teias na base das plantas) pode ser realizada uma busca para eliminação mecânica dos insetos, como o esmagamento manual, por exemplo.

1.4.3 Controle comportamental

O comportamento de *D. fovealis* pode ser observado em dois focos distintos, sendo o primeiro para o monitoramento dos níveis populacionais e o segundo, como forma de controle, por meio de coletas massais (PAES, 2018). Na Holanda, são empregadas as seguintes estratégias; uso de feromônio sexual em armadilhas tipo delta ou armadilha que associe o feromônio e a água, para coleta de machos (DEVENTER, 2009; STOKES; HODGES, 2013). O feromônio sexual de *D. fovealis* já foi sintetizado e é possível encontrá-lo em mercados europeus. O processo de registro no Brasil, junto ao MAPA está em

andamento, o que possibilitará em breve, o emprego deste método de controle (PIROVANI, 2016).

1.4.4 Controle químico

Por se tratar de uma praga exótica no Brasil, ainda não há registro de inseticidas destinados ao controle desta praga junto ao MAPA (AGROFIT, 2020). No entanto, em outras regiões do mundo, para o controle de lagartas *D. fovealis*, são empregados inseticidas como: spinosade, bifentrina, fluvalinato, deltametrina, esfenvalerato, orthene, lambdacialotrina, com mortalidade de até 75% (BETHKE; VANDER MEY, 2013).

No Brasil, Santos (2014) avaliou a eficácia de algumas inseticidas a base de clorfenapir, indoxacarbe e lambda-cialotrina + chlorantraniliprole. A seleção dos mesmos foi baseada nos seus impactos ambiental e na carência, visto que morango é coletado todos os dias. Nos testes de mortalidade ficou comprovado que todos os produtos testados, mostraram ser eficazes no manejo dessa praga, com mortalidades variando entre 71 e 100%.

1.4.5 Controle Biológico

O controle biológico consiste na diminuição de uma determinada população de inseto praga por ação de predadores, parasitas ou patógenos (HAWKINS; CORNELL, 1999). Com relação à aplicabilidade no controle de *D. fovealis*, produtos à base de *Bacillus thuringiensis* aplicados em cultivos de morango apresentaram bons resultados no manejo desta praga nos primeiros instares de desenvolvimento (BRAMBILA; STOCKS, 2010; BETHKE; VANDER MEY, 2011; WHITE, 2012; GILL, 2013; SOUZA et al., 2013; STOKES; HODGES, 2013). Por exemplo, a aplicação dos produtos comerciais à base de Bt, Dipel[®] e Agree[®], em condições de laboratório, resultou em altos índices de mortalidade de *D. fovealis*, 87 e 96%, respectivamente (SALOMÃO, 2014).

Além disso, o besouro *Atheta coriaria* Kraatz 1978 (Coleoptera: Staphylinidae), um predador de ovos e lagartas de primeiro instar, bem como nematoides entomopatogênicos (*Heterorhabditis bacteriophora* e *Steinernema* spp. (Nematoda: Rhabditida)) (STOCKS; HODGES, 2013; PIROVANI, 2016) e ácaros predadores *Hypoaspis miles* Costa, 1876 (Acari: Laelapidae) e *Hypoaspis aculeifer* Canestrini, 1884 (Acari: Laelapidae) (FRANCO;

BAPTISTA, 2010), são relatados como agentes de controle biológico, de *D. fovealis*. Outro agente que pode ser considerado é o parasitoide de fase larval *Cotesia* sp. (Hymenoptera: Braconidae), encontrado em lavouras de São José dos Pinhais, PR, Brasil, parasitando lagartas de *D. fovealis*. É um agente de controle de fácil aquisição, pois a espécie *Cotesia flavipes* Cameron, 1891 (Hymenoptera: Braconidae) já é produzida e comercializada para o controle de *Diatraea saccharalis* Fabricius, 1794 (Lepidoptera: Crambidae) (SANTOS, 2019).

Os parasitoides de ovos do gênero *Trichogramma*, também podem ser considerados promissores para o manejo de *D. fovealis*, pois, na Alemanha, as espécies *Trichogramma brassicae* Bezdenko, 1968 e *Trichogramma cacoeciae* Marchal, 1927 (Hymenoptera: Trichogrammatidae) já foram testados com sucesso no controle desta praga (ZIMMERMANN, 2004), bem como as espécies *Trichogramma galloi* Zucchi, 1988 (Hymenoptera: Trichogrammatidae) e *Trichogramma pretiosum* Riley, 1879 (Hymenoptera: Trichogrammatidae), que apresentaram o melhor desempenho para o controle de ovos de *D. fovealis* na cultura do morangueiro em sistema de túnel baixo, 24, 48 e 72 horas após a liberação dos parasitoides (PIROVANI, 2016).

1.4.6 Inseticidas botânicos

As plantas sintetizam metabólitos primários e secundários. O homem procura aproveitar os princípios ativos existentes nos vegetais de diferentes formas, dentre elas, utilizar substâncias resultantes do metabolismo secundário das plantas, cuja função é de defesa contra agentes patogênicos, além de conferir proteção contra os herbívoros e atrair polinizadores (BAKKALI et. al., 2008).

Os produtos com ação inseticida, extraídos de plantas já foram a principal forma de manejo contra pragas agrícolas, mas, aproximadamente em 1940, os inseticidas sintéticos assumiram um papel de destaque (ISMAN et al., 2008). Entretanto, problemas derivados do uso indiscriminado desses inseticidas sintéticos fizeram com que programas integrados de controle de pragas, utilizando produtos de origem natural, voltassem a ter papel de destaque (TUNAZ, 2004).

As plantas são reconhecidamente capazes de produzir as próprias substâncias defensivas, incluindo inseticidas para a proteção contra o ataque de pragas, são os chamados metabólitos secundários (GOBBO-NETO; LOPES, 2007). Dentre os metabólitos secundários, os óleos essenciais, que são misturas complexas de diferentes classes de substâncias, principalmente terpenóides e fenilpropanóides, com estruturas químicas diversificadas, produzidas por metabolismo especial, se destacam (OOTANI et al., 2013). Estes podem ser compostos voláteis e odoríferos, sensíveis à luz, calor e oxigênio (SOUZA et al., 2016), bem como, os óleos fixos, que não evaporam ou volatilizam completamente, sendo que, quando mantidos em contato com o ar, eles podem permanecer fluidos (COSTA et al., 2015).

Inúmeras espécies vegetais apresentam, comprovadamente, característica inseticida, como *Ocimum mericanum* Linn, *Hyptis spicigera* Lam, *Hyptis suaveolens* Linn, *Lippia multiflora* Moldenke, espécies do gênero *Eucalyptus* e *Piper*, *Ruta graveolens* Linn, *Copaifera langsdorffii* Desf., *Chenopodium ambrosioides* Linn, entre outras. (FAZOLIN et al., 2007; BATISH et al., 2008; ILBOUDO et al., 2010; BARBOSA, 2011). Dentre as espécies, serão utilizados nesse estudo, os óleos de gengibre (*Zingiber officinale*), graviola (*Annona muricata*) e o neem (*Azadirachta indica*).

1.4.6.1 *Zingiber officinale* Roscoe

O gengibre pertence à família Zingiberaceae, apresenta distribuição em áreas tropicais e semitropicais, destacando-se a família o *Z. officinale*, uma planta herbácea aromática, perene, de rizoma articulado, septante, carnoso, revestido de epiderme rugosa, que possui propriedades terapêuticas pela ação anti-inflamatória e analgésica (VIEIRA et al., 2014), culinária e possui propriedades com amplo espectro sobre organismos como fungos, bactérias e insetos (CASTRO, 2004).

O constituinte majoritário normalmente encontrado é o zingibereno (ARAÚJO, 2003; ATAÍDE, 2017), porém, a composição pode variar de acordo com a época e local de colheita, secagem, adubação, dentre outros (ZARATE, et al., 1992).

O gengibre brasileiro é geralmente comercializado “in natura” é destinado principalmente à exportação, que representa 70 a 80% da colheita (ELPO, 2004).

1.4.6.2 *Annona muricata* Linn

A graviola (*A. muricata*) é uma espécie pertencente à família Annonaceae e apresenta distribuição pantropical, sendo a América Central e a do Sul, a África e a Ásia os principais centros de diversidade desse grupo. Foi introduzida no Brasil pelos portugueses no século XVI, e os maiores produtores desse fruto são Bahia e São Paulo (BRAGA SOBRINHO, 2010).

Tem reconhecida importância farmacológica, atuando como matéria prima de cosméticos, perfumaria, uso na medicina natural, além de apresentar atividade antimicrobiana e inseticida devido à presença de constituintes bioativos, principalmente, as acetogeninas (SILVA, 2017).

Toda a produção brasileira de anonáceas é comercializada para o consumo interno da fruta fresca e processada (GOMES, 2013).

1.4.6.3 *Azadirachta indica* A. Juss

O neem (*A. indica*) é uma planta da família Meliaceae, de origem asiática, muito resistente e de rápido crescimento, alcança normalmente de 10 a 15 m de altura e produz madeira avermelhada, dura e resistente (ARAÚJO et al., 2000).

Os frutos, sementes, óleo, folhas, cascas do caule e raízes do neem possuem os mais variados usos e a azadiractina é considerada o princípio ativo mais importante e efetivo, que apresenta um amplo espectro de ação, incluindo desregulação do crescimento, redução do nível de ecdisona, indução de mudanças dramáticas no desenvolvimento e reprodução, além de prejuízos nos processos de muda dos insetos (BRAHMACHARI, 2004).

Os estudos sobre a persistência em campo de óleos extraídos de plantas são escassos, mas indicam que se degradam rapidamente (ISMAN, 2006) e dependem da volatilidade, da toxicidade e do tipo de óleo (essencial ou fixo) (COITINHO et al., 2010). Os trabalhos enfatizam a baixa permanência em campo como fator positivo e verificam a duração do período residual

(COITINHO et al., 2010), porém, poucos são os estudos sobre as alternativas para prolongar a permanência dos fitoquímicos em campo.

1.5 Emulsão

Uma abordagem mais sofisticada para a formulação de inseticidas não sintéticos, é a encapsulação, que se baseia no preparo de uma emulsão, com estratégias para prolongar a estabilidade dos óleos extraídos de plantas. As emulsões são basicamente dispersões, constituídas por um líquido disperso sob a forma de pequenas gotículas em outro líquido, sendo ambos imiscíveis (BRASIL, 2010), normalmente água e um óleo. A fase externa ou contínua é o líquido dispersante, enquanto que, o líquido disperso é frequentemente chamado de fase interna ou descontínua (AULTON, 2005; ANSEL et al., 2007).

Tem por objetivo encapsular sólidos ou líquidos dentro de matrizes poliméricas e que liberam o conteúdo em quantidades controladas em condições específicas (CUNHA-FILHO; SÁ-BARRETO, 2007) além da capacidade de modificar e melhorar a aparência e as propriedades de uma substância (SANTOS et al., 2003). Servindo assim, como estratégia para aumentar o tempo de atividade ao reduzir a volatilidade dos fitoquímicos (SOLOMON et al., 2012; ISMAN et al., 2013; MARTINS et al., 2014), bem como, melhorar a especificidade, potencializar a ação dos ingredientes e minimizar os impactos residuais (RISCH, 1995; REINECCIUS, 1995). Permitem uma maior molhabilidade, espalhamento e penetração, que são vantagens adicionais para o uso das emulsões como inseticidas biológicos (WANG et al., 2007).

Muitos óleos extraídos de plantas são pouco solúveis em água e o desenvolvimento de emulsões inseticidas é uma alternativa viável para o lançamento de novos produtos (LIM et al., 2012), podendo desempenhar um papel importante como pesticidas naturais para o manejo de insetos-praga, com potencial para aumentar a produtividade agrícola, além de, ao mesmo tempo, reduzir os impactos no meio ambiente, na saúde humana, melhorando o cenário agrícola.

1.6 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AGROFIT. 2016. **Sistema de agrotóxicos Fitossanitários do MAPA**. Disponível em: <<http://extranet.agricultura.gov.br/agrofit>>. Acesso: 12 jan. 2020.
- ANTUNES, O. T. et al. 2006. Floração, frutificação e maturação de frutos de morangueiro cultivados em ambiente protegido. **Horticultura Brasileira**, v. 24, p. 426-430.
- ARAÚJO, E. C. C. et al. 2003. Insecticidal activity and chemical composition of volatile oils from *Hyptis martiusii* Benth. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 51, p. 3760-3762.
- ARAÚJO, L. V. C.; RODRIGUEZ, L. C. E.; PAES, J. B. 2000. Características físico-químicas e energéticas da madeira de nim indiano. **Scientia Forestalis**, n. 57, p.153-159.
- ATAIDE, J. O. 2017. **Óleos Essenciais no Manejo de *Duponchelia fovealis* Zeller, 1847 (Lepidoptera: Crambidae)**. 80f. Dissertação de Mestrado em Produção Vegetal– Universidade Federal do Espírito Santo, Centro de Ciências Agrárias e Engenharias, Alegre, ES, Brasil.
- BAKKALI, F. et al. 2008. Biological effects of essencial oils – A review. **Food and Chemical Toxicology**, v. 46, n. 2, p. 446-475.
- BARBOSA, F. S. et al. 2011. Insecticide effects of *Ruta graveolens*, *Copaifera langsdorffii* and *Chenopodium ambrosioides* against pests and natural enemies in commercial tomato plantation. **Acta Scientiarum**, v. 33, n. 1, p. 37-43.
- BATISH, D.R. et al. 2008. *Eucalyptus* essencial oil as a natural pesticide. **Forest Ecology and Management**, v. 256, p. 2166-2174.
- BETHKE, L.; VANDER MEY, B. 2010. **Pest Alert: *Duponchelia fovealis***. **University of California Cooperative Extension San Diego**, p.1-3. Disponível em: <<http://ucanr.org/sites/cetest/files/55177.pdf>>. Acesso: 24 nov. 2019.
- BRAGA SOBRINHO, R. 2010. Potencial de exploração de annonaceas no Nordeste do Brasil. EMBRAPA Agroindústria Tropical. **XII Agroflores – 17ª Semana Internacional da Fruticultura, Floricultura e Agroindústria**.
- BRAHMACHARI, G. 2004. Neem – An omnipotent plant: a retrospection. **Chemistry and Biochemistry**, v. 5, p. 408-421.
- BRAMBILA, J.; STOCKS, I. 2010. The European Pepper Moth, *Duponchelia fovealis* Zeller (Lepidoptera: Crambidae), a Mediterranean Pest Moth Discovered in Central Florida. **Pest Alert created**, p.1-4.
- CASTRO, D. P. 2004. **Atividade inseticida de óleos essenciais de *Achillea millefolium* e *Thymus vulgaris* sobre *Spodoptera frugiperda* e *Schizaphisgraminum***. 73f. Dissertação- Área de Concentração em Agroquímica e Agrobioquímica, Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG.

COITINHO, R. L. B. C. de et al. 2010. Persistência de óleos essenciais em milho armazenado, submetido à infestação de gorgulho do milho. **Ciência Rural**, v. 40, n. 7.

COSTA, C. L. da. 2015. Caracterização físico-química de óleos fixos artesanais do coco babaçu (*Orbignya phalerata*) de regiões ecológicas do estado do Maranhão, Brasil. **Pesquisa em foco**, v. 20, n. 1, p. 27-38.

CUNHA-FILHO, M. S. S.; SÁ-BARRETO, L. C. L. 2007. Utilização de ciclodextrinas na formação de complexos de inclusão de interesse farmacêutico. **Revista de Ciências Farmacêuticas Básica e Aplicada**, v. 28, n.1, p.1-9.

DAROLT, M. R. 2008. Morango orgânico: opção sustentável para produtores, consumidores e meio ambiente. **Revista campo & negócio**, v. 2, n.34, p. 58-61.

DEDOV, V. N. et al. 2002. Gingerols: a novel class of vanilloid receptor (VR1) agonists. **British Journal of Pharmacology**, v. 137, n. 6, p. 793-8.

ELPO, E. R. S. 2004. **Cadeia produtiva do gengibre (*Zingiber officinale* Roscoe) no Estado do Paraná: análise e recomendações para melhoria da qualidade**. Tese (Doutorado em Agronomia), Universidade Federal do Paraná, Curitiba.

FADINI, M.A.M.; PALLINI, A.; VENZON, M. 2004. Controle de ácaros em sistema de produção integrada de morango. **Ciência Rural**, v. 34, n. 4, p. 1271-1277.

FAZOLIN, M. et al. 2007. Propriedade inseticida dos óleos essenciais de *Piper hispidinervum* C. Dc.; *Piper aduncum* e *Tanaecium nocturnum* (barb. Rodr.) Bur. & k. Shum sobre *Tenebrio molitor*, 1758. **Ciência e Agrotecnologia**, v. 31, n. 1, p. 113-120.

FELIPE, C. F. B. et al. 2008. Alterations in behavior and memory induced by essential oil of *Zingiber officinale* Roscoe (ginger) in mice are cholinergic-dependent. **Journal of Medicinal Plants Research**, v. 2, n. 7, p. 163-170.

FORNAZIER, M. J. et al. 2011. **Praga exótica no estado do Espírito Santo – *Duponchelia fovealis* Zeller, 1847 (Lepidoptera: Crambidae)**. Morango mais saudável – Morango monitorado e rastreado. Vitória, ES. (Folder).

FRANCO, M. C.; BAPTISTA, M. C. 2010. *Duponchelia fovealis* Zeller nova praga em Portugal. **Revista Frutas, Legumes e Flores**, v. 110, p. 34-35.

GALLO, D. et al. 2002. **Entomologia agrícola**. Piracicaba, Fealq, 920p.

GARCIA, I. P.; CHIAVEGATO, L.G. 1997. Resposta funcional e reprodutiva de *Phytoseiulus macropilis* (Banks, 1905) (Acari: Phytoseiidae) a diferentes densidades de ovos de *Tetranychus urticae* (Koch, 1836) (Acari: Tetranychidae). **Científica**, v. 25, p. 35-43.

- GOMES, I. B. 2013. **Toxicidade e Formulação de Extratos de *Annona muricata* L. (Annonaceae) para o Controle de *Plutella xylostella* (L.,1758) (Lepidoptera: Plutellidae)**. Dissertação de Mestrado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Proteção de Plantas, do Centro de Ciências Agrárias da Universidade Federal de Alagoas.
- HAWKINS, B.A.; CORNELL, H.V. 1999. **Theoretical approaches to biological control**. Cambridge: Cambridge University. 412p.
- HEUSDEN, E. C. H. 1992. Flowers of Annonaceae: morphology, classification and evolution. **Blumea**, v. 7, p.1-218.
- HOFFMAN, K. 2010. Plant health and pest prevention services pest detection-emergency projects. A crambid moth: *Duponchelia fovealis* (Zeller). **County of Kern**, p. 1-2.
- HOFFMAN, K. 2013. **Plant health and pest prevention services - pest detection/ emergency projects**. Disponível em: <https://www.cdfa.ca.gov/plant/PDEP/>. Acesso em 24 de nov 2019.
- ILBOUDO, Z. et al. 2010. Biological activity and persistence of four essential oil towards the main pest of stored cowpeas, *Callosobruchus maculatus* (F.) (Coleoptera: Bruchidae). **Journal of Stored Products Research**, v. 46, n. 2, p. 124-128.
- INCAPER. 2018. **Morango capixaba: garantia de qualidade**. Informativo especial do Instituto Capixaba de Pesquisa, Assistência Técnica e Extensão Rural. Ano 1. n.1.
- ISMAN, M. B. 2006. Botanical insecticides, deterrents, and repellents in modern agriculture and an increasingly regulated world. **Annual Review of Entomology**, v. 51, n. 1, p. 45-66.
- ISMAN, M. B. 2008. Perspective botanical insecticides: for richer, for poorer. **Pest Management Science**, v. 64, p. 8- 11.
- ISMAN, M. B. 2013. Plant essential oils for pest and disease management. **Crop Protection**, v. 19, p. 603- 608.
- KRINSKI, D.; MASSAROLI, A.; MACHADO, M. 2014. Potencial inseticida de plantas da família Annonaceae. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 36, n. spe1, p. 225- 242.
- LIM, C.J. et al. 2012. Green nanoemulsion-laden glyphosate isopropylamine formulation in suppressing creeping foxglove (*A. gangetica*), slender button weed (*D. ocimifolia*) and buffalo grass (*P. conjugatum*). **Pest Management Science**, v. 69, p. 10-11.
- LIU, J. K. et al. 1990. Insect antifeeding agents: Sesquiterpene alkaloids from *Celastrus angulatus*. **Phytochemistry**, v. 29, n. 2503.

- LUMMEN, P. 1998. Complex I inhibitors as insecticides and acaricides. **Biochimica et Biophysica Acta**, v. 1364, n. 2, p. 287–296.
- MAGALHÃES, M. T. et al. 1997. Gengibre (*Zingiber officinale* Roscoe) brasileiro: aspectos gerais, óleo essencial e oleoresina. parte 2 - secagem, óleo essencial e oleoresina. **Food Science and Technology**, v. 17, n. 2, p. 132-136.
- MARTINS, I. M. et al. 2014. Microencapsulation of essential oils with biodegradable polymeric carriers for cosmetic applications. **Chemical Engineering Journal**, v. 245, p. 191- 200.
- OLIVEIRA, R.P.; SCIVITTARO, W.B. 2006. Desempenho produtivo de mudas nacionais e importadas de morangueiro. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 28, n. 3, p. 520-522.
- OOTANI, M. A. et al. 2013. Use of Essential Oils in Agriculture. **Journal of Biotechnology and Biodiversity**, v. 4, n. 162.
- PAES, J.P.P.; PIROVANI, V.D.; PRATISSOLI, D. 2015. Lagarta do morangueiro. In: PRATISSOLI, D. (org.). **Pragas emergentes no estado do Espírito Santo**. Alegre, Unicopy. cap. 13, p. 88-95.
- PAES, J. P. P. et al. 2018. Selection of parasitoids of the genus *Trichogramma* (Hymenoptera: Trichogrammatidae) and parasitism at different eggs ages of *Duponchelia fovealis* (Lepidoptera: Crambidae). **Acta Scientiarum**, v. 40, e 42216.
- PARRA, J. R. P. 1997. Técnica de criação de *Anagasta kuehniella*, hospedeiro alternativo para produção de *Trichogramma*. In: PARRA, J. R. P.; ZUCCHI, R. A. **Trichogramma e o controle biológico aplicado**. Piracicaba, FEALQ, p. 121-150.
- PARRA, J. R. P.; CÔNSOLI, F. L. 2009. Criação massal e controle de qualidade de parasitoides de ovos, p.169-198. In: BUENO, V. H. P. **Controle biológico de pragas: produção massal e controle de qualidade**. Lavras: Editora UFLA.
- PIJNAKKER, J. 2001. *Duponchelia fovealis*, the dreaded lepidopteran of pot plants in the Netherlands. (*Duponchelia fovealis*, le lepidoptere redoute des plantes en pot aux Pays-Bas.). **PHM Revue Horticole**, v. 429, p. 51-53.
- PIROVANI, V. D. 2016. **Métodos de manejo para *Duponchelia fovealis* Zeller (Lepidoptera: Crambidae) na cultura do morangueiro**. Tese de Doutorado em Produção Vegetal– Universidade Federal do Espírito Santo, Centro de Ciências Agrárias e Engenharias, Alegre, ES, Brasil.
- PRATISSOLI, D. et al. 2015. **Manejo de pragas para a cultura do morangueiro: sem resíduo de agrotóxico**. Alegre: Nudemafi. 64p. (Nudemafi: Série Técnica n. 2).

- REINECCIUS, G. A. 1988. Spray-drying of food flavors. In: RISCH, S.J.; REINECCIUS, G.A. **Flavor encapsulation**. Washington, DC: ACS, p. 55-66.
- REISSER JÚNIOR, C.; ANTUNES, L. E. C.; GONCALVES, M. A. 2014. Panorama do cultivo de morangos no Brasil. **Revista Campo & Negócios HF**, v. 8, p. 58-59.
- RISCH, S.J. 1995. Encapsulation: overview of uses and techniques. In: RISCH, S. J.; REINECCIUS, G. A. **Encapsulation and controlled release of food ingredients**. Washington, DC: ACS, p. 2-7.
- SALOMÃO, K. P. O. S. 2014. **Extratos vegetais e *Bacillus thuringiensis* visando o manejo de *Duponchelia fovealis* Zeller (Lepidoptera: Crambidae)**. 60f. Dissertação (Mestrado em Produção Vegetal – Fitossanidade). Universidade Federal do Espírito Santo, Alegre, Brasil.
- SANTOS, A. C. A., SERAFINI, L. A., CASSEL, E. 2003. **Estudo de processos de extração de óleos essenciais e bioflavonóides de frutas cítricas**. Caxias do Sul: EDUCS, p. 19-29.
- SANTOS, F.M. et al. 2019. Toxicity of Insecticides in *Duponchelia fovealis* Zeller (Lepidoptera: Crambidae), a New Strawberry Pest in Brazil under Laboratory Conditions. **Journal of Experimental Agriculture International**, v. 39, n. 5, p. 1-7.
- SILVA, A. D. R. da. 2017. **Extração e caracterização do óleo das sementes do fruto da graviola (*Annona muricata* L.)**. Dissertação (Mestrado em Energia da Biomassa), Universidade Federal de Alagoas, Centro de Ciências Agrárias, Rio Largo, Alagoas.
- SMITH, R. M.; ROBINSON, J. M. 1981. The essential oil of ginger from Fiji. **Phytochemistry**, v. 20, p. 203- 206.
- SOLOMON, B. et al. 2012. Microencapsulation of citronella oil for mosquito-repellent application: Formulation and in vitro permeation studies. **European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics**, n. 80, p. 61–66.
- SOUZA, J.C. et al. 2013. **Ocorrência de nova praga nas lavouras de morango no Sul de Minas**. EPAMIG. Circular Técnica n. 180, p. 1-5.
- SOUZA, R.F.C.; FERRAZ-FREITAS, P. N.; OLIVEIRA, W. P. 2016. Complexos de inclusão binários, ternários e quaternários contendo óleo essencial de *Lippia sidoides*. **Química Nova**, v. 39, n. 8, p. 979-986.
- STOKES, S. D.; HODGES, A. 2013. European pepper moth or southern European marsh pyralid. **University of Florida**. p.1-16. Disponível em: <http://entnemdept.ufl.edu/creatures/veg/leps/european_pepper_moth.htm>. Acesso: 24 nov. 2019.
- TUNAZ. H. 2004. Insect growth regulators for insect. **Turkish Journal of Agriculture and Forestry**, v. 28, p. 377–387.

- VIEIRA, N. A. et al. 2014. Efeito anti-inflamatório do gengibre e possível via de sinalização. **Semina: Ciências Biológicas e da Saúde**, Londrina, v. 35, n. 1, p. 149-162.
- WANG, L. et al. 2007. Oil-in-water nanoemulsions for pesticide formulations. **Journal of Colloid and Interface Science**, v. 314, p. 230-235.
- WHITE, J. 2012. **Greenhouse pest alert: The european pepper moth, *Duponchelia fovealis***, University of Kentucky. Disponível em: <https://entomology.ca.uky.edu/files/efpdf2/ef324.pdf> . Acesso em: 27 de nov. de 2019.
- ZAFRA-POLO, M. C. et al. 1996. Acetogenins from Annonaceae, inhibitor of mitochondrial complex I. **Phytochemistry**, v. 42, p. 253-271.
- ZARATE, R.; SUKRASNO; YEOMAN, M. M. 1992. Application of two rapid techniques of column chromatography to separate the pungent principles of ginger, *Zingiber officinale* Roscoe. **Journal of Chromatography**, v. 609, p. 407 – 413.
- ZAWADNEAK, M.A.C. et al. 2011. ***Duponchelia fovealis*: nova praga em moranguerio no Brasil.** Disponível em: <<http://www.todafruta.com.br/portal/icNoticiaAberta.asp?idNoticia=23602>>. Acesso em 06 de nov. 2019.
- ZIMMERMANN, O.; VON, D.E. 2004. Der Einsatz von *Trichogramma*-Schlupfwespen in Deutschland. **Gesunde Pflanzen**, v. 56, p. 157-166.

2 CAPÍTULO II

Óleos vegetais: Caracterização, formulação e toxicidade de emulsões sobre *Duponchelia fovealis* Zeller, 1847 (Lepidoptera: Crambidae)

RESUMO

A utilização de óleos vegetais com atividade inseticida, vem se destacando como uma alternativa no controle de pragas. Uma forma de manter a estabilidade desses produtos é através do encapsulamento, por emulsão, que são basicamente dispersões constituídas por um líquido disperso sob a forma de pequenas gotículas em outro líquido, sendo ambos imiscíveis, normalmente água e um óleo. Objetivou-se determinar a composição química dos óleos de gengibre (*Zingiber officinale* Roscoe (Zingiberaceae)) e graviola (*Annona muricata* Linn), formular emulsões estáveis e avaliar a atividade inseticida, contra *D. fovealis*, das emulsões formuladas com estes óleos e o de neem (*Azadirachta indica* A. Juss). As emulsões estáveis foram compostas por fase oleosa (óleos de gengibre, graviola e neem), emulsificante à base de poliálcool de frutas (em processo de patente), etanol e água. Após permanecerem estáveis, o efeito inseticida foi testado sobre ovos com 24 e 72 horas e lagartas de 1º e 2º instar de *Duponchelia fovealis*. Os compostos majoritários do óleo essencial de gengibre foram α -zingibereno (29%), geranial (14,9%) e α -farneceno (12,9%) e o óleo de graviola, há um maior percentual de ácido oleico (43,73%), ácido linoleico (29,51%) e ácido palmítico (20,50%). A CL₅₀ dos óleos de graviola, neem e gengibre foram de 0,545%, 0,578% e 0,726 sobre ovos de 24 horas; 0,647%, 0,635% e 0,730% em ovos de 72 horas; 0,474%, 0,473% e 0,602% para lagartas de 1º instar; 2,25%, 1,02% e 0,624% para lagartas de 2º instar de *D. fovealis*, respectivamente. As três emulsões formuladas permaneceram estáveis e apresentaram toxicidade contra *D. fovealis* em todos os estágios de desenvolvimento da praga estudados.

Palavras-chaves: Encapsulamento; Inseticida botânico; Controle alternativo.

**Vegetable oils: Characterization, formulation and toxicity of emulsions on
Duponchelia fovealis Zeller, 1847 (Lepidoptera: Crambidae**

ABSTRACT

The use of vegetable oils with insecticidal activity has been highlighted as an alternative in pest control. One way to maintain the stability of these products is through encapsulation, by emulsion, which are basically dispersions consisting of a liquid dispersed in the form of small droplets in another liquid, both of which are immiscible, usually water and an oil. The objective was to determine the chemical composition of the oils of ginger (*Zingiber officinale* Roscoe (Zingiberaceae)) and soursop (*Annona muricata* Linn), formulate stable emulsions and evaluate the insecticidal activity, against *D. fovealis*, of the emulsions formulated with these oils and that of neem (*Azadirachta indica* A. Juss). The stable emulsions were composed of an oily phase (ginger, soursop and neem oils), a fruit-based polyalcohol emulsifier (in patent process), ethanol and water. After remaining stable, the insecticidal effect was tested on eggs with 24 and 72 hours and caterpillars of 1st and 2nd instar of *Duponchelia fovealis*. The major compounds of the essential oil of ginger were α -zingiberene (29%), geranial (14.9%) and α -farnecene (12.9%) and soursop oil, there is a higher percentage of oleic acid (43, 73%), linoleic acid (29.51%) and palmitic acid (20.50%). The LC₅₀ of soursop, neem and ginger oils were 0.545%, 0.578% and 0.726 for 24-hour eggs; 0.647%, 0.635% and 0.730% in 72-hour eggs; 0.474%, 0.473% and 0.602% for 1st instar caterpillars; 2.25%, 1.02% and 0.624% for *D. fovealis* 2nd instar caterpillars, respectively. The three formulated emulsions remained stable and showed toxicity against *D. fovealis* in all studied stages of pest development.

Keywords: Encapsulation; Botanical insecticide; Alternative control.

2.1 INTRODUÇÃO

Duponchelia fovealis, trata-se de um inseto praga de importância, pois as lagartas alimentam-se das folhas, brotos, flores, pseudofrutos e restos vegetais, podendo levar a planta a morte, quando o ataque incide no colo da planta, devido ao interrompimento do fluxo de seiva. (BRAMBILA; STOCKS, 2010, FRANCO; BAPTISTA, 2010).

Por ser uma praga exótica, identificada em 2010 no Espírito Santo, ainda há uma carência de métodos de manejo eficientes (PAES et al., 2015; PRATISSOLI et al., 2015). Sendo assim, o uso de inseticidas botânicos é uma alternativa viável e segura para o manejo de *D. fovealis*, diante do uso intensivo de inseticidas sintéticos na produção de morango no Brasil, que induz a seleção de espécies resistentes, dentre outros problemas (JAN et al., 2015; ZHANG et al., 2015).

Produtos naturais extraídos de plantas são fontes de substâncias que podem ser utilizadas no controle de insetos praga e são compatíveis com programas de manejo fitossanitário (SHIN-FOON; YU-TONG, 1993), pois são seletivos, biodegradáveis e têm poucos efeitos sobre organismos não-alvo (ISMAN, 2000).

Dentre estes, o óleo essencial de rizomas de gengibre (*Zingiber officinale*), pode ser promissor no manejo de *D. fovealis*, por possuir atividade larvicida em diversos insetos-pragas, como *Spodoptera frugiperda* J.E. Smith, 1797 (Lepidoptera: Noctuidae), *Ceratitis capitata* Wiedemann, 1824 (Diptera: Tephritidae) e *Callosobruchus maculatus* Fabricius, 1775 (Coleoptera: Bruchidae) (KNAAK et al., 2010; ROHDE et al., 2013; LONI; PANAH, 2015). Além disso, sesquiterpenos contidos no óleo, em testes preliminares, indicaram forte efeito supressor de apetite em *Pieris rapae* Linnaeus 1758 (Lepidoptera: Pieridae), *Ostrina furnacalis* Gueneé, 1854 (Lepidoptera: Pieridae) e *Tribolium castaneum* Herbst, 1797 (Coleoptera: Tenebrionidae) (LIU et al., 1990).

Outro óleo com potencial inseticida é o de graviola (*A. muricata*), por apresentar as acetogeninas, uma classe de metabólitos secundários, encontrada exclusivamente na família Annonaceae, que atuam nas mitocôndrias, inibindo a nicotinamida-adenina-dinucleotídeo ubiquinona

oxirredutase (NADH), causando a morte dos insetos (KRINSKI et al., 2014; LUMMEN, 1998; ZAFRA-POLO et al., 1996).

O óleo de neem (*Annona indica*), já tem a ação inseticida conhecida, sendo essa, comprovada sobre mais de 400 espécies de insetos e ácaros, causando os mais diversos efeitos como repelência, antixenose, atraso ou interrupção do desenvolvimento e da ecdise, redução da fertilidade e fecundidade e diversas outras alterações no comportamento e na fisiologia dos insetos, controlando a população de insetos (MARTINEZ, 2002; DHAR et al., 1998).

Contudo, um dos problemas para utilização de óleos no manejo de pragas agrícolas é a estabilidade e o seu tempo de eficiência. Segundo Fonseca et al. (2013), o desenvolvimento de formulações encapsuladas podem trazer melhorias em potência e estabilidade físico-química de óleos extraídos de plantas, reduzir a alta volatilidade e decomposição térmica, entre outras dificuldades, pois o produto final deve ser estável, apresentar atividade do bioativo, alta eficiência de encapsulamento, descrição de liberação reprodutível e não estar agregado às partículas.

Uma maneira de encapsular óleos de origem vegetais é pelo desenvolvimento de emulsões, que é a mistura entre o composto a ser encapsulado (material ativo chamado de núcleo) e o agente de encapsulação (um polímero como material de parede) (SANTOS et al., 2003).

Nesse contexto, o desenvolvimento de novas formulações encapsuladas pode oferecer uma maneira de melhorar a eficiência e eficácia desses produtos naturais, oferecendo mais segurança para humanos e o meio ambiente.

Objetivou-se extrair e caracterizar o óleo essencial de *Z. officinale* e óleo fixo de *A. muricata*, desenvolver uma emulsão contendo fração apolar proveniente dos óleos de *Z. officinale*, *A. muricata* e *Azadirachta indica* e avaliar a atividade inseticida destas emulsões sobre *D. fovealis*

2.2 MATERIAL E MÉTODOS

2.2.1 Criação de *Duponchelia fovealis*

A criação de *D. fovealis* foi estabelecida no setor de entomologia do Núcleo de Desenvolvimento Científico e Tecnológico em Manejo Fitossanitário de Pragas e Doenças (NUDEMAFI), do Centro de Ciências Agrárias e Engenharias da Universidade Federal do Espírito Santo (CCA-UFES).

Os insetos foram mantidos em laboratório sob condições de $25 \pm 1^\circ\text{C}$, $70 \pm 10\%$ de umidade relativa e 14 horas de fotofase. Adultos recém-emergidos foram transferidos para gaiolas (20 x 20 cm) confeccionadas com tubo do tipo PVC, forrado internamente com papel sulfite e fechadas na base inferior com isopor, também revestido com papel sulfite. A extremidade da gaiola foi fechada com tecido do tipo *voile* para evitar a fuga dos insetos. Como alimento para os adultos foi oferecido uma solução de mel a 10% embebido em algodão. As posturas foram recolhidas diariamente por meio da troca do papel que revestia as gaiolas e imediatamente acondicionadas em caixas de acrílico (11 x 11 x 3,5 cm) do tipo Gerbox®.

Para eliminação da contaminação fúngica, pedaços de papéis contendo aproximadamente seis a sete os ovos foram tratados através da imersão por 10 segundos em solução de formaldeído em 1% e posteriormente em solução de sulfato de cobre em 17%. Este procedimento foi realizado em câmara de fluxo laminar onde permaneceram até secagem do material. Após este procedimento, foram transferidos para tubos de vidro de fundo chato (8,5 x 2,5 cm) contendo dieta artificial proposta por King; Hartley (1985) modificada, para obtenção de adultos de *D. fovealis*. Estas lagartas permaneciam nos tubos até a fase de pupa. Após o terceiro dia da fase pupal, as mesmas foram retiradas dos tubos e transferidas para gaiolas de criação para emergência dos adultos.

2.2.2 Óleo fixo de *Annona muricata*

2.2.2.1 Obtenção do material vegetal

Os resíduos de graviola recém processados foram adquiridos no mês de março de 2017, na unidade de produção de polpa de fruta (Papafruta®), localizada no município de Mimoso do Sul, Espírito Santo e transportados para o Laboratório de Química Aplicada do Ifes - Campus de Alegre.

2.2.2.2 Resíduo de graviola

Pesou-se 400,0 g de resíduo de graviola e posteriormente, ocorreu à separação manual das sementes e secagem em estufa de circulação forçada de ar (MARCONI, modelo MA 035/5) a 55 °C por 72h, período este suficiente para que as sementes apresentassem características visuais que estavam secas, como a crocância das mesmas. As cascas foram retiradas manualmente das sementes, as quais depois de descascadas tiveram sua massa aferida e o seu rendimento determinado.



Fonte: Souza, 2018.

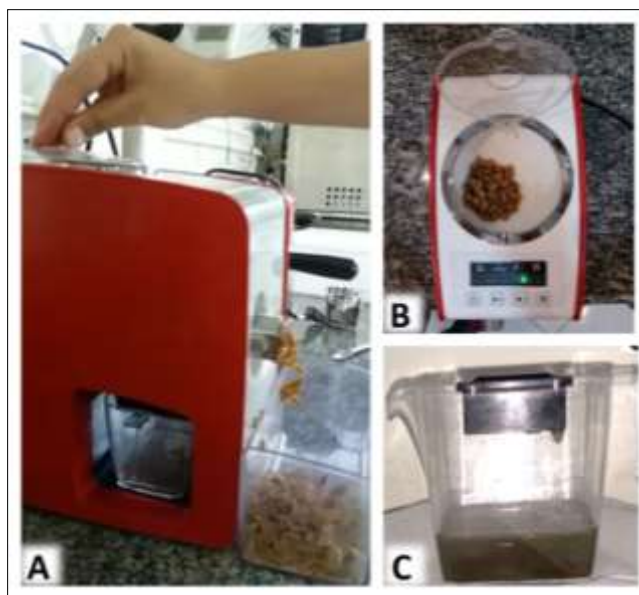
Figura 1 – Resíduo de graviola obtido do processamento da polpa para obtenção das sementes: resíduo (A), sementes secas (B) e sementes secas descascadas (C).

2.3.2.3 Preparo das sementes no resíduo

As sementes foram armazenadas em freezer a – 20°C para posterior análise centesimal e extração do óleo.

2.3.2.4 Extração do óleo de graviola via extrusão

Pesou-se 100,0 g de sementes e efetuou-se a extração do óleo em Extrator de Óleo Gourmet (HOME UP, modelo MQO 001) (Figura 2). A fração lipídica foi transferida para tubos Falcon e centrifugada a 2500rpm por cinco minutos. A massa do óleo resultante foi medida e o rendimento determinado.



Fonte: Souza, 2018

Figura 2 - Extração do óleo da semente de graviola por extrusão: processo de extração (A), sementes de graviola descascadas dentro do extrator (B) e fração lipídica proveniente da extrusão (C).

2.2.2.5 Análise do perfil cromatográfico de ácidos graxos do óleo de graviola

As amostras foram derivatizadas e analisadas por cromatografia gasosa acoplada a espectrometria de massa (CG-EM), no Laboratório de Química Aplicada do Ifes - Campus de Alegre. A identificação dos componentes dos óleos foi realizada por comparação dos espectros de massas do banco de dados do aparelho (NIST 2.0), com dados da literatura e também com injeção de soluções de substâncias-padrão. O percentual relativo de cada composto foi calculado através da razão entre a área integral dos respectivos picos e a área total de todos os constituintes da amostra.

Em balão de fundo redondo (50 mL) foi adicionado 20,00 mg da amostra. Em seguida, adicionou-se 5 mL de solução de KOH em metanol ($0,5 \text{ mol L}^{-1}$, m/v) que foi aquecido a $100 \text{ }^\circ\text{C}$ por 1 h, sob refluxo. Para a esterificação, 2 mL de solução de HCl em metanol (4:1, v/v) foram adicionados à mistura e aquecida novamente à $100 \text{ }^\circ\text{C}$, por 1 h. Procedeu-se à extração dos ésteres metílicos; em que, após o resfriamento, acrescentou-se 5,0 mL de H_2O destilada e, em seguida, os derivados obtidos foram extraídos com diclorometano (3 x 5,0 mL).

Após a extração, a fase orgânica foi seca com sulfato de magnésio anidro, filtrada e concentrada. O resíduo obtido, após completa remoção do solvente foi redissolvido em 1,00 mL de diclorometano e analisado por CG-EM.

As análises cromatográficas foram realizadas em cromatógrafo a gás da Agilent Technologies (GC 7890A) equipado com detector de massas (CG-EM) e coluna capilar DB-23 (Agilent Technologies, 60 m comprimento x 0,25 mm diâmetro interno x 0,25 µm espessura do filme). Como gás de arraste, foi utilizado Hélio (99,9999% de pureza) a uma taxa de 1,0 mL min⁻¹.

Utilizando um auto-injetor (CTC combiPaL), 1 µL da amostra foi injetada no cromatógrafo a uma razão de splitless. O injetor split/splitless foi mantido a 250 °C. A coluna cromatográfica inicialmente a 50 °C foi mantida em isoterma por 1 min e posteriormente aquecida a uma taxa de 25 °C min⁻¹ até 175 °C e, em seguida, a temperatura foi elevada até 230 °C a uma taxa de 4 °C min⁻¹, permanecendo por 15 minutos. Após a separação dos compostos a temperatura foi elevada até 240 °C e permanecendo nessa temperatura por 2 minutos (post run). A temperatura da interface foi mantida a 280 °C e a ionização realizada com impacto de 70 eV. A amplitude de varredura de m/z foi de 30 a 600 Da.

2.2.3 Óleo essencial de *Zingiber officinale*

2.2.3.1 Obtenção do material vegetal

Os rizomas de gengibre foram adquiridos no comércio local de Alegre, ES, Brasil, nos meses de abril e julho de 2017 e maio e agosto de 2018.

2.2.3.2 Extração do óleo essencial de gengibre

A extração do óleo essencial foi realizada por meio da hidrodestilação do material vegetal fresco e triturado em um aparelho Clevenger de acordo com a metodologia proposta por Souza et al. (2017) com adaptações. Em um balão de fundo redondo de 2L foi adicionado aproximadamente 60g da planta e 700 mL de água destilada, sendo destilados por quatro horas. O hidrolato (água e óleo essencial) foi coletado e submetido à centrifugação a 6.000 RPM por 10 minutos (Figura 3). Após a centrifugação o óleo essencial foi separado e pesado para determinação do rendimento de extração (% m/m, com base em

biomassa seca). O óleo essencial foi armazenado em um frasco de vidro âmbar e protegido da luz à temperatura inferior a 0°C.

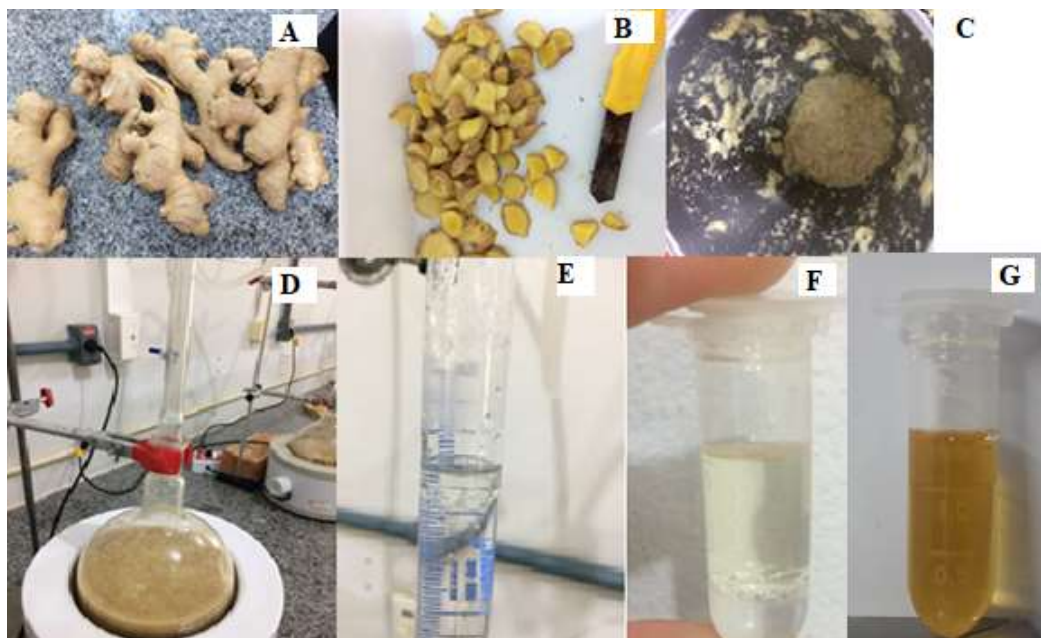


Figura 3- Processo de extração do óleo essencial de gengibre: (A) Rizomas in natura; (B) Rizomas fracionados; (C) Rizomas triturados; (D) Massa do rizoma e água, num aparelho Clevenger; (E e F) Hidrolato recolhido (G) Óleo essencial de *Zingiber officinale* coletado.

2.2.3.3 Caracterização dos constituintes químicos presentes no óleo essencial de gengibre

A caracterização dos constituintes químicos de *Z. officinale* foi realizada no Laboratório de Química Aplicada do Ifes - Campus de Alegre. A amostra do óleo essencial foi analisada por cromatografia gasosa com detector de ionização de chama (GC/FID) (Shimadzu GC-2010 Plus) e por cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massa (GC/MS) (Shimadzu QPMS-2010) seguindo a metodologia adaptada de Souza et al. (2017). Foram empregadas em ambas as análises as seguintes condições cromatográficas: coluna capilar de sílica fundida (30 m x 0,25 mm) com fase estacionária DB5 (0,25 µm de espessura do filme); N₂ (em análise de GC/FID) e He (em análises de GC/MS) como gás de arraste com fluxo de 3,0 mL/min. A temperatura do forno permaneceu por 3 minutos a uma temperatura inicial de 40°C e em seguida esta temperatura foi aumentada gradativamente em 3°C/minuto até atingir 240°C,

mantendo-se nesta por 5 minutos. A temperatura do injetor foi de 250°C e a do detector de 280 °C e a razão de split de 1:30.

As análises por GC/MS foram realizadas em equipamento operando por impacto eletrônico com energia de impacto de 70 elétron-volt (eV), com velocidade de varredura de 1.000, intervalo de varredura de 0,50 fragmentos/segundo e fragmentos detectados de 29 a 400 (m/z).

A identificação dos componentes foi realizada pela comparação de seus espectros de massas com os disponíveis no banco de dados da espectroteca Willey7, NIST05, NIST05s com a co-injeção de padrões e pelos Índices de Retenção com Programação Linear de Temperatura (LTPRI). Para o cálculo dos LPTRI, foi utilizada uma mistura de n-alcenos lineares (C7 a C40). O LTPRI foi calculado para cada composto e posteriormente comparado com valores da literatura (ADAMS, 2007; NIST, 2011), sendo calculado através da equação:

$$LTPRI = 100Z + 100 \times \frac{[(t'_{RX}) - (t'_{RZ})]}{(t'_{RZ} + 1) - (t'_{RZ})}$$

Onde X: é o composto de interesse; Z: é o número de átomos de carbono do hidrocarboneto com tempo de retenção anterior ao tempo de retenção de X; t'_{RX}: é o tempo de retenção do composto de interesse; t'_{RZ}: é o tempo de retenção do hidrocarboneto anterior ao composto de interesse e t'_{RZ} +1: é o tempo de retenção do hidrocarboneto posterior ao composto de interesse.

A reprodutibilidade injetável (GC-FID) foi verificada pela adição do controlador DMA externo, levando-se em consideração os compostos com área relativa acima de 1% do perfil cromatográfico.

2.2.4 Óleo fixo *Azadirachta indica*

O óleo de neem concentrado já é um produto comercial e foi adquirido da empresa Quimiagri (Validade: 03/06/2023 e lote MA9H5).

2.2.5 Preparo das emulsões

Formulou-se uma série de emulsões, obtidas através da mistura de água, os diferentes tipos de óleos, emulsificante e etanol em proporções variáveis, até

que elas estivessem aparentemente estáveis (sem separação de fases). Após essas tentativas, as proporções que apresentaram os melhores resultados foram: o emulsificante à base de poliálcool de frutas, a 1% (m/v), etanol (5% v/v), fase oleosa (óleos de gengibre, graviola e neem), a 2% (v/v). Posteriormente, essas misturas foram adicionados em tubo Falcon (45 mL), permanecendo sob agitação por 5 minutos, no agitador de tubos Vortex. Em seguida, o restante da fase aquosa (água destilada) foi adicionado, completando o volume e a agitação prosseguiu por mais 5 minutos. Com base na estabilidade das emulsões iniciais, foram preparadas novas emulsões, com diferentes concentrações dos óleos, para testes de atividade inseticida.

2.2.6 Análise microscópica

A estabilidade das emulsões foi avaliada por análise microscópica (microscópio Leica DM500, com câmera acoplada, na lente de aumento 100x), observando-se aspectos físicos, como formação e tamanho das gotículas. As emulsões foram homogeneizadas, retirados com auxílio de uma pipeta, 10 microlitros dessas e depositada essa quantidade no centro da lâmina, cobrindo em seguida, com uma lamínula.

2.2.7 Avaliação da atividade inseticida

Os experimentos foram conduzidos em câmara climatizada do tipo B.O.D. (temperatura de 25 ± 1 °C, umidade relativa de $70 \pm 10\%$ e fotofase de 14 horas), no NUDEMAFI. Os testes foram realizados em embriões de 24 e 72 horas de idade e lagartas de 1^o e 2^o instar de *D. fovealis*. Com base em testes preliminares, observou-se que ingestão é a via em que ocorre a maior mortalidade de lagartas de 1^o e 2^o instar, sendo considerada somente essa via nos demais experimentos.

2.2.8 Ensaio em ovos

O ensaio foi realizado em embriões de *D. fovealis* nas idades de 24 e 72 horas, em cinco repetições com 20 ovos cada (Figura 4-A), as quais foram submetidas a oito concentrações pré-estabelecidas, que variaram de acordo com a idade do ovo e o óleo:

Óleo essencial de gengibre: ovos de 24 e 72 horas (0,00; 0,25; 0,32; 0,41; 0,52; 0,67; 0,86; 1,09 e 1,40%);

Óleo fixo de graviola: ovos de 24 horas (0,00; 0,10; 0,14; 0,21; 0,30; 0,43; 0,62; 0,90 e 1,30%) e ovos de 72 horas (0,00; 0,10; 0,15; 0,21; 0,31; 0,45; 0,66; 0,96 e 1,40%) e

Óleo fixo de neem: ovos de 24 e 72 horas (0,00; 0,10; 0,14; 0,21; 0,30; 0,42; 0,62; 0,90 e 1,30%).

As repetições foram montadas em placa de Petri® de 9 cm de diâmetro, forrada no fundo com papel filtro umedecido.

A emulsão foi preparada de acordo com a concentração, num volume de 15 ml e as massas de ovos foram imersas na mesma por 15 segundos, com auxílio de pinça (Figura 4-B), sendo retiradas e posteriormente transferidas para a placa de Petri® (Figura 4-C).

As placas de Petri® com os tratamentos foram mantidas em câmara climatizada climatizada do tipo B.O.D. a $25 \pm 1^\circ\text{C}$, $70 \pm 10\%$ de umidade relativa e 14 horas de fotofase.

Após 72 horas foi verificada a eclosão de lagartas nos diferentes tipos de óleo e concentrações.

Os dados de mortalidade foram submetidos à análise de probit, sendo os produtos comparados com base nas concentrações letais medianas (CL_{50}) e em seus respectivos intervalos de confiança (CARVALHO et al., 2017).

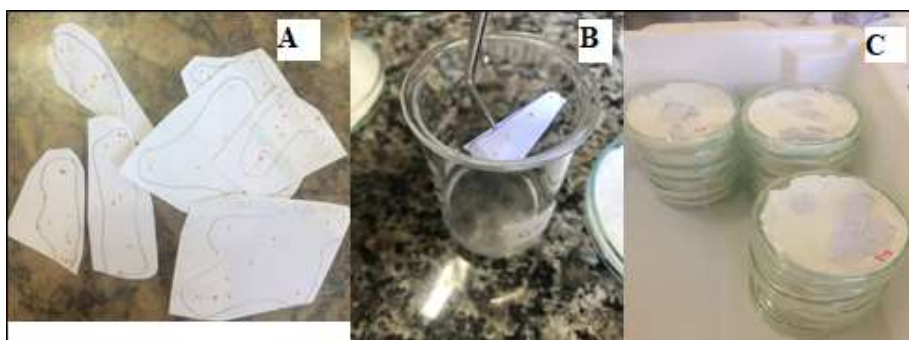


Figura 4- (A) Massa de ovos de *Duponchelia fovealis* (B) imersão dos ovos em emulsão e (C) lacas de Petri® vedadas, com os tratamentos.

2.2.9 Ensaio com lagartas de 1º e 2º instar

O ensaio foi realizado com lagartas de *D. fovealis* no 1º e 2º instar. Este foi composto por cinco repetições com 10 lagartas cada, as quais foram submetidas a oito concentrações pré-estabelecidas, que variaram de acordo com a idade da lagarta e o óleo:

Óleo essencial de gengibre: 1º instar (0,00; 0,50; 0,58; 0,68; 0,80; 0,93; 1,09; 1,28 e 1,50%) e 2º instar (0,00; 0,10; 0,15; 0,21; 0,31; 0,45; 0,66; 0,96 e 1,40%);

Óleo fixo de graviola: 1º instar (0,00; 0,10; 0,15; 0,21; 0,31; 0,45; 0,66; 0,96 e 1,40%) e 2º instar (0,00; 0,40; 0,53; 0,71; 0,95; 1,27; 1,69; 2,25 e 3,00%) e

Óleo fixo de neem: 1º instar (0,00; 0,10; 0,15; 0,21; 0,31; 0,45; 0,66; 0,96 e 1,40%) e 2º instar (0,00; 0,30; 0,42; 0,58; 0,80; 1,12; 1,55; 2,16 e 3,00%).

As repetições foram montadas em placa de Petri® de 9 cm de diâmetro, forrada no fundo com papel filtro umedecido.

A emulsão foi preparada de acordo com a concentração, num volume de 15 ml. Um pedaço de dieta artificial (1x1 cm) utilizada na criação foi imersa na mesma emulsão correspondente por 15 segundos, com auxílio de um objeto pontiagudo, sendo retirada e posteriormente transferidas para a placa de Petri®.

As placas de Petri® com os tratamentos foram mantidas em câmara climatizada do tipo B.O.D. a $25 \pm 1^\circ\text{C}$, $70 \pm 10\%$ de umidade relativa e 14 horas de fotofase.

Após 72 horas foi verificada a mortalidade das lagartas nos diferentes tipos de óleo e concentrações.

Os dados de mortalidade foram submetidos à análise de probit, sendo os produtos comparados com base nas concentrações letais medianas (CL_{50}) e em seus respectivos intervalos de confiança (CARVALHO et al., 2017).

2.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

2.3.1 Análise química da composição dos óleos

O rendimento do óleo essencial de rizomas de gengibre foi de 1,28% (m m^{-1}), similar ao encontrado por Ataíde (2017) (1,30% (m m^{-1})). Os rizomas para ambos os trabalhos foram adquiridos na mesma região.

Ao analisar o perfil cromatográfico do óleo essencial de gengibre, foram identificados 13 compostos (Figura 5), sendo que, os compostos predominantes encontrados, foram α -zingibereno (29,00%), geranial (14,90%) e α -farneceno (12,90) (tabela 1), corroborando com Ataíde (2017), que encontrou zingibreno (17,21%) e geranial (16,46%), como compostos majoritários, enquanto que, Sivasothy et al. (2011) encontraram canfeno (14,50%), geranial (14,30%) e acetato de geranil (13,70%) e Andrade et al. (2012) constataram que os constituintes majoritários no óleo essencial de rizoma de gengibre foram geranial (25,06%) e neral (16,47%). Como relatado anteriormente, o gengibre utilizado nesse estudo e no de Ataíde (2017), foram adquiridos na mesma região, diferindo das regiões dos demais autores. Isso demonstra que, a parte da planta, a fase de desenvolvimento e os fatores ambientais como tipo de solo, estação do ano, temperatura e luminosidade, podem alterar a composição química de óleos essenciais (MORAIS et al., 2009).

Através da análise cromatográfica do óleo da semente de graviola, observou-se que há ácido oleico em maior quantidade (43,73%), seguido de ácido linoleico (29,51%) e ácido palmítico (20,50%) (tabela 2), sendo esses três, os dominantes na lista de ácidos graxos naturais em relação ao interesse comercial (GUNSTONE, 2005). As espécies da família anonácea contêm triglicerídeos baseados em ácidos graxos saturados e insaturados nas sementes. Os ácidos oleico e linoleico são os ácidos graxos insaturados de maior importância, enquanto que, o ácido palmítico é um ácido graxo saturado (BRANDÃO et al., 2005).

O óleo de graviola contém vestígios de acetogeninas, que confere propriedades importantes e interesse a essa família botânica, por serem substâncias que atuam nas mitocôndrias, inibindo a NADH – ubiquinona

oxidorreductase, causando a morte dos insetos (ZAFRA-POLO et al., 1996; LUMMEN, 1998). Essas substâncias constituem uma classe de produtos naturais promissoras como agentes inseticidas, sendo encontradas nas cascas de galhos e raízes, raízes e, principalmente, em sementes de plantas da família Annonaceae (BERMEJO et al., 2005; CASTILLO-SÁNCHEZ et al., 2010).

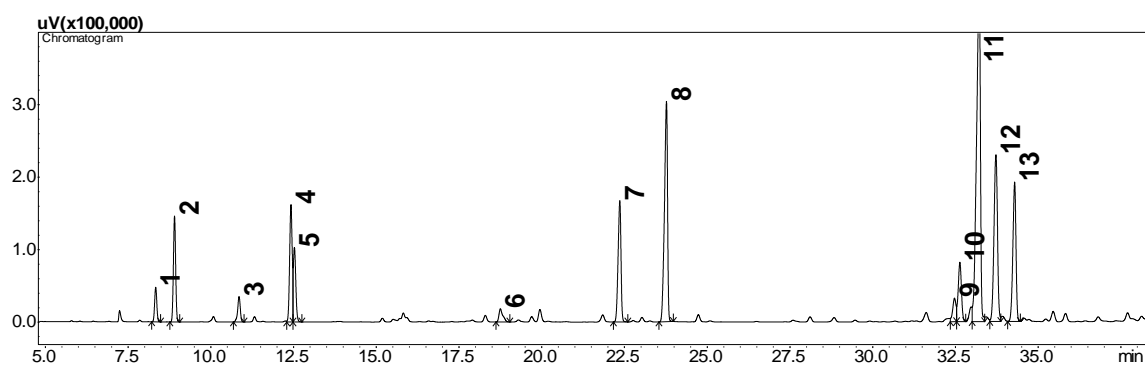


Figura 5. Perfil cromatográfico do óleo essencial de gengibre.

Tabela 1. Caracterização pelo índice LTPRI e CG-MS do óleo essencial de gengibre (*Zingiber officinale*)^[a].

Pico	Tempo de retenção (min)	Índice de retenção calculado ^[b]	Índice de retenção tabelado ^[c]	Nome do Composto	Área% ^[d]
1	8,334	931	932	α -Pineno	1,66
2	8,903	945	946	Canfeno	5,21
3	10,853	992	988	β -Mirceno	1,45
4	12,421	1027	1025	β -Phelladrene	6,70
5	12,526	1029	1026	Eucaliptol	4,00
6	18,749	1165	1165	Borneol	1,10
7	22,358	1243	1235	Neral	7,70
8	23,768	1274	1264	Geranial	14,90
9	32,470	1479	1484	Germacreno D	1,70
10	32,634	1483	1479	α -Curcumeno	4,20
11	33,217	1497	1493	α -Zingibereno	29,00
12	33,723	1511	1505	α -Farneceno	12,90
13	34,288	1526	1521	α Sesquiphellandrene	9,50

[a] Composto identificados pelo índice LTPRI e por CG-MS usando uma coluna Rtx®-5MS.[b] Calculado usando uma mistura de n-alcanos saturados (C7 a C40). [c] Índices tabelados com base em ADAMS, 2007. [d] Área relativa com base no cromatograma da Figura 5, identificados apenas compostos com área relativa > 1%.

Tabela 2 – Tipos de ácidos graxos presentes no óleo extraído das sementes de graviola

Ácido Graxo	Óleo fixo de sementes de graviola
	(%) Área
Ácido palmítico (C16:0)	20,50
Ácido linoleico (C18:2 $\Delta^{9,12}$)	29,51
Ácido oleico (C18:1 Δ^9)	43,73
Ácido esteárico (C18:0)	4,84
Ácido palmitoleico (C16:1 Δ^9)	1,42
Σ AGS	25,34
Σ AGMI	45,15
Σ AGPI	29,51
Σ AGI	74,66
AGI / AGS	2,95
Σ C18 / Σ C16	3,56

AGS – ácido graxo saturado, AGMI – ácido graxo monoinsaturado, AGPI – ácido graxo poli-insaturado, AGI – ácido graxo insaturado, Σ C18/ Σ C16 – relação entre o somatório dos ácidos graxos com 18 carbono e somatórios dos ácidos graxos com 16 carbonos.

2.3.2 Emulsão

As emulsões contendo as misturas dos óleos de gengibre/graviola/neem, etanol, emulsificante e água permaneceram estáveis durante um período de observação de 24 horas, ou seja, não ocorreu separação de fases, tendo apresentado aparência translúcida e aquosa, homogênea e ausência de grumos (Figura 6). Esta observação foi realizada visualmente, sem a utilização de equipamento. Para emulsões óleo em água existem diversos mecanismos de desestabilização e os principais são a cremeação, a sedimentação, a floculação e a coalescência, sendo que, os dois primeiros são fenômenos de migração das gotas, e os últimos são processos de variação do tamanho da gota (Figura 7) (MCCLEMENTS, 2005), porém, através das imagens de microscopia, nota-se a formação de gotículas contendo no seu interior, a fase

oleosa (óleos) (Figura 8), comprovando a estabilidade das emulsões no presente trabalho.

Ao comparar o esquema proposto por McClements (2005) (Figura 7), pode-se concluir que as três emulsões formuladas nesse trabalho, apresentam resultados promissores, dada a similaridade com aquilo que o autor nomeou de “emulsão cineticamente estável”.

Corroborando com os resultados do presente estudo, Botrel (2016), no seu trabalho, substituindo goma de cajueiro, observou que o óleo essencial de gengibre se encontrava encapsulado na matriz, formando uma emulsão estável. Entretanto, Perrenchil (2008) estudando as propriedades de diversas emulsões óleo/água estabilizadas com caseinato de sódio (Na-CN), sob diferentes condições de acidificação e aplicação de pressão, além de emulsões estabilizadas com Na-CN e goma jataí, observou que, a maioria das emulsões apresentou separação de fases devido ao mecanismo de cremação.

De forma semelhante ao encontrado nesse trabalho, Matsumiya; Murray (2016) conseguiram estabilizar emulsões utilizando microgéis de SPI como emulsionante a 5% m/m e 10% e 20% m/m de óleo de soja. Considerando que neste trabalho foram preparadas emulsões com valores bem abaixo de 5% de concentração dos óleos, os resultados de estabilidade variam muito em função dos óleos e dos reagentes utilizados na formulação das emulsões.

A obtenção de uma emulsão estável apresenta uma série de vantagens, como maior estabilidade, maior poder de penetração por membranas, maior biodisponibilidade, incremento da solubilidade em água de substâncias pouco solúveis, liberação controlada de substâncias e não ocorrerá quebra das fases durante a aplicação do produto no campo, ou seja, esse tipo de produto viabiliza a utilização na prática pelo agricultor.



Figura 6- Emulsões sem separação de fases dos óleos de *Zingiber officinale*, *Azadirachta indica* e *Annona muricata*, respectivamente, após 24 horas de repouso.

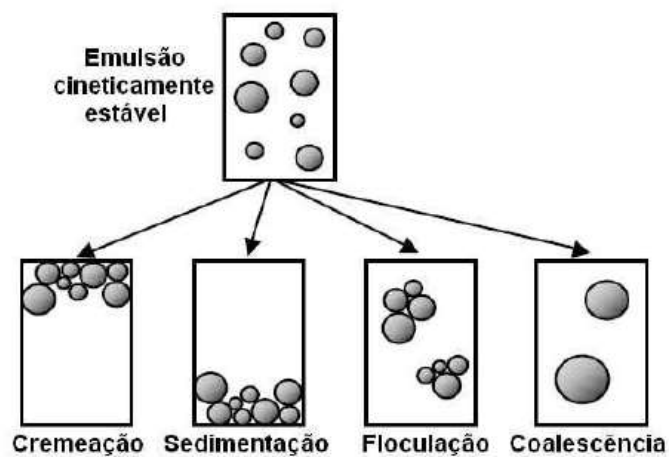


Figura 8- Representação esquemática dos mecanismos de instabilidade das emulsões O/A. Fonte: McClements (2005).



Figura 7- Microestrutura de emulsões estabilizadas dos óleos de gengibre (A), graviola (B) e neem (C), após preparo, com lente de aumento em 100x.

2.3.3 Avaliação da atividade inseticida

A mortalidade foi diretamente proporcional à concentração das emulsões, em todas as idades de embriões e lagartas estudadas. As mortalidades em ovos de 24 horas foram de 97, 89 e 84%, para as emulsões dos óleos de gengibre, neem e graviola, respectivamente (Figura 10) e não houve diferença estatística entre as concentrações letais 50 (CL₅₀), dos óleos de graviola (0.54%) e neem (0.57%), sendo esses, mais tóxicos quando comparados ao óleo essencial de gengibre (0.72%) (Tabela 4).

Contudo, nos testes realizados com ovos de 72 horas, as mortalidades foram similares entre os embriões tratados com as emulsões dos óleos de gengibre (86%), graviola (85%) e neem (84%) (Figura 10) não havendo diferença estatística significativa em relação à toxicidade das emulsões, pois todos os intervalos de confiança da CL₅₀ foram sobrepostos e os valores elucidados foram 0,63; 0,73 e 0.67%, para as emulsões de óleo de neem, gengibre e graviola, respectivamente (Tabela 4).

A toxicidade das emulsões foi inversamente proporcional a idade dos embriões, Possivelmente, pelo fato de ovos com maior desenvolvimento embrionário, apresentam alterações morfo-fisiológicas no córion, atuando como barreira protetora, reduzindo a absorção do produto quando aplicado sobre os mesmos. Essa evidência foi relatada por BORCHERT et al. (2004) e constatada em ovos com maior desenvolvimento embrionário de mosca branca, os quais não são afetados pela aplicação de piriproxifem, devido a essa proteção do córion (VALLE et al., 2002).

O efeito ovicida de um inseticida é relevante, pois impede a eclosão de larvas, evitando a ocorrência de um surto da praga, ou seja, nesse caso o controle é feito antes do aparecimento da fase em que a praga causa dano econômico à cultura.

Nos testes com lagartas de *D. fovealis*, ao analisar a CL₅₀ para lagartas de 1º instar, observou-se que não houve diferença significativa entre as emulsões dos óleos de graviola (0,474%) e neem (0,473%), sendo essas, mais tóxicas quando comparados à emulsão do óleo essencial de gengibre (0,602%)

(Tabela 5). A mortalidade foi de 100, 98 e 94%, para as emulsões de gengibre, neem e graviola respectivamente (Figura 11).

Nos testes com lagartas de 2^o instar de *D. fovealis*, ocorreu mortalidade de 94% para emulsão do óleo de neem, 86% para emulsão do óleo essencial de gengibre e 84% para o óleo de graviola (Figura 12). Nesse caso, ao analisar a CL₅₀, observa-se que houve diferença estatística entre as emulsões, sendo que, a mais tóxica foi a do óleo essencial de gengibre (0,620%), seguida da do óleo de neem (1,02%) e óleo de graviola (2,25%) (Tabela 5). Observa-se nesse estudo que, a emulsão do óleo essencial de gengibre, manteve CL₅₀ similares em ambos os instares enquanto que, nas demais, houve a necessidade de valores superiores das concentrações letais.

O óleo essencial de gengibre apresenta na composição substâncias denominadas terpenóides (Figura 9), que podem ser classificados de acordo com a quantidade de resíduos de isopreno na estrutura (KRIVORUCHKO; NIELSEN, 2015; HANSON, 2013; HILL; CONNOLLY, 2012). Os compostos α -zingibereno e α -farneceno são sesquiterpenos, por apresentarem na composição, três blocos de isopreno, enquanto que, geranial é um monoterpene, por apresentar dois blocos de isopreno (Tabela 3).

Os monoterpenos e sesquiterpenos são estruturas terpênicas de menor massa molecular, apresentando assim, volatilidade acentuada (FARKAS; MOHÁCSI-FARKAS, 2014) e que, após contato e/ou ingestão, agem como inibidores das enzimas acetilcolinesterases, responsáveis por hidrolisar o neurotransmissor acetilcolina. A enzima é fosforilada pelo bioinseticida ficando inativa, ocorrendo o acúmulo de acetilcolina na fenda sináptica, que provoca uma hiperatividade nervosa e conseqüente colapso do sistema nervoso, (ELDEFRAWI, 1976; ELDEFRAWI et al., 1982), podendo levar os insetos à morte por inanição ou toxicidade direta (ELSON et al., 1988; VIEGAS JUNIOR, 2003), o que justifica a mortalidade de 97 e 86% dos embriões de 24 e 72 horas, respectivamente e 100 e 86% de mortalidade das lagartas de 1^o e 2^o instar, respectivamente, verificadas nos testes de ingestão.

Marcomini (2009) ao avaliar nanoformulações de neem sobre lagartas de 2^o instar de *S. frugiperda*, constatou mortalidade de 46%, bem como redução de peso das lagartas. Corroborando com os resultados apresentados na presente

pesquisa, Ataíde (2017) demonstrou que o óleo de gengibre, não emulsionado, causou mortalidade de 100% dos embriões com 24 horas e 56% em mortalidade das lagartas de 2º instar de *D. fovealis* (ATAÍDE, 2017). De maneira semelhante, Kalaivani e colaboradores (2011), realizando testes de contato, obtiveram CL₅₀ de 0,0045% para larvas de 4º instar de *Aedes aegypti* Linnaeus, 1758 (Diptera: Culicidae). Em lagartas de 1º instar de *Helicoverpa armigera* Hubner, 1808 (Lepidoptera: Noctuidae), Aguirre (2017) encontrou apenas 2% de mortalidade e, segundo o autor, essa baixa mortalidade poderia estar ligada a uma relação antagônica entre os constituintes majoritários e minoritários desse óleo essencial sobre a referida praga. No manejo da traça do tubérculo da batata, *Phthorimaea operculella* Zeller, 1873 (Lepidoptera: Gelechiidae), o óleo essencial de gengibre encapsulado afetou todos os estágios de desenvolvimento da praga, prejudicando o desenvolvimento (MAHDAVI et al., 2018).

Como relatado anteriormente, o óleo de graviola contém vestígios de acetogeninas, metabólitos exclusivos dessa família botânica, bastante promissoras para o controle de diversos insetos (ÁLVAREZ-COLOM et al., 2010; HOE et al., 2010; TOLOSA et al., 2012). Elas agem nas mitocôndrias no complexo I inibindo a ubiquinona oxidoreductase, interferindo na produção de ATP, acarretando a morte celular por apoptose ("suicídio celular") (ZENG et al., 1996). Esse mecanismo de ação age de maneira diferente da maioria dos demais inseticidas/bioinseticidas utilizados no controle insetos praga, que inibem a acetilcolinesterase. Essa importante diferença de mecanismo de ação demonstra o potencial das acetogeninas em serem utilizadas como método alternativo no controle de populações já resistentes a inseticidas que apresentam esse modo de ação.

Os estudos de avaliação da atividade inseticida com plantas da família Anonáceas já foram realizados com as principais ordens de insetos-praga, destacando-se as ordens lepidóptera, coleóptera, hemíptera e díptera (KRINSKI, 2014).

A aplicação da emulsão do extrato etanólico de *A. muricata*, sobre lagartas recém-eclodidas de *Plutella xylostella* Linnaeus, 1758 (Lepidoptera: Plutellidae), fez com que as larvas fossem incapazes de passar

para a fase de pupa e apenas 21,50 % de ovos viáveis, prejudicando seu desenvolvimento (SOUZA, 2015).

Ao estudar a eficiência do óleo de sementes do gênero *Annona*, Chien-Yih Lin et al. (2009), observaram 90% de mortalidade de *Bemisia argentifolii* Bellows & Perring, 1994 (Hemiptera: Aleyrodidae), *Aphis gossypii* Glover, 1877 (Hemiptera: Aphididae) e *Tetranychus kanzawai* Kishida, 1927 (Acari: Tetranychidae), na concentração de 0,5%. Em testes de laboratório, na concentração de 0,5% do extrato e não de óleo, da semente de *A. muricata*, provocou 86,4% de mortalidade da traça-do-tomateiro (*T. absoluta*) (SILVA et al., 2007) e 98% do pulgão-preto do feijão-caupi, (*Aphis craccivora* Koch, 1854 (Hemiptera: Aphididae)) (RODRIGUES et al., 2014).

O óleo de neem já é utilizado há algum tempo como bioinseticida e está estabelecido no mercado. A azadiractina torna o alimento impalatável aos insetos por ação direta, causando comportamento antagônico à alimentação pela estimulação de células deterrentes específicas, situadas nas peças bucais (BLANEY, SIMMONDS, 1990), além disso, a azadiractina prejudica a utilização dos nutrientes ingeridos, reduzindo a eficiência de conversão destes e a atividade das enzimas (TANZUBILE, McCAFFERY, 1990). *A. indica* afeta de alguma forma, diversas pragas de interesse agrícola, dentre elas: *Diabrotica speciosa* Germar, 1824 (Coleoptera: Chrysomelidae), *Liriomyza sativae* Blanch, 1986 (Diptera: Agromyzidae), *Brevicoryne brassicae* Linnaeus, 1758 (Hemiptera: Aphididae), *A. gossypii*, *Heliothis zea* Boddie, 1850 (Lepidoptera: Noctuidae), *Spodoptera* ssp. (Lepidoptera: Noctuidae), *Sitotroga cerealella* Olivier, 1819 (Lepidoptera: Gelechiidae), dentre outras (MARANGONI, 2012).

O encapsulamento de óleos extraídos de plantas permite que os mesmos permaneçam ativos mais tempo, prolongando a atividade inseticida. Diversos autores relatam sobre essa eficácia desse método, dentre eles: óleo de limão siciliano se mostrou mais eficaz na sua forma encapsulada por possuir maior atividade inseticida (GORTZI et al., 2007). Christofoli et al. (2015), relatam que, nanoesferas contendo óleo essencial de *Zanthoxylum rhoifolium* Lam, reduziram em 95% o número de ovos de mosca-branca. O óleo essencial de patchouli (*Pogostemon cablin* Blanco Benth.) nanoformulado também demonstrou eficiente atividade inseticida sobre as espécies de formigas *Atta*

opaciceps Borgmeier, 1939 (Hymenoptera: Formicidae) *Atta sexdens* Linnaeus, 1758 (Hymenoptera: Formicidae) e *Atta sexdens rubropilosa* Forel, 1908 (Hymenoptera: Formicidae) (ZHAO, 2005). Além da atividade inseticida, dietas misturadas com óleo de tomilho encapsulado expressaram alta eficiência de repelência (90%), contra *Plodia interpunctella* Hubner, 1813 (Lepidoptera: Pyralidae) (CHUNG et al., 2013).

Ao estudarem os óleos essenciais de purslane (*Portulaca oleracea* Linn), mostarda (*Brassica juncea* Linn) e mamona (*Ricinus communis* Linn) e nanoformulações baseadas nestes óleos, contra *Ephestia cautella* Walker, 1863 (Lepidoptera; Pyralidae), Sabbour; Abd El-Aziz (2016) observaram que, os óleos são mais eficazes quando encapsulados, eficácia comprovada pelo nano-encapsulamento de óleo essencial de *Artemisia haussknechtii* (Boiss) no controle das pragas de grãos-armazenados *T. castaneum* e *Sitophilus oryzae* Linnaeus, 1763 (Coleoptera: Curculionidae) (KHANAHMADI et al., 2011).

Outra possibilidade da utilização de nano-formulados no manejo de pragas é através de filme de embalagens, contendo óleo essencial, como por exemplo, óleo de canela microencapsulado pode ser utilizado para proteger os alimentos contra a traça-da-índia (*P. interpunctella*) (KIM et al., 2013) e ensaios realizados com embalagens que continham sêmola de trigo, revestidas com óleos essenciais de citronela e alecrim mostraram repelência dos insetos variando de 60 a 87%, respectivamente. (LICCIARDELLO et al., 2013).

Os resultados demonstram que o uso de inseticidas botânicos associados ao encapsulamento pode desempenhar um papel importante como biopesticidas naturais para o manejo de insetos-praga, com potencial para aumentar a produtividade agrícola, além de, ao mesmo tempo, reduzir os impactos no meio ambiente e na saúde humana.

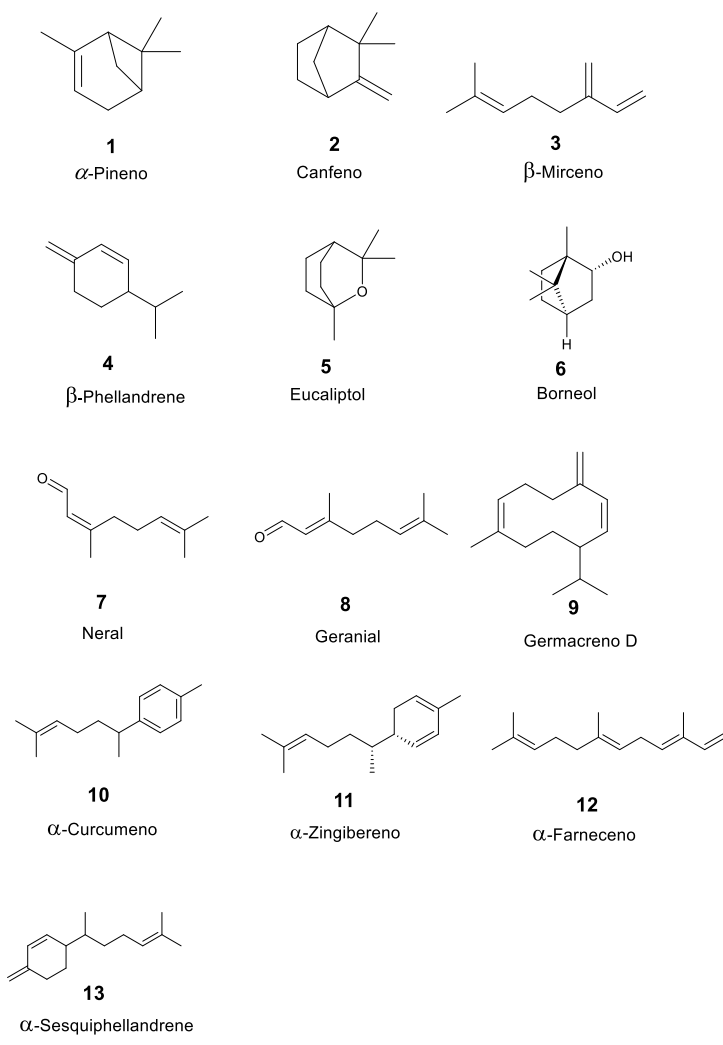


Figura 9. Estrutura molecular dos constituintes do óleo essencial de gengibre.

Tabela 3. Classe de compostos do óleo essencial de gengibre.

Classe	Quantidade / área%
Monoterpenos Hidrogenados	15,02
Monoterpenos Oxigenados	27,70
Sesquiterpenos Hidrogenados	57,00
Sesquiterpenos Oxigenados	-

Tabela 4- Concentrações letais (CL₅₀ e CL₉₅) das emulsões dos óleos de *Zingiber officinale*, *Annona muricata* e *Azadirachta indica* em *Duponchelia fovealis* (temperatura 25 ± 1 ° C, umidade relativa de 70 ± 10% e fotofase de 12h)

Emulsões	Idade do ovo (h)	N	Incl±EP	CL ₅₀ [ICinf - ICsup]	CL ₉₀ [ICinf - ICsup]	χ ²
Graviola	24	800	3.1509±0.2704	0.5452 [0.4934 - 0.6061]	1.3907 [1.1746 - 1.7315]	11.6
	72	800	2.4627±0.2003	0.6744 [0.5953 - 0.7773]	2.2699 [1.7792 - 3.1556]	8.63
Neem	24	800	3.3649±0.3004	0.5784 [0.5253 - 0.6408]	1.4181 [1.2041 - 1.7544]	12.2
	72	800	3.044±0.2353	0.6359 [0.5724 - 0.7142]	1.7138 [1.4152 - 2.2097]	8.41
Gengibre	24	800	5.1831±0.3008	0.7262 [0.6825 - 0.7744]	1.2833 [1.1639 - 1.4531]	5.76
	72	800	5.1832±0.3008	0.7303 [0.6863 - 0.7789]	1.2999 [1.1775 - 1.4746]	5.75

N = número de indivíduos da população amostrada; Inclinação ± SE = inclinação da curva ± erro padrão; CL₅₀ = Concentração letal para 50% da população da amostra; CL₉₀ = Concentração letal para 95% da população da amostra e χ² = teste do qui-quadrado.

Tabela 5- Concentrações letais (CL₅₀ e CL₉₅) das emulsões dos óleos de *Zingiber officinale*, *Annona muricata* e *Azadirachta indica* em *Duponchelia fovealis* (temperatura 25 ± 1 ° C, umidade relativa de 70 ± 10% e fotofase de 12h).

Estádio larval	Emulsões	N	Incl±EP	CL ₅₀ [ICinf - ICsup]	CL ₉₀ [ICinf - ICsup]	χ ²
1º	Graviola	350	2.864±0.357	0.4742 [0.4027 - 0.5602]	1.3597 [1.0529 - 2.0084]	8.79
	Neem	350	3.283±0.338	0.4739 [0.4087 - 0.5509]	1.1883 [0.9536 - 1.6437]	6.67
	Gengibre	350	15.458±0.85	0.6022 [0.5587 - 0.6320]	0.7288 [0.6899 - 0.8072]	0.61
2º	Graviola	350	4.424±0.690	2.25 [2.0013 - 2.62]	4.3836 [3.5371 - 6.2399]	12.17
	Neem	350	3.538±0.268	1.0248 [0.9046 - 1.1634]	2.3594 [1.9638 - 3.0484]	5.09
	Gengibre	350	2.707±0.219	0.6245 [0.5324 - 0.7497]	1.8569 [1.4032 - 2.8220]	4.69

N = número de indivíduos da população amostrada; Inclinação ± SE = inclinação da curva ± erro padrão; CL₅₀ = Concentração letal para 50% da população da amostra; CL₉₀ = Concentração letal para 95% da população da amostra e χ² = teste do qui-quadrado.

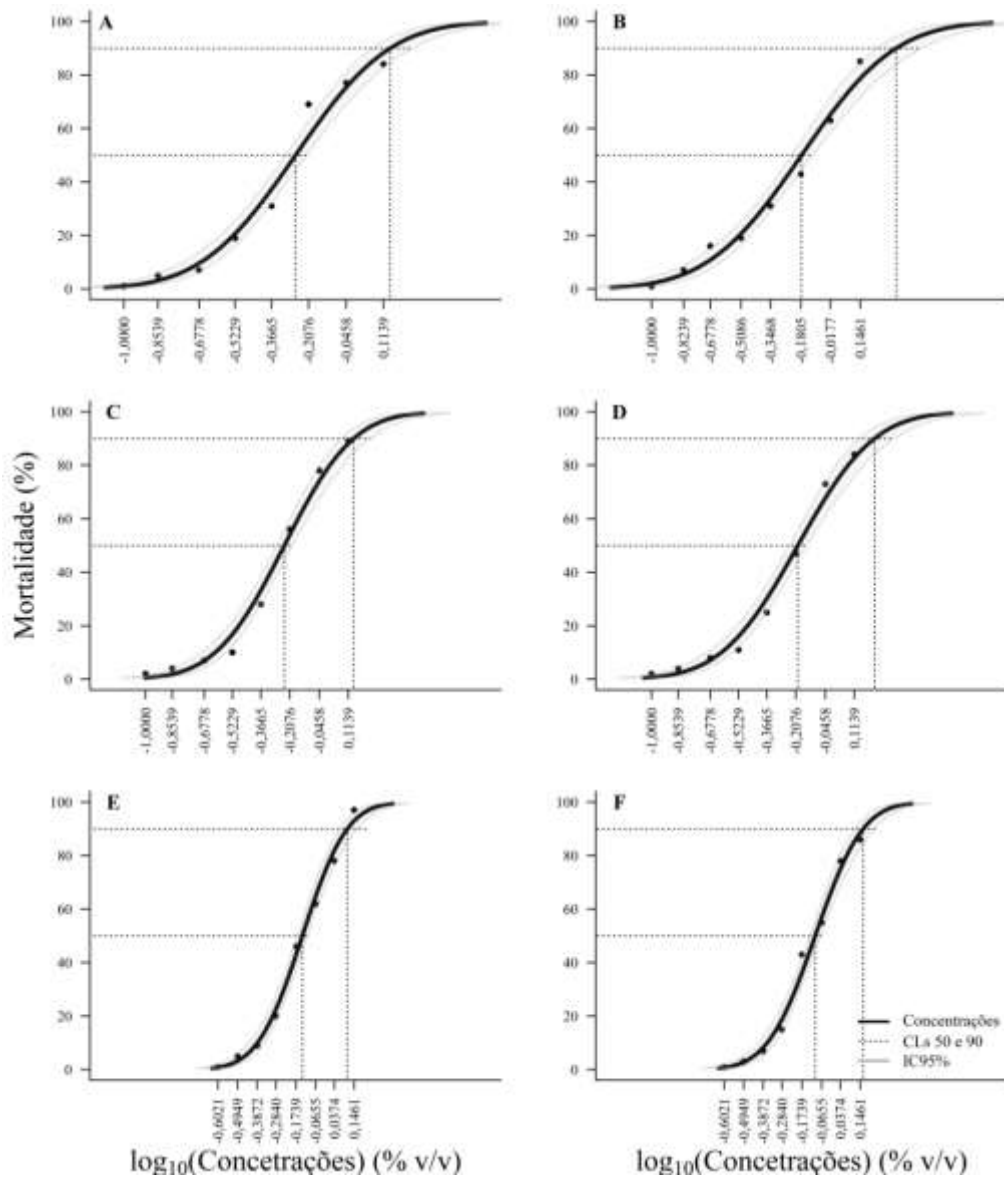


Figura 10 – Mortalidade de embriões de *Duponchelia fovealis* em função de diferentes concentrações de óleo de graviola (ovos de 24h – A; ovos de 72h – B), neem (ovos de 24h – C; ovos de 72h – D) e óleo essencial de gengibre (ovos de 24h – E; ovos de 72h – F).

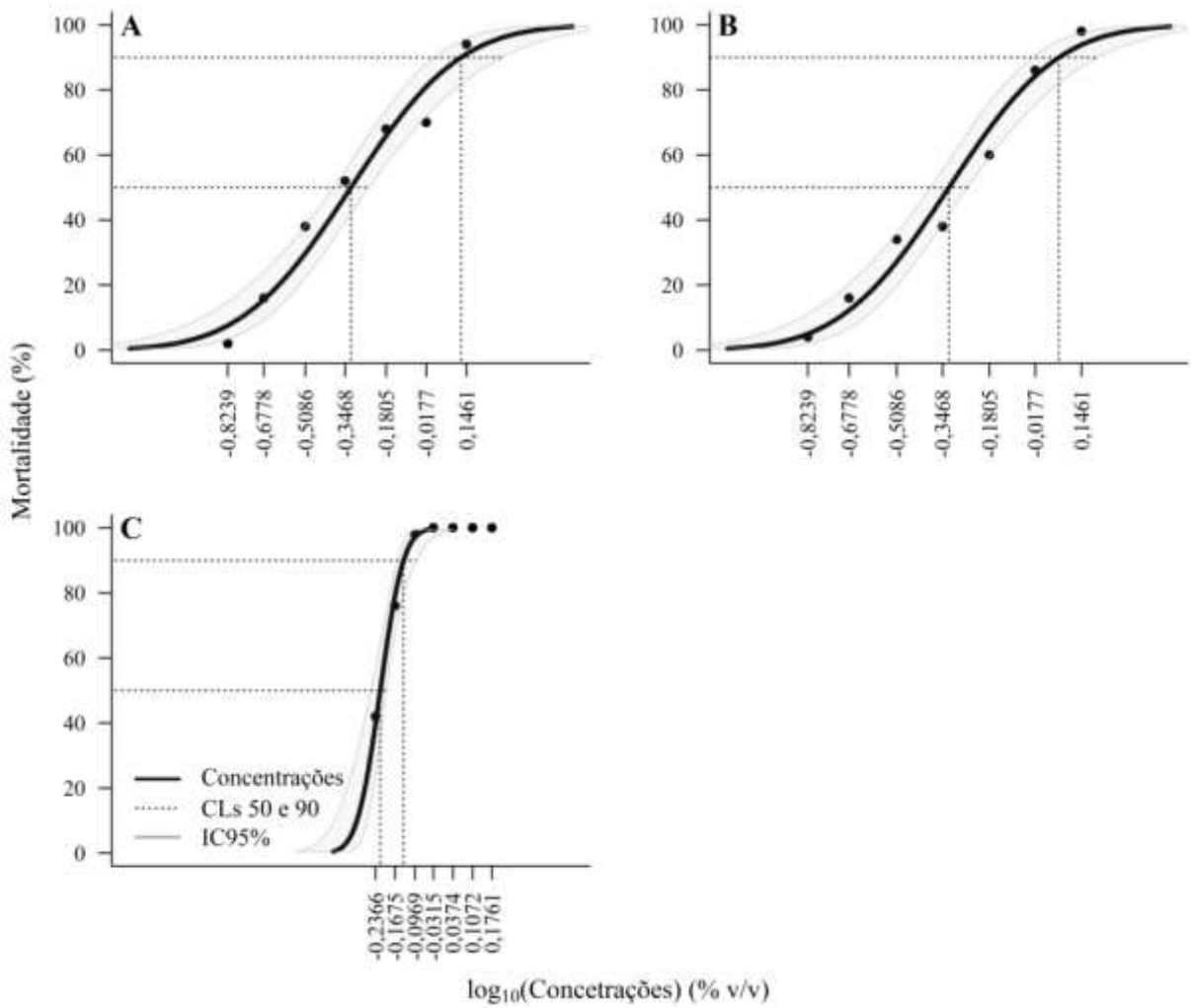


Figura 11 – Mortalidade de lagarta de 1º instar de *Duponchelia fovealis* em função de diferentes concentrações de óleo de graviola (A), neem (B) e óleo essencial de gengibre (C).

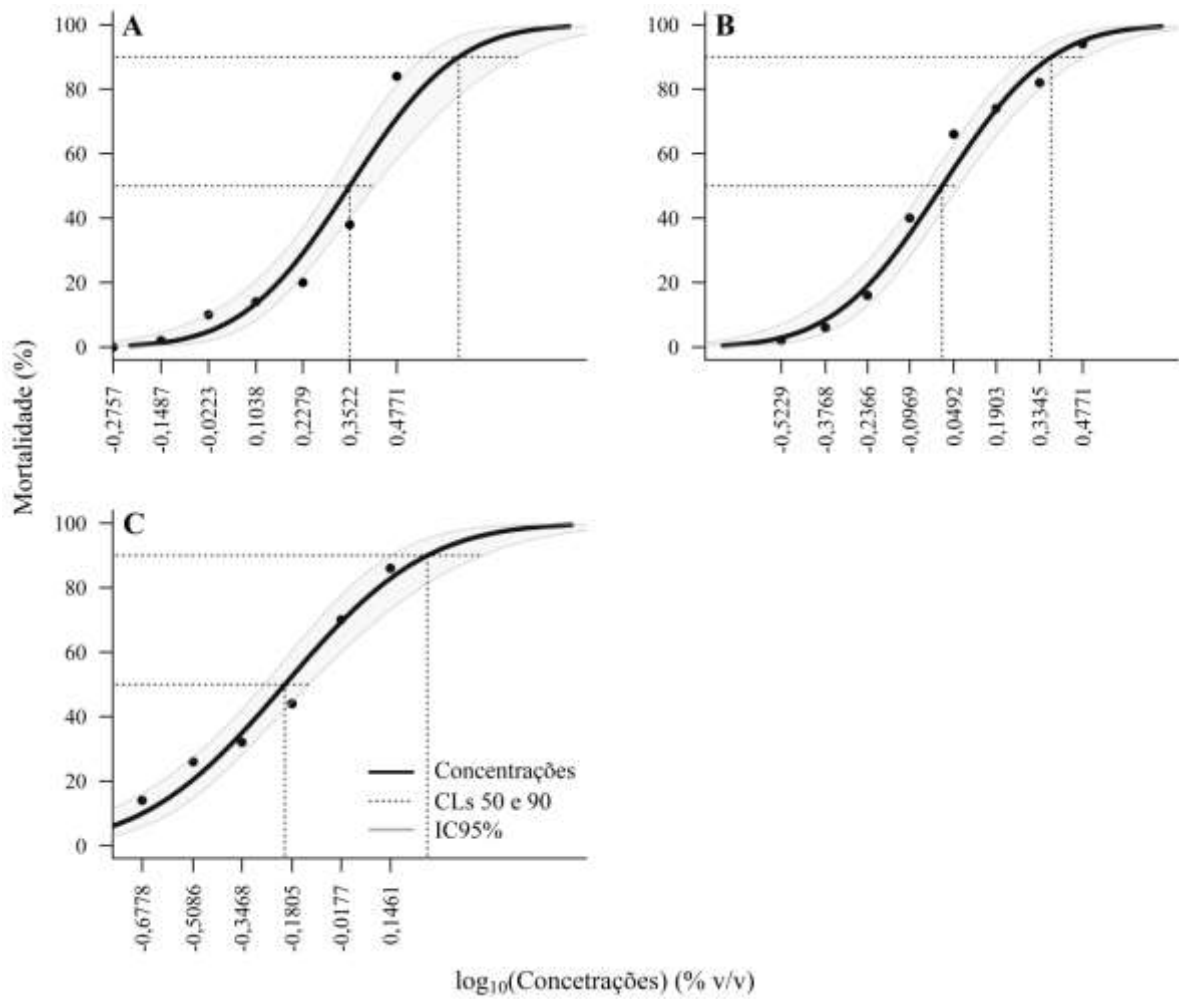


Figura 12– Mortalidade de lagartas de 2º instar de *Duponchelia fovealis* em função de diferentes concentrações de óleo de graviola (A), neem (B) e óleo essencial de gengibre (C).

2.4 CONCLUSÃO

- Os óleos de *Annona muricata*, *Zingiber officinale* e *Azadirachta indica* podem ser encapsulados, formando emulsões estáveis e que apresentam atividade inseticida, podendo ser utilizadas no manejo de *Duponchelia fovealis*.

2.5 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AGUIRRE, C.E.D. 2017. **Óleos essenciais como métodos de manejo para *Helicoverpa armigera* (Lepidoptera: Crambidae)**. 83f. Dissertação de Mestrado em Produção Vegetal– Universidade Federal do Espírito Santo, Centro de Ciências Agrárias e Engenharias, Alegre, ES, Brasil.

ÁLVAREZ, O. et al. 2008. Toxic effects annonaceous acetogenins on *Oncopeltus fasciatus*. **Journal Pesticide Science**, v. 81, p. 85-89.

ANDRADE, M.A. et al. 2012. Óleos essenciais de *Cymbopogon nardus*, *Cinnamomum zeylanicum* e *Zingiber officinale*: composição, atividades antioxidante e antibacteriana. **Revista Ciência Agronômica**, v. 43, n. 2, p. 399-408.

ATAIDE, J. O. 2017. **Óleos Essenciais no Manejo de *Duponchelia fovealis* Zeller, 1847 (Lepidoptera: Crambidae)**. 80f. Dissertação de Mestrado em Produção Vegetal– Universidade Federal do Espírito Santo, Centro de Ciências Agrárias e Engenharias, Alegre, ES, Brasil.

BERMEJO, A. et al. 2005. Acetogenins from Annonaceae: recent progress in isolation, synthesis and mechanisms of action. **Natural Product Reports**, v. 22, n. 2, p. 269-303.

BLANEY, W.M.; SIMMONDS, M.S.J. 1990. A behavioural and electrophysiological study of the role of tarsal chemoreceptors in feeding by adults of *Spodoptera*, *Heliothis virescens* and *Helicoverpa armigera*. **Journal of Insect Physiology**, n. 36, p. 43-56.

BRAMBILA, J.; STOCKS, I. 2010. The European Pepper Moth, *Duponchelia fovealis* Zeller (Lepidoptera: Crambidae), a Mediterranean Pest Moth Discovered in Central Florida. **Pest Alert created**, p. 1-4.

BRANDÃO, P. A. et al. 2005. Ácidos graxos e colesterol na alimentação humana, **Agropecuária técnica**, v. 26, n. 1.

BORCHERT, D.M. et al. 2014. Oriental fruit moth (Lepidoptera: Tortricidae) phenology and management with methoxyfenozide in North Carolina apples. **Journal of Economic Entomology**, v. 97, n. 4, p. 1353-1364.

BOTREL, R.V.B.F. de. 2016. **Óleo essencial de gengibre (*Zingiber officinale* L.) microencapsulado por spray drying em diferentes matrizes poliméricas**. Tese apresentada ao Programa de Pós- Graduação em Ciência dos Alimentos, Universidade Federal de Lavras, MG.

CASTILLO-SÁNCHEZ, L. H. C.; JIMÉNEZSORNIO, J. J.; DELGADO-HERRERA, M. A. 2010. Secondary metabolites of the Annonaceae, Solanaceae and Meliaceae families used as biological control of insects. **Tropical and Subtropical Agroecosystems**, v. 12, n.3, p.445-462.

CHIEN-YIH LIN. et al. 2009. Control of Silverleaf Whitefly, Cotton Aphid and Kanzawa Spider Mite with Oil and Extracts from Seeds of Sugar Apple. **Neotropical Entomology**, v. 38, n. 4, p. 531-536.

- CHRISTOFOLI, M. et al. 2015. Insecticidal effect of nanoencapsulated essential oils from *Zanthoxylum rhoifolium* (Rutaceae) in *Bemisia tabaci* populations. **Industrial Crops and Products**, v. 70, p. 301-308.
- CHUNG, S.K. et al. 2013. Microencapsulation of essential oil for insect repellent in food packaging system. **Journal of Food Science**, v. 78, n. 5.
- DHAR, R. et al. 1998. Inhibition of the growth and development of asexual and sexual stages of drug-sensitive and resistant strains of the human malaria parasite *Plasmodium falciparum* by Neem (*Azadirachta indica*) fractions. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 61, p. 31-39.
- ELDEFRAWI, A.T. 1976. The acetylcholine receptor and its interaction with insecticide. Insect Biochem Physiol. (Wilkinson, C.F., ed.), **Plenum Press**, New York, p. 297-326.
- ELDEFRAWI, A.T., MANSOUR, N., ELDEFRAWI, M.E. 1982. Insecticides affecting acetylcholine receptor interactions. **Pharmacology & Therapeutics**, v. 16, p. 45-65.
- ELSON, C.E. et al. 1988. A anti-carcinogenic activity of d-limonene during the initiation and promotion/progression stages of DMBA-induced rat mammary carcinogenesis. **Carcinogenesis**, v. 9, p. 331-332.
- FARKAS, J., MOHÁCSI-FARKAS, C. In: MOTAJERMI, Y. (ed). 1^o Ed. Safety of foods and beverages: spices and seasonings. 2014. **Encyclopedia of Food Safety**. Volume 3: Foods, Materials, Technologies and Risks. Elsevier, p. 324-330.
- FRANCO, M. C. & BAPTISTA, M. C. 2010. *Duponchelia fovealis* Zeller nova praga em Portugal. **Revista Frutas, Legumes e Flores**, v. 110, p. 34-35.
- GORTZI, O. et al. 2007. Enhanced bioactivity of *Citrus limon* (Lemon Greek cultivar) extracts, essential oil and isolated compounds before and after encapsulation in liposomes. **Planta Medica**, n. 73 p. 184.
- GUNSTONE, F.D. 2005. Vegetable Oils. In: **SHAHIDI, Fereidoon**. Bailey's Industrial Oil & Fat Products: Edible Oil & Fat Products Chemistry, Properties & Health Effects. 6. ed. New Jersey: Wiley Interscience, v.1, cap. 6, p. 213-268.
- HANSON, J.R. 2013. Diterpenoids of terrestrial origin. **Natural Products Reports**. v. 30, n. 10, p. 1346-1356.
- HILL, R.A., CONNOLLY, J.D. 2012. Triterpenoids. **Natural Products Reports**. v. 29, n. 7, p. 780-818.
- HOE, P. K. et al. 2010. Biological activity of *Annona muricata* seed extracts. **Malaysian Journal of Science**, Kuala Lumpur, v. 29, n. 2, p. 153-159.
- JAN, M. T. et al. 2015. Resistance to organophosphate, pyrethroid and biorational insecticides in populations of spotted bollworm, *Earias vittella* (Fabricius) (Lepidoptera: Noctuidae), in Pakistan. **Crop Protection**, v. 78, p. 247-252.
- KALAIVANI, K.; SENTHIL-NATHAN, S.; MURUGESAN, A.G. 2011. Atividade biológica de óleos essenciais selecionados de plantas de Lamiaceae e Zingiberaceae contra o vetor da dengue *Aedes aegypti* L. (Diptera: Culicidae). **Research Parasitology**, v. 10, n. 1007.

- KHANAHMADI, M. et al. 2011. **Preparation and mortality half-life determination of nano encapsulated essential oil of *Artemisia husskenechtii* Boiss against *Tribolium castaneum***. The 7th International Chemical Engineering Congress & Exhibition, Kish, Iran.
- KIM, I.H. et al. 2013. Insect-resistant food packaging film development using cinnamon oil and microencapsulation technologies. **Journal of Food Science**, v. 78, p. 229–37.
- KNAAK, N.; TAGLIARI, M.S.; FIUZA, L.M. 2010. Histopatologia da interação de *Bacillus thuringiensis* e extratos vegetais no intestino médio de *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae). **Arquivos do Instituto Biológico**, v. 77, n. 1, p. 83-89.
- KRIVORUCHKO, A., NIELSEN, J. 2015. Production of natural products through metabolic engineering of *Saccharomyces cerevisiae*. **Current Opinion in Biotechnology**. v. 35, p. 7-15.
- LICCIARDELLO, F. et al. 2010. Quality maintenance performance and resistance to *Tribolium castaneum* and *Plodia interpunctella* penetration of an alternative packaging material for semolina. **Italian Journal of Food Science**, v. 22, n. 4, p. 461–466.
- LIU, J. K. et al. 1990. Insect antifeeding agents: Sesquiterpene alkaloids from *Celastrus angulatus*. **Phytochemistry** v. 29, n. 2503.
- LONI, A.; PANAH, O. 2015. Control of stored grain pest, *Callosobruchus maculatus* (F.) (Coleoptera: Bruchidae), using the essential oils isolated from *Zingiber officinale* (L.) and *Mentha pulegium* (L.) in laboratory condition. **Archives of Phytopathology and Plant Protection**, v. 48, n. 5, p. 434–440.
- LUMMEN, P. 1998. Complex I inhibitors as insecticides and acaricides. **Biochimica et Biophysica Acta**, Amsterdam, v. 1364, n. 2, p. 287–296.
- MAHDAVI, V. et al. 2018. Synthesis of *Zingiber officinale* essential oil-loaded nanofiber and its evaluation on the potato tuber moth, *Phthorimaea operculella* (Lepidoptera: Gelechiidae). **Journal of Crop Protection**, v.7, n. 1, p. 39-49.
- MARANGONI, C.; MOURA, N. F. de; GARCIA, F. R. M. 2012. Utilização de óleos essenciais e extratos de plantas no controle de insetos. **Revista de Ciências Ambientais**, v. 6, n. 2, p. 95- 112.
- MARCIEL, A. G. S. et al. 2015. Effect of *Annona muricata* L. (1753) (Annonaceae) seeds extracts on *Tetranychus urticae* (Koch, 1836) (Acari: Tetranychidae). **African Journal of Agricultural Research**, v.10, p. 4370-4375.
- MARCOMINI, A.M. 2009. **Bioatividade e efeito residual de nanoformulações de nim sobre *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith)**. Piracicaba. 2009. 83f. Dissertação de Mestrado. Escola superior de Agricultura, Luiz de Queiroz.
- MARTINEZ, S. S. 2002. **O Nim – *Azadirachta indica***. Natureza, Usos Múltiplos, Produção. Instituto Agrônômico do Paraná. Londrina: IAPAR, p. 142.
- MCCLEMENTS, D.J. 2005. **Food emulsions: principles, practice, and techniques**. Washington: CRC Press.

- MORAIS, L.A.S. 2009. Influência dos fatores abióticos na composição química dos óleos essenciais. **Horticultura Brasileira**, v. 27, p. 4050-4063.
- PAES, J.P.P.; PIROVANI, V.D.; PRATISSOLI, D. 2015. Lagarta do morangueiro. In: PRATISSOLI, D. (org.). **Pragas emergentes no estado do Espírito Santo**. Alegre, Unicopy. cap.13, p. 88-95.
- PERRENCHIL, F. A. 2008. **Avaliação estrutural e reológica de emulsões simples e múltiplas estabilizadas por caseinato de sódio e jataí**. Dissertação (mestrado) – Universidade Estadual de Campinas. Faculdade de Engenharia de Alimentos. Campinas.
- PRATISSOLI, D. et al. 2015. **Manejo de pragas para a cultura do morangueiro: sem resíduo de agrotóxico**. Alegre: Nudemafi. 64p. (Nudemafi: Série Técnica n.2).
- RODRIGUES, V.M. et al. 2014. Avaliação de extratos de *Annona muricata* L. sobre *Aphis craccivora* Koch, 1854 (Hemiptera: Aphididae). **Revista Brasileira de Agroecologia**, v. 9, n. 3, p. 75-83.
- ROHDE, C. et al. 2013. Efeito de extratos vegetais aquosos sobre amosca-das-frutas *Ceratitis capitata* (Wiedemann) (Diptera: Tephritidae). **Arquivos do Instituto Biológico**, v. 80, n. 4, p. 407-415.
- SANTOS, A. C. A., SERAFINI, L. A., CASSEL, E. 2003. **Estudo de processos de extração de óleos essenciais e bioflavonóides de frutas cítricas**. Caxias do Sul: EDUCS, p. 19-29.
- SABBOUR, M.M.; ABD-EL-AZIZ, S. 2016. Roll of three essential oils and their nano against *Ephestia cautella* Lepidoptera Pyralidae under laboratory and store conditions. **International Journal of Pharmtech Research**, v. 0974, n. 4304.
- SHIN-FOON, C.; YU-TONG, Q. 1993. Experiments on the application of botanical insecticides for the control of diamondback moth in South China. **Journal Applied Entomology**, v. 116, n.1-5, p. 479-486.
- SILVA, A.P. T.; PEREIRA, M. J. B.; BENTO, L. F. 2007. Extrato metanólico da semente de araticum (*Annona coriacea*) (Mart.) sobre a mortalidade da traça-do-tomateiro (*Tuta absoluta*). **Revista Brasileira de Agroecologia**, v. 2, n. 2, p. 1150-1153.
- SIVASOTHY, Y. et al. 2011. Essential oils of *Zingiber officinale* var. rubrum Theilade and their antibacterial activities. **Food Chemistry**, v. 124, n. 2, p. 514-517.
- TANZUBIL, P. B.; McCAFFERY, A. R. 1990. Effects of azadirachtin and aqueous neem seed extracts on survival, growth and development of the African armyworm, *Spodoptera exempta*. **Crop Protection**, n. 9, p. 383-386.
- TOLOSA, D. et al. 2012. Insecticidal effects of acetogenins from *Rollinia occidentalis* seed extract. **Natural Product Communications**, v. 7, n. 12, p. 1645-1646.
- VALLE, G.E. DO; LOURENÇÃO, A.L.; NOVO, J.P.S. 2002. Controle químico de ovos e ninfas de *Bemisia tabaci* Biótipo b (Hemiptera: Aleyrodidae). **Scientia Agricola**, v. 59, n. 2, p. 291-294.
- VIEGAS JUNIOR, C. 2003. Terpenos com atividade inseticida: uma alternativa para o controle químico de insetos. **Química Nova** [online]. v. 26, n. 3, p. 390-400.

YU S.J.; NGUYEN S.N.; ABO-ELGHAR G.E. 2003. Biochemical characteristics of insecticide resistance in the fall armyworm, *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith). **Pesticide Biochemistry and Physiology**, v. 77, p. 1–11.

ZAFRA-POLO, M. C. et al. 1996. Acetogenins from Annonaceae, inhibitor of mitochondrial complex I. **Phytochemistry**, Oxford, v. 42, p. 253-271.

ZENG, L. et al. 1996. Recent Advances in Annonaceous Acetogenins. **Natural product Reports**. p. 275 - 306.

ZHANG, X. et al. 2015. Insecticide resistance monitoring and correlation analysis of insecticides in field populations of the brown planthopper *Nilaparvata lugens* (stål) in China 2012–2014. **Pesticide Biochemistry and Physiology**, v. 124, p. 1-102.

3 CAPÍTULO III

Armazenamento, estabilidade e toxicidade de emulsões dos óleos de gengibre (*Zingiber officinale*), neem (*Azadirachta indica*) e graviola (*Annona muricata*) sobre *Duponchelia fovealis* (Zeller 1847) (Lepidoptera: Crambidae)

RESUMO

A estabilidade das emulsões é primordial para manter a qualidade do produto ao longo do tempo. Neste estudo avaliou-se a estabilidade e a toxicidade, sobre *Duponchelia fovealis*, das emulsões dos óleos de gengibre (*Zingiber officinale* Roscoe), graviola (*Annona muricata* Linn) e neem (*Azadirachta indica* A. Juss) por um ano. As emulsões foram compostas da fase oleosa de cada espécie vegetal (óleos de gengibre, graviola e neem), do emulsificante à base de poliálcool de frutas, etanol e água. As avaliações de toxicidade foram feitas após 0, 92, 182, 273 e 365 dias de armazenamento, sobre ovos de 24 e 72 horas e larvas de 1º e 2º instar de *Duponchelia fovealis*. Foi observado que durante todo o período de armazenamento, as diferentes emulsões permaneceram sem separação de fases e apresentaram aspecto translúcido, o que indica estabilidade das emulsões, bem como apresentaram efeito inseticida sobre *D. fovealis* sobre embriões e para os instares larvais. A mortalidade dos embriões de 24 horas foi de 46, 35 e 33% e 22, 15 e 14% para os embriões de 72 horas, tratados com as emulsões de gengibre, neem e graviola, respectivamente, após 365 dias de armazenamento. A mortalidade de lagartas de 1º e 2º instar, tratadas com a emulsão do óleo de gengibre foi de 90 e 88%, respectivamente. A emulsão do óleo de graviola promoveu 70% de mortalidade das lagartas de 1º instar e 78% nas de 2º instar e para o óleo de neem, mortalidade de 50 e 74% em lagartas de 1º e 2º instar, respectivamente. As emulsões estudadas permaneceram estáveis por um ano de armazenamento o que as tornam viáveis para utilização no manejo de *D. fovealis*.

Palavras-chaves: Inseticidas botânicos; controle alternativo; tempo de armazenamento.

Storage, stability and toxicity of emulsions of ginger (*Zingiber officinale*), neem (*Azadirachta indica*) and soursop (*Annona muricata*) oils on *Duponchelia fovealis* (Zeller 1847) (Lepidoptera: Crambidae)

ABSTRACT

The stability of the emulsions is essential to maintain the quality of the product over time. In this study, the stability and toxicity of *Duponchelia fovealis* were evaluated for the emulsions of ginger (*Zingiber officinale* Roscoe), soursop (*Annona muricata* Linn) and neem (*Azadirachta indica* A. Juss) oils for one year. The emulsions were composed of the oily phase of each vegetable species (ginger, soursop and neem oils), the emulsifier based on fruit polyalcohol, ethanol and water. The toxicity assessments were made after 0, 92, 182, 273 and 365 days of storage, on eggs of 24 and 72 hours and larvae of 1st and 2nd instar of *Duponchelia fovealis*. It was observed that throughout the storage period, the different emulsions remained without phase separation and showed a translucent aspect, which indicates the stability of the emulsions, as well as showing an insecticidal effect on *D. fovealis* on embryos and larval instars. Mortality of 24-hour embryos was 46, 35 and 33% and 22, 15 and 14% for 72-hour embryos, treated with ginger, neem and soursop emulsions, respectively, after 365 days of storage. Mortality of 1st and 2nd instar caterpillars treated with ginger oil emulsion was 90 and 88%, respectively. The soursop oil emulsion promoted 70% mortality in 1st instar caterpillars and 78% in 2nd instar caterpillars and for neem oil, 50 and 74% mortality in 1st and 2nd instar caterpillars, respectively. The studied emulsions remained stable for one year of storage, making them viable for use in the management of *D. fovealis*.

Keywords: Botanical insecticides; alternative control; storage time.

3.1 INTRODUÇÃO

Novas tecnologias para o controle de insetos praga vêm sendo criadas, dentre essas, o uso de óleos com ação inseticida, tornou-se uma opção amplamente difundida e menos prejudicial ao meio ambiente e saúde humana (VARONA et al., 2009). Dentre os óleos, podemos destacar o de gengibre (*Z. officinale*), neem (*A. indica*) e graviola (*A. muricata*).

Embora haja o interesse crescente e o grande potencial biológico de óleos de origem vegetal, sabe-se que a maioria deles é biologicamente instável e pode sofrer degradação com o passar do tempo de exposição (SHERRY et al., 2013). Uma maneira de oferecer proteção contra a degradação, perda ambiental e por fatores externos, é através do encapsulamento desses óleos, aperfeiçoando o sistema de controle de pragas, reduzindo a necessidade de altas doses, toxicidade e efeitos indesejáveis em organismos não alvos (MARTIN et al., 2010).

Emulsionar é uma forma de encapsular os óleos, sendo definida como dispersões coloidais compostas por uma fase denominada interna, dispersa ou descontínua e por uma fase que rodeia as gotículas, designada de externa, dispersante ou contínua. Além destes dois componentes existe um terceiro, o agente emulsivo, o qual contribui para tornar a emulsão mais estável, pois se interpõe entre a fase dispersa e a dispersante, retardando a separação das fases (LACHMAN et al., 2001; MARTINA, 2005).

A estabilidade, por sua vez, refere-se à capacidade de uma emulsão resistir a alterações em sua estrutura, pois essas tendem a se romper ao longo do tempo, resultando em duas fases líquidas separadas, processo esse, dependente principalmente da composição e microestrutura, bem como das condições de armazenamento (MCCLEMENTS, 2005). Essa estabilidade constitui o seu ponto mais crítico, pois só se considera uma emulsão estável se o número e o tamanho das gotículas da fase interna, por unidade de volume de fase contínua, se mantiverem constantes ao longo do tempo. Isso indicaria que não houve modificações (KHAN et al., 2006).

Para isso é necessário elaborar formulações mais resistentes às deformações, utilizando-se agentes emulsificantes que estabeleçam união entre a fase

externa e interna, dificultando a coalescência. (MARTINA, 2005) com perda mínima de características desejáveis.

Uma maneira de avaliar a estabilidade das emulsões, ao longo do tempo, é através da vida-de-prateleira, que é o tempo em que o produto, conservado em determinadas condições de temperatura, não apresenta alterações durante o seu armazenamento (VITALI; QUAST, 2004), ficando o seu núcleo lipídico protegido contra agentes extrínsecos que possam acelerar sua degradação, tais como oxigênio, calor e luz.

Um agente que pode ser utilizado como emulsificante em óleos para o controle de pragas é o poliálcool de frutas. Este se apresenta em forma de pó branco, microcristalino solúvel em água e no álcool, de origem vegetal. É muito higroscópico e possui propriedades umectantes. Também pode ser encontrado na forma líquida. Este por sua vez, já é muito utilizado na fabricação de perfumes, cremes, máscaras, hidratantes e na culinária. Possui ação estabilizadora de emulsões e suspensões, proporcionando menor tamanho médio de partículas e baixo grau de aglomeração (COLLE et al., 2008), características essas desejáveis para testes de estabilidade de emulsões com óleos inseticidas provenientes de plantas, ainda mais, que esta técnica de utilizar emulsões no manejo de pragas é relativamente recente, havendo pouca informação do uso de bioinseticidas encapsulados, com poucos exemplos de aplicações em estufas ou como forma de proteger os grãos armazenados da infestação causada por pragas (SOZER; KOKINI, 2009).

Objetivou-se avaliar a estabilidade físico- química, analisar as características microscópicas como aspecto visual e separação de fases das emulsões recém-preparadas, comparando-as com aquelas armazenadas há um ano e avaliar a atividade inseticida das formulações dos óleos de *Z. officinale*, *A. muricata* e *A. indica* sobre *D. fovealis*.

3.2 MATERIAL E MÉTODOS

3.2.1 Criação de *Duponchelia fovealis*

A criação de *D. fovealis* foi estabelecida no Setor de Entomologia do Núcleo de Desenvolvimento Científico e Tecnológico em Manejo Fitossanitário de Pragas e Doenças (NUDEMAFI), do Centro de Ciências Agrárias da Universidade Federal do Espírito Santo conforme item 2.1, capítulo II.

3.2.2 Preparo das emulsões

Foi empregada a mesma metodologia de preparo das emulsões descrita no item 2.5, capítulo II, porém, nas seguintes concentrações: o emulsificante a 1% (m/v), etanol (5% v/v), fase oleosa (óleos de gengibre, graviola e neem), a 2% (v/v).

3.2.3 Armazenamento das emulsões

As emulsões foram preparadas dia 28/10/2018. Os recipientes contendo as emulsões dos óleos de gengibre, graviola e neem foram envoltos por papel alumínio e acondicionados em sala climatizada com temperatura de $25^{\circ} \pm 2C$, fotofase de 12h e $70\% \pm 10$ de umidade relativa do ar. O tempo de armazenamento das emulsões utilizadas nos experimentos foi de 0, 92, 182, 273 e 365 dias após a formulação.

3.2.4 Análise microscópica

As emulsões foram homegeinizadas, retirados com auxílio de uma pipeta, 10 microlitros dessas e depositada essa quantidade no centro da lâmina, cobrindo em seguida, com uma lamínula. A estabilidade das emulsões foi avaliada após a formulação e após 365 dias de armazenamento, por análise microscópica (microscópio Leica DM500, com câmera acoplada, na lente de aumento 100x), observando-se aspectos físicos, como formação de gotículas, cor, aspecto visual, separação de fases, formação de creme e sedimentação.

3.2.5 Avaliação da atividade inseticida

Os experimentos foram conduzidos em câmara climatizada (temperatura de $25 \pm 1^{\circ}C$, umidade relativa de $70 \pm 10\%$ e fotofase de 14 horas), no NUDEMAFI. Os testes foram realizados em ovos de 24 e 72 horas de idade, cada repetição composta de 20 ovos e lagartas de 1^o e 2^o instar, cada repetição composta de

10 lagartas, conforme item 2.7, capítulo II, após 0, 92, 182, 273 e 365 dias de armazenamento.

O desenho experimental seguiu esquema em parcelas subdivididas em delineamento inteiramente casualizado, onde as parcelas eram compostas pelo fator óleo (emulsões) e as subparcelas pelo fator tempo de armazenamento dos óleos. Ambos fatores foram considerados qualitativos, sendo a porcentagem de mortalidade em cada fase de desenvolvimento de *D. fovealis* (embriões com 24 e 72 horas e lagartas de 1^o e 2^o ínstar) variáveis respostas testadas de forma independente. Os dados foram testados quanto à normalidade de Shapiro-Wilk, submetidos à análise de variância para o DIC em questão e as médias comparadas pelo teste de Tukey a um nível de significância de 5%. Todas as análises foram executadas no R.

3.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.3.1 Estabilidade das Emulsões

Estudar a estabilidade das emulsões é prever a “vida útil” dessas em condições normais de armazenamento, bem como a capacidade de um produto em manter o aspecto original e as características físico-químicas. Dessa forma, as emulsões dos óleos de *Z. officinale*, *A. indica* e *A. muricata* permaneceram estáveis até 365 dias após a formulação, conforme a análise dos aspectos visuais, como separação de fases, formação de creme e sedimentação (Figura 1) e análise microscópica (formação das gotículas) (Figura 2 D, E e F).

As emulsões apresentaram aspecto translúcido, sem separação de fases, logo, permaneceram estáveis, sendo pouco susceptível aos diversos mecanismos de desestabilização, como a cremação, a sedimentação, a floculação e a coalescência, que promovem a diminuição da qualidade das emulsões (McCLEMENTS, 2005). A avaliação visual da aparência da emulsão é um método claro de detecção de separação de fases ou instabilidade, podendo fornecer informações consideráveis, de como emulsões separadas em duas ou mais fases, são consideradas instáveis (IDSON, 1993), fato esse, não observado neste estudo, para os óleos de gengibre, graviola e neem.

Ao comparar as análises microscópicas, após a formulação (Figura 2A; B e C) e com 365 dias de armazenamento (Figura 2D; E e F), observou-se

preservação das características físicas, que mantiveram-se constantes após um ano de armazenamento.

Alguns trabalhos demonstram a eficiência do encapsulamento em emulsões, como por exemplo, óleo essencial de gengibre nano-formulado permaneceu estável por 49 dias, enquanto que, o óleo puro, apenas 15 dias (MAHDAVI et al., 2018) e que a encapsulação do óleo de neem, promoveu ganhos de 40% na estabilidade (COSTA, 2014). Machado et al (2007), observaram que emulsões obtidas, com diferentes concentrações de óleo de neem foram estáveis por apenas 24 horas e atribuíram a desestabilização ao cálcio e magnésio, existentes nas águas, sendo esse, um elemento perturbador da estabilidade das emulsões e Forim et al (2009) observaram que mesmo sob condições ideais de armazenamento (temperatura e umidade), a azadiractina sofreu processos de degradação em função do tempo, quando na forma pura e não em forma de emulsão.

E estabilidade de uma emulsão de óleo de *A. muricata* foi conseguida a partir da mistura do óleo, tween 80, etanol e solução aquosa de NaCl com concentração de 3,5%, porém, o autor não verificou por quanto tempo ela se manteve estável (GONÇALVES, 2016). Gomes (2013), ao misturar 10g do extrato de *A. muricata*, ao Span 60 e ao Tween 80, verificou que nenhuma das emulsões permaneceu estável por mais de 30 minutos, havendo a separação das fases com o passar do tempo, enquanto que, Senhorini (2010) encontrou no preparo das emulsões do óleo de *Carapa guianensis* Aubl seguindo o mesmo protocolo, quatro emulsões estáveis, podendo-se supor que extratos apresentam característica oleosa, mas como não é óleo puro, podem dificultar a estabilidade, principalmente pelas polaridades diferentes.

As técnicas de microscopia são amplamente utilizadas para visualização de emulsões sem diluição e com um mínimo preparo das amostras (LANGTON et. al., 1999) e como observado na figura 2, há o surgimento de estruturas lamelares ao redor das gotículas de óleo que, de acordo com Klein (2002), são responsáveis pela estabilização de emulsões, que protegem ao redor dos glóbulos prevenindo a adesão e coalescência.

Ao formular uma emulsão com óleo de urucum (MORAIS et al., 2005), foi necessário uma mistura de tensoativos, na concentração de 10% para mantê-la

estável, enquanto que, nesse estudo, com apenas 1% do poliálcool de frutas, as emulsões permaneceram estáveis. É importante ressaltar que, os componentes dos óleos essenciais (gengibre, por exemplo) são conhecidos por serem facilmente degradados quimicamente, podendo ser convertidos por oxidação, isomerização, ciclização, desidrogenação, dentre outras reações (FIGUEIREDO et al. 2008; SCHMIDT, 2010).

Essa característica de estabilidade das fases das três emulsões testadas (óleos de gengibre, graviola e neem), viabiliza a utilização desse tipo de formulação, pois possibilita a aplicação pelo agricultor no campo.

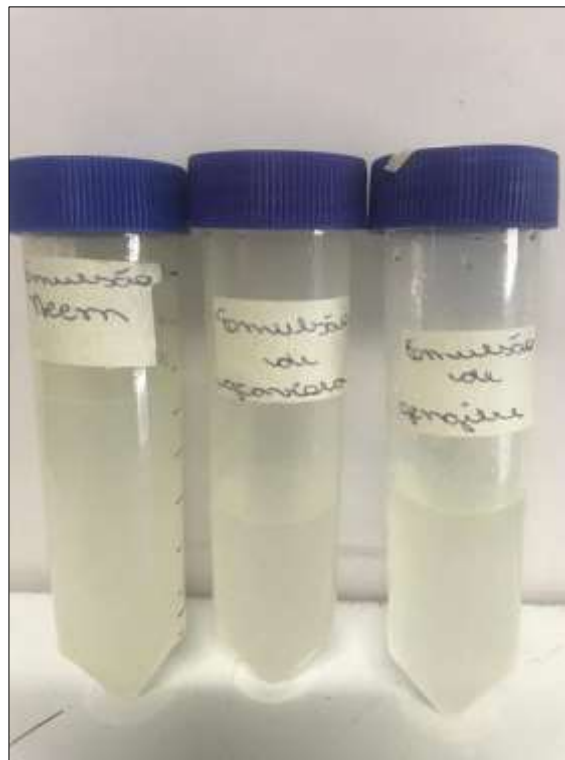


Figura 1- Emulsões sem separação de fases dos óleos de *Azadirachta indica*, *Annona muricata* e *Zingiber officinale*, respectivamente, após 365 dias de armazenamento.

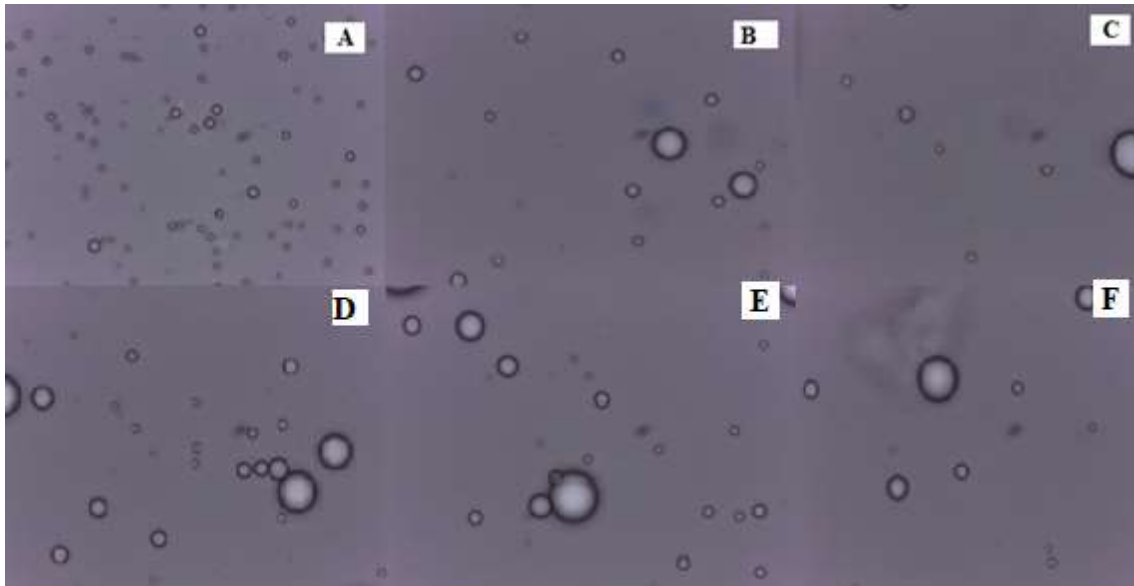


Figura 2- Microestrutura de emulsões estabilizadas dos óleos de gengibre (A), graviola (B) e neem (C), após a formulação e 365 dias de armazenamento, dos óleos de gengibre (D), graviola (E) e neem (F), com lente de aumento em 100x.

3.3.2 Avaliação da atividade inseticida

Houve interação entre as variáveis emulsões e tempo, em todos os estágios de desenvolvimento testados (tabela 1). De acordo com os resultados expostos na figura 1, pode-se observar que as emulsões dos óleos de gengibre, graviola e neem, mantiveram atividade inseticida no controle de *D. fovealis* ao longo do período de avaliação, tanto sobre embriões, quanto para os instares larvais. As emulsões foram mantidas em temperatura ambiente durante o período de estudo, totalizando 365 dias de armazenamento.

Ao observarmos a mortalidade dos ovos de 24 horas de idade de *D. fovealis* (figura 1-A), tratados com as emulsões recém-formuladas (tempo zero), não houve diferença estatística, enquanto que, nas avaliações aos 92, 182 e 273 dias, as emulsões de graviola e neem causaram maiores mortalidades de embriões. As emulsões de neem e gengibre apresentaram os melhores resultados após 365 de armazenamento, com 46, 35 e 33%, de mortalidades dos embriões tratados com óleos de gengibre, neem e graviola, respectivamente. Ovos de 12 horas da traça do tubérculo da batata, *Phthorimaea operculella* Zeller, 1873 (Lepidoptera: Gelechiidae) foram submetidos à exposição do óleo essencial de gengibre encapsulado e verificou-

se atividade inseticida até 49 dias de exposição, afetando todos os estágios de desenvolvimento da praga, enquanto que, o óleo puro apresentou atividade inseticida apenas até o 15º dia (MAHDAVI et al., 2018).

Em relação à mortalidade dos embriões de 24 horas de idade, não houve um padrão em relação à redução da mortalidade, com o aumento do tempo de armazenamento, (exceto para a emulsão do óleo de graviola). Provavelmente, isso ocorreu porque foram utilizados diferentes lotes de insetos ao longo da execução do experimento, podendo haver diferença na suscetibilidade às emulsões, entre os lotes de insetos, já que o experimento foi conduzido em diferentes épocas, durante um ano.

Ao analisarmos os ovos de 72 horas de idade (figura 1-B), a emulsão do óleo de neem apresentou maior atividade inseticida, após 92 e 182 dias de armazenamento. Não houve diferença estatística entre as emulsões, nos demais tempos de armazenamento. A atividade inseticida da emulsão do óleo de neem não diferiu até os 273 dias de armazenamento, e das demais emulsões foi reduzida com o do tempo de armazenamento. Após 365 dias de armazenamento, houve 22, 15 e 14% de mortalidade dos embriões ocasionada pelas emulsões de gengibre, neem e graviola, respectivamente.

Após 365 dias de armazenamento, a mortalidade de lagartas de 1º instar (figura 1-C) foi alta, variando entre 90, 70 e 50%, para os óleos de gengibre, graviola e neem, respectivamente. A emulsão de extratos orgânicos da semente de *A. muricata* persistiu por somente quatro dias em brássicas, não diferindo da testemunha (somente o extrato, sem estar em forma de emulsão) (JESUS et al., 2011).

A mortalidade de lagartas de 1º instar, nos tempos de 92, 182 e 273 dias (figura 1-C), foram superiores para as emulsões dos óleos de neem e graviola, enquanto que, após 365 dias de armazenamento, a emulsão do óleo de gengibre foi superior às demais. Ao analisarmos a atividade inseticida das emulsões em relação ao tempo, os óleos de neem e graviola preservaram a toxicidade até 273 dias de armazenamento. Trabalhos com a utilização de emulsões de neem já foram realizados, como o de Araújo Junior et al. (2009), os quais avaliaram a emulsão do óleo de neem comercial (Natuneem), nas concentrações de 1 e 2% , com resultados de 81 e 90 % de mortalidade do

pulgão *Lipaphis erysimi* Kalt., 1843 (Hemiptera: Aphididae), por um período de 10 dias. Após esse período a atividade inseticida reduziu significativamente. O óleo essencial de *Pelargonium graveolens* (L'Hér. ex Aiton), nanoencapsulado persistiu no campo por até cinco dias, promovendo 74 e 37% de mortalidade, nas concentrações de 5 e 2,5%, respectivamente de lagartas de 1º instar de *P. operculella* (ADEL et al., 2015).

Em relação à mortalidade de lagartas de 2º instar (figura 1-D), a toxicidade da emulsão à base de óleo de gengibre, em relação às demais emulsões, foi menor somente aos 182 e 273 dias de armazenamento. Nos demais períodos as emulsões provocaram mortalidades de lagartas semelhantes entre si. Para o óleo de graviola, não houve diferença estatística ao longo do tempo de armazenamento. Os produtos armazenados por 365 dias foram eficientes no controle *D. fovealis*, pois mantiveram mortalidades de 88% para a emulsão dos óleos de gengibre, 78% para a de graviola e 74% para a do óleo de neem. A formulação de emulsões por encapsulação preservou o princípio ativo dos óleos utilizados, com potencial para serem utilizados no manejo da praga em estudo.

Essas variações da atividade inseticida são dependentes de alterações que podem ocorrer nas emulsões ao longo do tempo, os voláteis da planta estão sujeitos a flutuações naturais em sua composição (KUBECZKA, 1993). Outro ponto que pode ser responsável por essas alterações, é a população da praga, que variou ao longo das avaliações.

Os óleos extraídos de plantas sofrem alterações após envelhecimento que podem comprometer a qualidade. Porém, poucas investigações até agora foram realizadas para avaliar a estabilidade desses óleos ao longo do tempo, bem como levar em consideração o impacto dessa variação durante o armazenamento.

Dessa forma, a emulsão do óleo de neem manteve mortalidades consideráveis em todos os estágios de desenvolvimento testados, com descréscimo acentuado somente após 365 dias de armazenamento, em ovos de 72 horas. Nesta idade, a mortalidade também reduziu, quando tratados com emulsão do óleo de graviola. A emulsão do óleo de gengibre foi a mais afetada pelo tempo de armazenamento, não mantendo um padrão de mortalidade. Porém, as

formulações são promissoras no manejo de *D. fovealis*, pela manutenção da atividade inseticida nos estágios de desenvolvimento testados e estabilidade pelo período de armazenamento de 365 dias.

Tabela 1- Análise de variância para os efeitos de tempo de armazenamento e emulsão sobre a mortalidade de *Duponchelia fovealis*

	Shapiro-Wilk	GL	F	P
Ovos 24 horas				
Emulsão	0,3577	2	33,517	1,2*10-5
Tempo		4	50,479	2*10-16
Emulsão*Tempo		8	15,031	2*10-16
Ovos 72 horas				
Óleo	0,3659	2	59,121	1*10-6
Tempo		4	154,184	2*10-16
Emulsão *Tempo		8	29,988	2*10-16
Lagartas 1º instar				
Óleo	0,1975	2	90,304	2,2*10-16
Tempo		4	19,564	2,2*10-16
Emulsão *Tempo		8	29,582	2,2*10-16
Lagartas 2º instar				
Óleo	0,1818	2	11,620	0,001559
Tempo		4	9,623	9*10-6
Óleo*Tempo		8	11,725	2,2*10-16

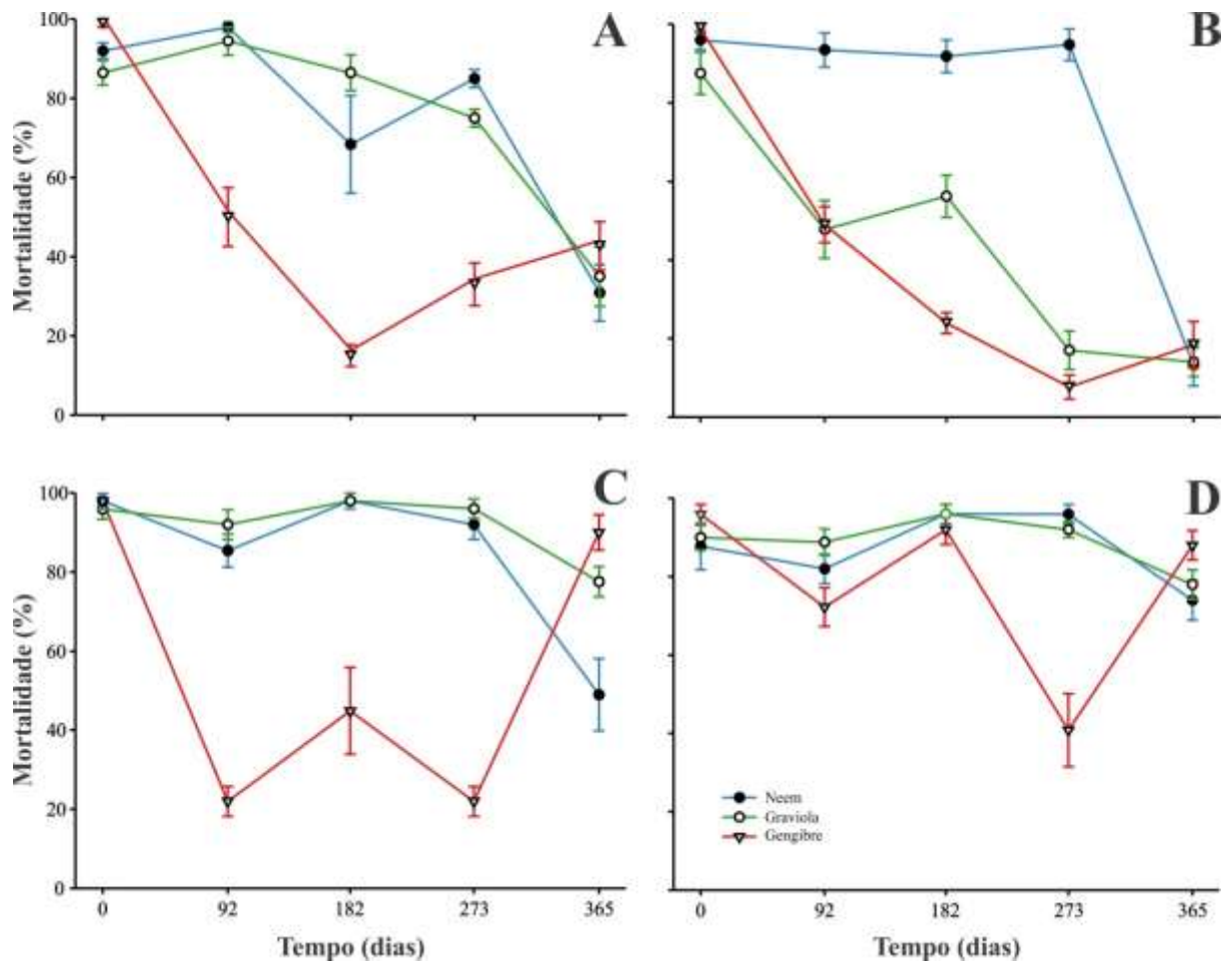


Figura 3- Mortalidade ocasionada por emulsões de *Zingiber officinale*, *Annona muricata* e *Azadirachta indica* em cinco períodos de armazenamento e quatro estágios de desenvolvimento de *Duponchelia fovealis*: (A) ovos de 24 horas; (B) ovos de 72 horas; (C) lagartas de 1º instar e (D) lagartas de 2º instar.

3.4 CONCLUSÃO

- As emulsões dos óleos de gengibre, graviola e neem apresentaram atividade inseticida sobre *D. fovealis* e permaneceram estáveis por até 365 dias de armazenamento.

3.5 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ADEL, M.M. et al. 2015. Biological Activity and Field Persistence of *Pelargonium graveolens* (Geraniales: Geraniaceae) loaded Solid Lipid Nanoparticles (SLNs) on *Phthorimaea operculella* (Zeller) (PTM) (Lepidoptera: Gelechiidae). **International Journal of Science and Research (IJSR)**. v. 4, n. 11.
- ALMEIDA, I.F.; BAHIA, M.F. 2003. Reologia: interesse aplicações na área cosmético-farmacêutica. **Cosmetics & Toiletries** (ed. Port.), v. 15, n. 3, p. 96-100.
- ARAUJO JUNIOR, J.M.; MARQUES, E.J.; OLIVEIRA, J.V. 2009. Potencial de Isolados de *Metarhizium anisopliae* e *Beauveria bassiana* e do Óleo de Nim no Controle do Pulgão *Lipaphis erysimi* (Kalt.) (Hemiptera: Aphididae). **Neotropical Entomology**, v. 38, n. 4, p. 520-525.
- CHUNG, S.K. et al. 2013. Microencapsulation of essential oil for insect repellent in food packaging system. **Journal of Food Science**, v. 78, n. 5.
- COLLE, R. del. et al. 2008. Method of chemical impregnation applied to microporous tubes and tubular membranes for the microfiltration of emulsions and bacteria suspensions. **Cerâmica**, v. 54 n. 329.
- FORIM, M. R. 2009. **Estudo fitoquímico do enxerto de *Azadirachta indica* sobre *Melia azedarach*: Quantificação de substâncias inseticidas**. Tese de doutorado apresentado ao programa de pós-graduação em química orgânica na Universidade Federal de São Carlos.
- GOMES, I.B. 2013. **Toxicidade e Formulação de Extratos de *Annona muricata* L. (Annonaceae) para o Controle de *Plutella xylostella* (L.,1758) (Lepidoptera: Plutellidae)**. Dissertação de Mestrado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Proteção de Plantas, do Centro de Ciências Agrárias da Universidade Federal de Alagoas.
- GONÇALVES, H.B. 2016. **Sistemas microemulsionados a base de *Annona muricata* (Annonaceae) como inibidores de corrosão em aço AISI 4142**. Dissertação apresentada ao Programa de pós-graduação em Química, da Universidade Federal de Sergipe.
- GONZÁLEZ, J.O.W. et al. 2014. Essential oils nanoformulations for stored-product pest control – Characterization and biological properties. **Chemosphere**, v. 100, p. 130-138.
- IDSON, B. 1993. Stability testing of emulsions, I. **Drug & Cosmetics Industry**, v. 151, n. 1, p. 27-30.
- JESUS, F.G. et al. 2011. Efeito de plantas inseticidas no comportamento e biologia de *Plutella xylostella* (Lepidoptera: Plutellidae). **Arquivo do Instituto de Biologia**, v. 78, n. 2, p. 279-285.
- KANIS, L.A. et al. 2012. Larvicidal activity of *Copaifera* sp. (Leguminosae) oleoresin microcapsules against *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae) larvae. **Parasitol Research Journal**, v. 2, p. 48- 51.

- KHAN, A. Y. et al. 2006. Multiple emulsions: an overview. **Curr Drug Deliv**, v. 3, p. 429-43.
- KLEIN, K. 2002. Liquid crystal and emulsions: a wonderful marriage. **Cosmetics & Toiletries**, v. 117, n. 5, p. 30-34.
- KUBECZKA, K.H. 1993. Möglichkeiten und Grenzen der Qualitätsbeurteilung arzneilich verwendeter atherischer Ole. In: Carle R, editor. *Atherische Ole – Anspruch und Wirklichkeit*. Stuttgart, Germany: Wissenschaftliche Verlagsgesellschaft. p. 85–102.
- LACHMAN, L. et al. 2001. **The theory and practice of industrial pharmacy**, Lisboa, Fundação Calouste Gulbenkian.
- MACHADO, G.O. et al. 2007. Preservante natural de madeira para uso na construção civil – óleo de neem. **Minerva**, v. 3, n.1, p. 1-8.
- MAHDAVI, V. et al. 2018. Synthesis of *Zingiber officinale* essential oil-loaded nanofiber and its evaluation on the potato tuber moth, *Phthorimaea operculella* (Lepidoptera: Gelechiidae). **Journal of Crop Protection**. v. 7, n. 1, p. 39-49.
- MARCOMINI, A.M. 2009. **Bioatividade e efeito residual de nanoformulações de nim sobre *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith)**. Piracicaba. 2009. 83f. Dissertação de Mestrado. Escola superior de Agricultura, Luiz de Queiroz.
- MARTIN, A. et al. 2010. Encapsulation and co-precipitation processes with supercritical fluids: applications with essential oils. **Open Chemical Engineering Journal**, v. 4, p. 31–41.
- MARTINA, M.C. 2005. **Introducción a la dermofarmácia y a la cosmetología**, Zaragoza, Editorial Acribia, S.A.
- MCCLEMENTS, D.J. 2005. **Food emulsions: principles, practice, and techniques**. Washington: CRC Press.
- R DEVELOPMENT CORE TEAM. R: **A language and environment for statistical computing**. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria, (pacote: “ExpDes.pt”) 2017.
- SHERRY, M., et al. 2013. Essential oils encapsulated in liposomes: a review. **Journal of Liposome Research**, v, 23, n. 4, p. 268–275.
- SILVA, A. P. T.; PEREIRA, M. J. B.; BENTO, L. F. 2004. Extrato etanólico da semente de araticum (*Annona coriacea*) (Mart.) sobre a mortalidade da traça-do-tomateiro (*Tuta absoluta*). Resumos do V CBA – Manejo de Agroecossistemas Sustentáveis. **Revista Brasileira de Agroecologia**, v. 2, n. 2, p. 1150-1153.
- SOZER, N.; KOKINI, J. L. 2009. Nanotechnology and its applications in the food sector. **Trends Biotechnology**, v. 27, p. 82–89.
- VARONA S.; MARTÍN A.; COCERO M.J. 2009. Formulation of a natural biocide based on lavandin essential oil by emulsification using modified starches. **Chemical Engineering and Processing**, v. 48, p. 1121-1128.
- VITALI, A. A.; QUAST, D. G. 2004. Vida-de-prateleira de alimentos. In: MOURA, S. C. S. R, GERMER, S. P. M. **Reações de Transformação e Vida-de-Prateleira de Alimentos Processados**, 3ª edição. Campinas: ITAL, cap. 3, p. 49-57.

YANG, F.L. et al. 2009. Caracterização estrutural de nanopartículas carregadas com óleo essencial de alho e sua atividade inseticida contra *Tribolium castaneum* (Herbst) (Coleoptera: Tenebrionidae). **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 57, n. 21.

4 CAPÍTULO IV

Persistência da atividade inseticida de emulsões, após exposição à luz germicida UVC (240 nm)

RESUMO

A degradação do ingrediente ativo é umas das principais características limitantes à utilização no campo de formulados à base de compostos extraídos de plantas com atividade inseticida, especialmente, decorrente da exposição à radiação ultravioleta. Neste estudo avaliou-se a toxicidade, sobre *Duponchelia fovealis* das emulsões dos óleos de gengibre (*Zingiber officinale* Roscoe), graviola (*Annona muricata* Linn) e neem (*Azadirachta indica* A. Juss) após exposição à radiação UVC (240 nm) por até 12 horas. As emulsões foram compostas da fase oleosa (óleos de gengibre, graviola e neem), do emulsificante à base de poliálcool de frutas, etanol e água. A testemunha foi composta dos mesmos reagentes, exceto do emulsificante. Os tempos de exposição foram de 2, 4, 6, 8, 10 e 12 horas. O efeito inseticida foi testado sobre larvas de 1º de *D. fovealis*. Mesmo após 12 horas de exposição a uma radiação extremamente forte, com efeito germicida e bactericida, as três formulações de emulsões provocaram alta mortalidade da praga, 90, 93 e 80% para os óleos de gengibre, graviola e neem, respectivamente. A mortalidade, sem a presença do emulsificante foi de 23% para os óleos de gengibre e graviola e 26% para o óleo de neem. Portanto, conclui-se que, a presença de um emulsificante, agente encapsulante, protege as emulsões contra a degradação pela exposição à radiação UV, podendo ser utilizada no campo, sem alteração da qualidade do produto.

Palavras- chaves: Encapsulamento; Bioinseticidas; Fotoproteção.

Persistence of insecticidal activity of emulsions after exposure to UVC germicidal light (240 nm)

ABSTRACT

The degradation of the active ingredient is one of the main limiting characteristics to the use in the field of formulations based on compounds extracted from plants with insecticidal activity, especially due to exposure to ultraviolet radiation. In this study, the toxicity was evaluated on *Duponchelia fovealis* of the emulsions of ginger oils (*Zingiber officinale* Roscoe), soursop (*Annona muricata* Linn) and neem (*Azadirachta indica* A. Juss) after exposure to UVC radiation (240 nm) for up to 12 hours. The emulsions were composed of the oily phase (ginger, soursop and neem oils), the emulsifier based on fruit polyalcohol, ethanol and water. The control was composed of the same reagents, except for the emulsifier. The exposure times were 2, 4, 6, 8, 10 and 12 hours. The insecticidal effect was tested on *D. fovealis* 1st larvae. Even after 12 hours of exposure to extremely strong radiation, with a germicidal and bactericidal effect, the three emulsion formulations caused high pest mortality, 90, 93 and 80% for ginger, soursop and neem oils, respectively. Mortality, without the presence of the emulsifier, was 23% for ginger and soursop oils and 26% for neem oil. Therefore, it is concluded that the presence of an emulsifier, an encapsulating agent, protects the emulsions against degradation by exposure to UV radiation, and can be used in the field, without changing the quality of the product.

Keywords: Encapsulation; Bioinsecticides; Photoprotection.

4.1 INTRODUÇÃO

É cada vez mais expressiva a busca por produtos seguros para o meio ambiente e a saúde humana. Alternativas adequadas são buscadas com objetivo de serem utilizadas no manejo de insetos pragas, com a finalidade de reduzir a utilização de inseticidas químicos. Incluindo o desenvolvimento de emulsões contendo óleos extraídos de plantas, que, embora elas mostrem excelente eficácia, a persistência geralmente não é relatada. Métodos e técnicas de formulação que aumentem a persistência devem ser estudados, para aumentar a credibilidade de bioinseticidas que são altamente promissores, resultando em produtos com melhor desempenho em campo, manuseio e aplicação aprimorados.

Em termos gerais, uma emulsão é considerada fisicamente instável se: a fase interna ou dispersa tende a formar agregados de gotículas; grandes gotículas se depositam no fundo ou aparecem na superfície do produto; todo o líquido da fase interna, ou parte dele, separa-se da fase dispersante e forma uma camada distinta no frasco, resultando na coalescência dos glóbulos da fase interna (ALLEN et al, 2007).

Poucas informações existem sobre a estabilidade de emulsões de óleos vegetais e uma forma de verificar essa estabilidade e persistência de uma emulsão é pela exposição à luz ultravioleta (UV). A radiação solar compreende as regiões do espectro eletromagnético e são divididas de acordo com o comprimento de onda correspondente: infravermelho (acima de 800 nm); luz visível (400 a 800 nm) e radiação ultravioleta (100 a 400 nm). Esta última dividida em UVA (320 - 400 nm), que subdivide-se em UV-A1 (340 a 400 nm) e UV-A2 (320 a 340 nm), essas atravessam a camada de ozônio; UVB (290 a 320 nm), que são parcialmente bloqueadas pela camada de ozônio e vidro e UVC (100 a 290 nm) que é bactericida pela ação esterilizante, bastante prejudicial e raramente atinge a superfície terrestre (MONTEIRO, 2008; MONTEIRO, 2010; MOTA, 2006).

As formulações devem permitir que o produto permaneça viável no ambiente por um tempo necessário para a ação. Estudos de laboratório e campo sugerem que a radiação solar, especialmente a porção ultravioleta é um dos

fatores mais importantes que afetam a persistência de bioinseticidas (PAWAR et al. 1995), porém, estudos que confirmam os impactos da radiação UV sobre esses, ainda são escassos.

Objetivou-se avaliar a atividade inseticida, sobre *D. fovealis*, de formulações de emulsões à base do óleo essencial de gengibre (*Z. officinale*) e dos óleos vegetais de neem (*A. indica*) e graviola (*A. muricata*), após exposição à luz UVC.

4.2 MATERIAL E MÉTODOS

4.2.1 Criação de *Duponchelia fovealis*

A criação de *D. fovealis* foi estabelecida no Setor de Entomologia do Núcleo de Desenvolvimento Científico e Tecnológico em Manejo Fitossanitário de Pragas e Doenças (NUDEMAFI), do Centro de Ciências Agrárias da Universidade Federal do Espírito Santo conforme item 2.1, capítulo II.

4.2.2 Preparo das emulsões

Foi empregada a mesma metodologia de preparo das emulsões descrita no item 2.7, capítulo II, mantendo-as, nas seguintes concentrações: o emulsificante um poliálcool derivado de frutas, a 1% (m/v), etanol (5% v/v), fase oleosa (óleos de gengibre, graviola e nem), a 0,9; 1,4 e 1,4% (v/v), respectivamente. Também foi realizado um ensaio sem a presença do emulsificante, mantendo-se os demais ingredientes, nas mesmas concentrações. A escolha das concentrações dos óleos foi baseada nos resultados obtidos no capítulo II, sendo escolhidas aquelas da escala logarítmica que promoveram a maior mortalidade de lagartas de primeiro instar, estabelecido por meio de ensaios preliminares.

4.2.3 Degradação fotoquímica assistida das emulsões dos óleos de *Zingiber officinale*, *Azadirachta indica* e *Annona muricata*

Placas de Petri® contendo 15 ml de emulsão de cada óleo foram dispostas na câmara de fluxo, agregadas de acordo com o tempo de exposição e identificadas (Figura 1). Os tempos de exposição à luz UVC (240 nm) foram de 2, 4, 6, 8, 10 e 12 horas. Nenhuma técnica, processo ou componentes de formulação descritos na literatura foram similares aos propostos neste trabalho.

4.2.4 Avaliação da atividade inseticida

Após cada período de exposição, pedaços de dieta artificial (1x1 cm), proposta por King; Hartley (1985) modificada foram imersos nas emulsões de cada tratamento por 10 segundos e transferidos para outra placa de Petri®. O excesso de emulsão foi retirado e seis lagartas foram transferidas para cada placa, que constituiu uma repetição, totalizando, cinco repetições por tratamento. Este ensaio foi realizado com lagartas de 1º instar e as placas de Petri® foram mantidas em câmara climatizada por 72 horas (temperatura de 25

± 1 °C, umidade relativa de $70 \pm 10\%$ e fotofase de 14 horas), até a avaliação da mortalidade.

O delineamento experimental utilizado foi inteiramente casualizado em esquema fatorial triplo $3 \times 2 \times 6$ (três emulsões; dois (ausência e presença do emulsificante) e 6 tempos de exposição à UVC), em cinco repetições. Os dados foram submetidos à análise de variância, as médias do fator quantitativo foram submetidas à análise de regressão e, quando necessário, as médias dos fatores qualitativos foram submetidas ao teste de Tukey em nível de 5% de probabilidade, utilizando o programa de estatística R versão 3.0.2 (R DEVELOPMENT CORE TEAM, 2009).



Figura 1- Disposição das placas de Petri® contendo as emulsões dos três óleos, para exposição por até 12 horas, à luz UVC (240 nm).

4.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os fatores emulsões, presença e ausência de emulsificante e tempo de exposição à luz UVC, apresentaram interação ($F= 2,352$, $p= 0,013$) e, de acordo com os resultados obtidos e expressos na Figura 2, observa-se que há degradação dos óleos de gengibre, graviola e neem, quando não encapsulados, pois a mortalidade de lagartas de 1º instar de *D. fovealis*, na ausência do emulsificante, reduziu com o aumento do tempo de exposição. Enquanto que, na presença desse agente emulsificante, os resultados foram significativamente melhores, pois a mortalidade permaneceu alta, 90, 93 e 80%

para os óleos de gengibre, graviola e neem, respectivamente, após 12 horas de exposição à luz UVC (Figura 2). Nanoencapsulados de *A. indica* exposto a UVB, por 60 minutos, também apresentaram atividade inseticida sobre lagartas de 1º instar de *Tuta absoluta* Meyrick 1917 (Lepidoptera: Gelechiidae) (FERREIRA et al., 2012).

A mortalidade de lagartas de *D. fovealis* de 1º instar, tratadas com os óleos vegetais, sem a presença do emulsificante foi de 23% para os óleos de gengibre e graviola e 26% para o óleo de neem (Figura 2). Isso pode ser explicado pelo fato de ocorrer o decréscimo de algumas substâncias que apresentam atividade inseticida na presença de luz, como o que aconteceu com o óleo de limão, no qual foram observadas reduções de geranial, terpinoleno e γ -terpineno (FINCKE; MAURER, 1974), sendo que, como já demonstrado no capítulo II, o geranial é um dos componentes majoritários do óleo de gengibre, logo, se há redução desse composto, há redução da atividade inseticida. O mesmo é observado para emulsão do óleo de neem, visto que, Forim et al. (2010) observaram que mesmo sob condições ideais de armazenamento (temperatura e umidade), a azadiractina sofre processos de degradação em função do tempo, conseqüentemente, se exposto a luz, a degradação é acelerada.

Os resultados de mortalidade foram similares com ou sem o emulsificante até 4 horas de exposição, para os óleos de gengibre e graviola, e para a emulsão do óleo de neem, até 6 horas de exposição. Nos demais tratamentos, a mortalidade foi superior na presença do emulsificante (Figura 2). Christofoli et al. (2015), observaram uma fotodegradação de 94,3% do óleo essencial *Zanthoxylum rhoifolium* Lam. in natura enquanto que, a degradação nas nanoesferas foi de 44,8%, após sete horas de exposição à luz. Nesse mesmo estudo, relataram que nanoesferas provocaram redução 95% e 93% da postura de *Bemisia tabaci* Gennadius 1889 biotipo B (Hemiptera: Aleyrodidae), em concentrações de 5% e 2%, respectivamente.

Existem mudanças em vários óleos sob o impacto da luz, porém, essas variam de acordo com as espécies vegetais, que respondem de maneira diferente, como por exemplo: o óleo essencial de tomilho, que não sofre muitas alterações, enquanto o óleo de alecrim é muito suscetível à luz do dia (TUREK;

STINTZING, 2011; TUREK; STINTZING; 2012). O teor de Z-citral, composto do óleo de *Cymbopogon citratus* (D.C.) Stapf aumentou duas vezes quando em contato com UVB (KUMARI et al., 2009). Da mesma forma, linalol, 1,8-cineol, germacreno e eugenol aumentaram três vezes no óleo de *Ocimum basilicum* L. e os compostos catharantina e a vindolina aumentaram 3 e 12 vezes, respectivamente, em *Catharanthus roseus* G. Don. (NITZ; SCHNITZLER, 2004). Já, o composto junipene, do óleo essencial de *Cymbopogon flexuosus* (Nees ex Steud), aumentou em 50 vezes, após 15 minutos de exposição na luz UVB (VINUTHA et al. 2013). Vale ressaltar, que os resultados expressos foram da ação da luz UV sobre óleos, não sobre emulsões dos mesmos, visto que, os estudos desse tipo de formulação, expostas à radiação, ainda são escassos.

O óleo essencial de cebolinha (*Allium fistulosum* Linn), exposto a um comprimento de onda entre 200 e 240 nm (mesmo utilizado nesse trabalho), utilizando-se dois solventes (etanol e hexano), porém, sem um agente emulsificante, foi degradado em apenas um minuto de exposição quando o solvente era etanol e em hexano, a partir de 3 minutos (MARTENDAL et al., 2012).

Ao comparar os óleos dentro de cada tempo de exposição e ausência ou presença do emulsificante (Figura 3), observa-se que, somente no período de 10 horas de exposição à luz UVC, o óleo de gengibre foi superior aos demais, quando havia presença do emulsificante na formulação, nos demais tempos, não houve diferença estatística entre os mesmos. Essa mesma emulsão, apresentou resultados inferiores nos tempos de exposição de 6 e 8 horas, sem a presença do reagente, fato este, que pode estar relacionado aos compostos denominados monoterpenos, presentes na composição química do óleo essencial de gengibre, pois segundo Misharina et al. (2003), essas substâncias se degradam rapidamente sob a influência da luz, alterando a composição química do óleo. Com os resultados obtidos nesse estudo, pode-se afirmar que, o encapsulamento protege o óleo de gengibre, pois sua atividade inseticida foi mantida.

A redução da mortalidade, na ausência do emulsificante (Figuras 2 e 3) possivelmente, são consequências das reações de degradação que alteraram a composição química dos óleos e potencialmente interferem na atividade

inseticida, evidenciando a necessidade de um sistema que dê proteção contra essa degradação causada pela radiação UV. Além disso, uma formulação de maior solubilidade em água reduz o número de aplicações necessárias.

Assim sendo, é possível afirmar que as emulsões dos óleos de gengibre, graviola e neem, são resistentes aos processos de degradação fotoquímica, por até 12 horas de exposição à luz UVC. O comprimento de onda que essa luz possui, raramente atinge a superfície terrestre, como já mencionado anteriormente, conseqüentemente, se as emulsões continuam apresentando efeito inseticida sobre *D. fovealis*, após exposição a uma radiação de maior energia e, portanto, mais prejudicial em relação às demais faixas de comprimento de onda de radiação, presume-se que no campo esse efeito será mantido, pois as radiações UVA e UVB são luzes de menor energia, comparadas à UVC e são essas que atravessam a camada de ozônio e chegam à superfície terrestre.

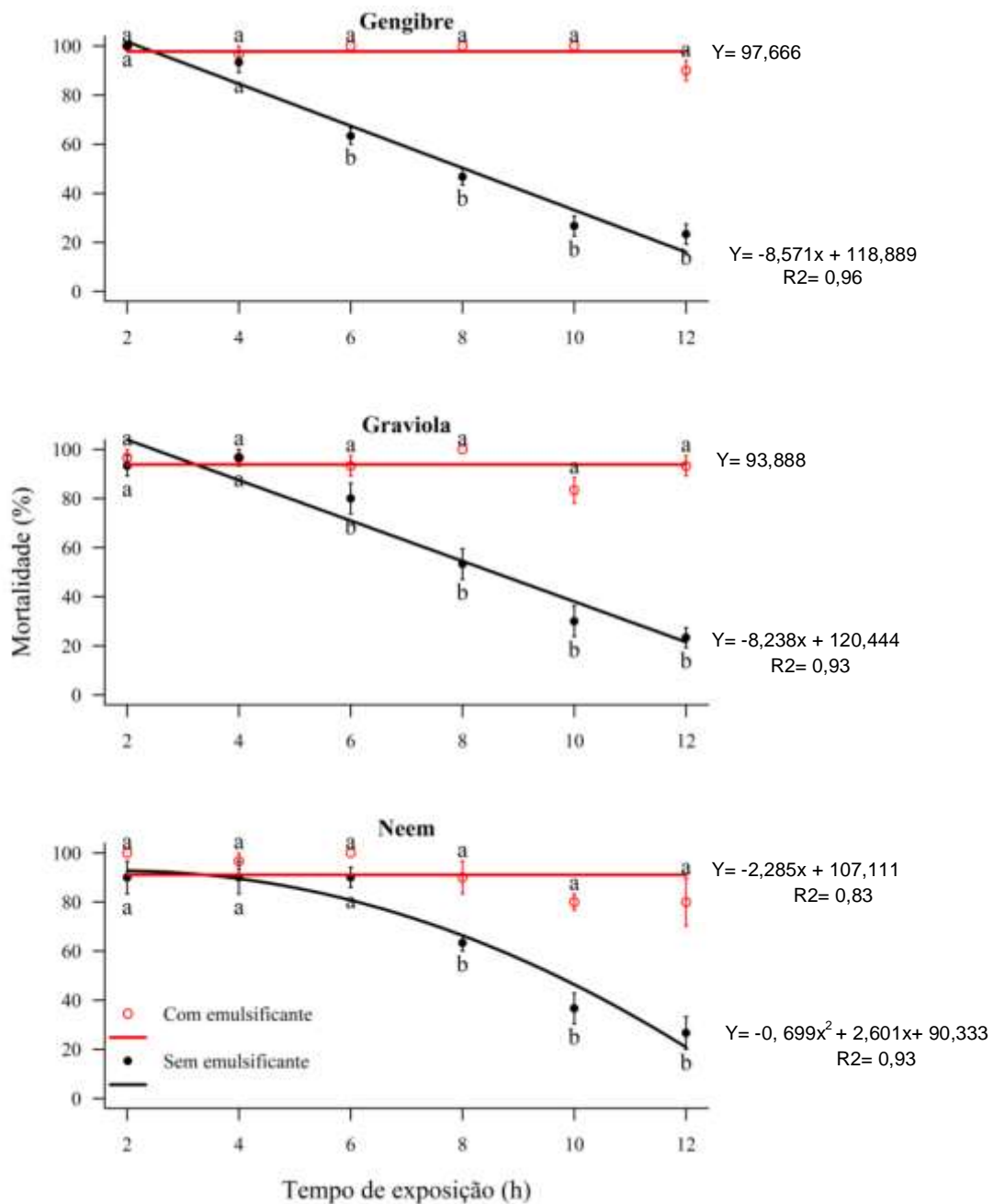


Figura 2- Atividade inseticida das emulsões dos óleos de gengibre, graviola e neem, sobre lagartas de 1^o instar de *Duponchelia fovealis*, após 12 horas de exposição à luz UVC (240 nm). As médias do fator emulsificante, dentro de cada tempo de exposição, seguidas por uma mesma letra, não diferem entre si ao nível de 5% de significância.

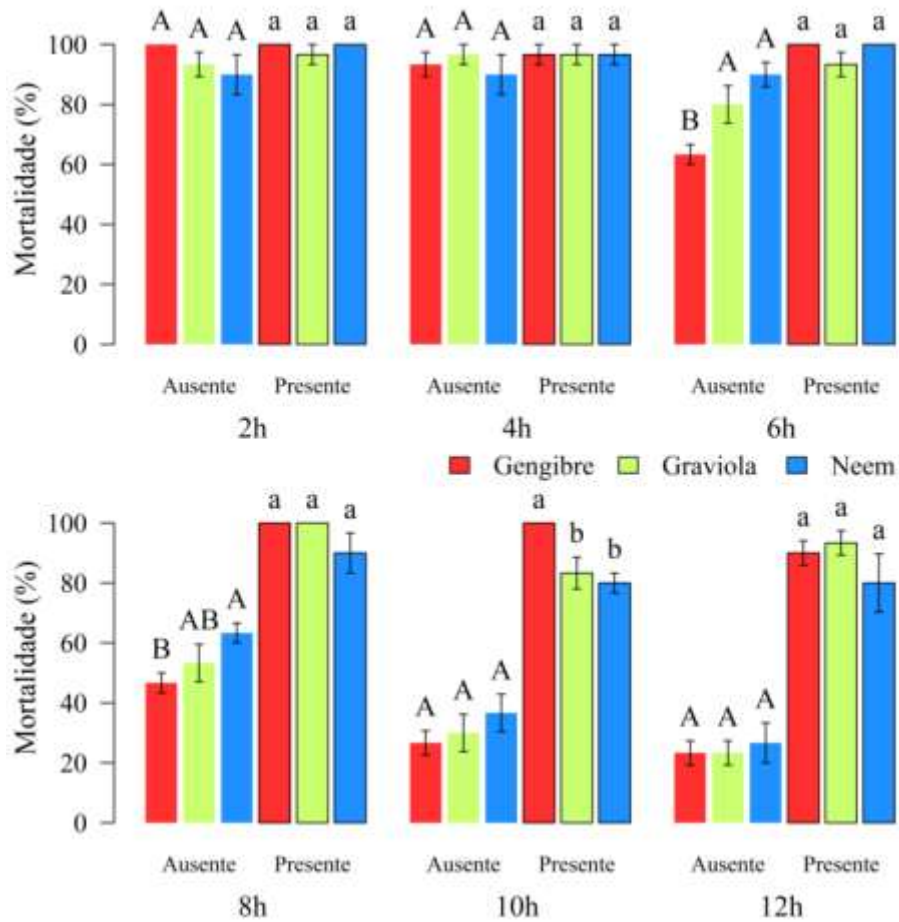


Figura 3- Atividade inseticida das emulsões dos óleos de gengibre, graviola e neem, sobre lagartas de 1º instar *Duponchelia fovealis*, após 12 horas de exposição à lâmpada germicida UVC (comprimento de onda de 240 nm), com presença e ausência do emulsificante. Letras maiúsculas comparam os óleos dentro de ausência do emulsificante e letras minúsculas comparam os óleos dentro da presença do emulsificante.

4.5 CONCLUSÃO

- O emulsificante utilizado protegeu os óleos de gengibre, graviola e neem, após 12 horas de exposição à luz UVC e preservou a toxicidade sobre lagartas de 1º instar de *D. fovealis*

4.5 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALLEN Jr, L. V.; POPOVICH, N. G.; ANSEL, H. C. 2007. **Formas Farmacêuticas e Sistemas de Liberação de Fármacos**. Porto Alegre: Artmed.

CHRISTOFOLI, M. et al. 2015. Insecticidal effect of nanoencapsulated essential oils from *Zanthoxylum rhoifolium* (Rutaceae) in *Bemisia tabaci* populations. **Industrial Crops and Products**, v. 70, p. 301-308.

FERREIRA, F.T.R., VENDRAMIM, J.D., FORIM, M.R., 2012. Bioatividade de nanoformulações de nim sobre a traça-do-tomateiro. **Ciência Rural**, v. 42, p. 1347–1353.

FIGUEIREDO, A.C,et al. 2008. Factors affecting secondary metabolite production in plants: volatile components and essential oils. **Flavour Fragrance Journal**, v. 23, p. 213–26.

FINCKE, A; MAURER, R. 1974. **Verhalten von Citronenol bei der Herstellung und Lagerung citronenolhaltiger Zuckerwaren**. 2. Mitteilung: Lager- und Herstellungsversuche. Dtsch Lebensm Rdsch, cap. 70, n. 100.

FORIM, M. R. et al. 2010. Uso de CLAE no controle de qualidade em produtos comerciais de nim: Reprodutibilidade da ação inseticida. **Química Nova**, v. 33, p. 1082-1087.

KUMARI. R.; AGARWAL, S.B.; SARKAR, A. 2009. Evaluation of changes in oil cells and composition of essential oil in lemongrass (*Cymbopogon citratus* (D.C.) Stapf.) due to supplemental ultraviolet-B irradiation. **Current Science**, v. 97, n. 8, p. 1137-1142.

MARTENDAL, J.; SANTOS, A.; LOBO, V. 2012. **Estudo da fotodegração do óleo essencial de cebolinha (*Allium fistulosum*) em solventes orgânicos etanol e hexano**. 52º Congresso Brasileiro de Química. Recife, PE.

MISHARINA, T. A. et al. 2003. Changes in the Composition of the Essential Oil of Marjoram during Storage. **Applied Biochemistry and Microbiology**, v. 39, p. 311–316.

MONTEIRO, E.O. 2010. Filtros solares e fotoproteção. **Revista Brasileira de Medicina**, v. 67, p. 5–18.

MONTEIRO, M.S.D.B. 2008. **Filtros Solares em Nanocosméticos: Desenvolvimento e Avaliação da Segurança e Eficácia**. Rio de Janeiro. 164 p. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas), Universidade Federal do Rio de Janeiro. Rio de Janeiro.

MOTA, J.P. 2006. **Classificação de fototipos de pele: Análise fotoacústica versus análise clínica**. São José dos Campos. 57 p. Dissertação (Mestrado em Engenharia Biomédica), Instituto de Pesquisa e Desenvolvimento da Universidade do Vale do Paraíba. São José dos Campos.

NITZ, G.M.; SCHNITZLER, W.H. 2004. Effect of PAR and UV-B radiation on the quality and quantity of the essential oil in sweet basil (*Ocimum basilicum* L.). **Acta Horti** (ISHS), v. 659, p. 375-381.

PAWAR, V.M., U.T. THOMBRE & D.G. CHAUDHARI. 1995. Effectiveness of baculoviruses as influenced by different additives, p.681-688. In **L.F. Chester (ed.), Adjuvants for agrichemicals**. Boca Raton, CRC Press.

R DEVELOPMENT CORE TEAM. R: **A language and environment for statistical computing**. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria, 2017.

SCHMIDT, E. 2010. Production of essential oils. In: Basler KH, Buchbauer G, editors. **Handbook of essential oils. Science, technology, and applications**. Boca Raton, Fla.: CRC Press. p. 83–119.

TUREK, C.; STINTZING, F.C. 2011. Evaluation of selected quality parameters to monitor essential oil alteration during storage. **Journal of Food Science**, v. 76, n. 1365, p.75.

TUREK, C.; STINTZING, F.C. 2012. Impact of different storage conditions on the quality of selected essential oils. **Food Research International**, v. 46, n. 341, p. 53.

VINUTHA, M.; THARASARASWATHI, K.J.; JAYALAKSHMI, N.R. 2013. Effect of uUV-B on Essential oil from aerial and sub - aerial parts of *C. flexuosus* (Nees ex Steud), **International Journal of advance research**. v. 7, p. 263 -271

5. CONSIDERAÇÕES FINAIS

Por ser uma espécie de inseto praga, relativamente nova no Brasil, ainda não há produtos registados para o controle de *Duponchelia fovealis*, isso faz com que os danos e prejuízos sejam ainda maiores nos campos de produção. Conseqüentemente, torna-se de grande importância a implementação de novos métodos de controle dessa praga, uma vez que a utilização indiscriminada de insetidas nessa cultura tem sido um dos maiores impasses para reduzir os resíduos de agrotóxicos no produto a ser comercializado e que venha a agredir menos a saúde do agricultor e o meio ambiente. O presente trabalho estudou novas formas de controle que envolva o Manejo Fitossanitário de Pragas (MFP) com o intuito de minimizar a utilização de insetidas em morangueiro.

A partir dos resultados obtidos e expressos nesse estudo, as emulsões, dos três óleos extraídos de plantas, se mantiveram estáveis e apresentaram atividade inseticida sobre *D. fovealis* mesmo após 365 dias de armazenamento e após exposição à radiação UVC, conhecida como “germicida”, comprimento de onda de 240 nm, por até 12 horas. O contrário foi observado naquelas em que não havia o emulsificante, a mortalidade da praga decresceu com o aumento do tempo de exposição.

Dessa forma, pode-se concluir que, as emulsões dos óleos de gengibre, graviola e neem podem ser utilizadas no manejo de *D. fovealis*, pois o emulsificante preservou a estabilidade e toxicidade, devido a uma menor degradação das formulações, características importantes para melhorar a eficiência, no campo, de formulados baseadas em óleos vegetais.

Através do presente estudo, é possível fornecer novas ferramentas a serem utilizadas no Manejo Fitossanitário de *D. fovealis*, visando menor utilização de agrotóxicos para a cultura do morango. Porém, estudos que envolvam associação desses métodos são necessários.