

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

ALIXELHE PACHECO DAMASCENA

**USO DE AGENTES BIOLÓGICOS E FITOQUÍMICOS VISANDO AO MANEJO
DE *Spodoptera eridania* (LEPIDOPTERA: NOCTUIDAE)**

**ALEGRE
ESPÍRITO SANTO – BRASIL
2023**

ALIXELHE PACHECO DAMASCENA

**USO DE AGENTES BILÓGICOS E FITOQUÍMICOS VISANDO AO MANEJO
DE *Spodoptera eridania* (LEPIDOPTERA: NOCTUIDAE)**

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Agronomia do Centro de Ciências Agrárias e Engenharias da Universidade Federal do Espírito Santo, como requisito parcial para a obtenção do título de Doutora em Agronomia, na área de concentração Proteção Sustentável de Plantas, linha Entomologia.

Orientador: Prof. Dr. Dirceu Pratissoli

Coorientador: Prof. Dr. Luciano Menini

ALEGRE

ESPÍRITO SANTO – BRASIL

2023

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

D155u Damascena, Aixelhe Pacheco, 1995-
USO DE AGENTES BIOLÓGICOS E FITOQUÍMICOS
VISANDO AO MANEJO DE *Spodoptera eridania*
(LEPIDOPTERA: NOCTUIDAE) / Aixelhe Pacheco
Damascena. - 2023.
122 f. : il.

Orientador: Dirceu Pratissoli.

Coorientador: Luciano Menini.

Tese (Doutorado em Agronomia) - Universidade Federal do Espírito Santo, Centro de Ciências Agrárias e Engenharias.

1. Manejo Integrado de Pragas. 2. Seletividade. 3. Inseticidas Botânicos. 4. Controle Biológico. 5. Parasitoide. 6. Entomopatógenos. I. Pratissoli, Dirceu. II. Menini, Luciano. III. Universidade Federal do Espírito Santo. Centro de Ciências Agrárias e Engenharias. IV. Título.

CDU: 63

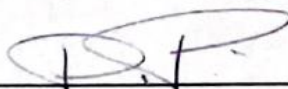
ALIXELHE PACHECO DAMASCENA

**USO DE AGENTES BIOLÓGICOS E FITOQUÍMICOS VISANDO AO MANEJO
DE *Spodoptera eridania* (LEPIDOPTERA: NOCTUIDAE)**

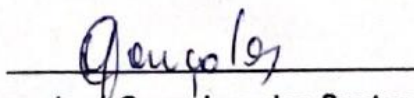
Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Agronomia do Centro de Ciências Agrárias e Engenharias da Universidade Federal do Espírito Santo, como requisito parcial para a obtenção do título de Doutora em Agronomia, na área de concentração Proteção Sustentável de Plantas, linha de pesquisa Entomologia.

Aprovada em 17/02/2023

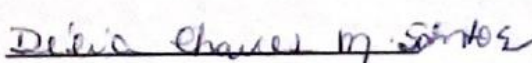
Comissão examinadora



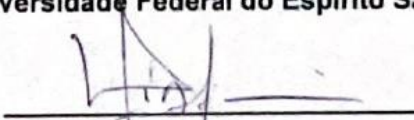
Orientador: Dr. Dirceu Pratissoli
Universidade Federal do Espírito Santo



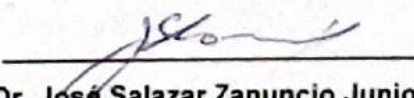
Dr. Hugo José Gonçalves dos Santos Júnior
Universidade Federal do Espírito Santo



Dra. Délia Chaves Moreira dos Santos
Universidade Federal do Espírito Santo



Dr. Victor Dias Pirovani
Instituto Federal do Espírito Santo



Dr. José Salazar Zanuncio Junior
Instituto Capixaba de Pesquisa, Assistência Técnica e Extensão Rural

DEDICATÓRIA

Com todo meu amor, dedico esse trabalho ao meu avô materno que chamo carinhosamente de vô Tião (*in memoriam*), que é meu maior exemplo de dedicação a família, honestidade, serenidade, amor ao próximo e temor a Deus. Meu avô me ensinou a gostar do campo, a gostar de café e a entender que botina é o calçado mais confortável que existe. Com meu avô aprendi que os momentos difíceis devemos enfrentar com um sorriso no rosto, afinal estar vivo é a maior dádiva do ser humano. Com meu avô também aprendi que a melhor parte da vida não são as coisas, que ser rico não é sobre ter dinheiro e que o mais importante é viver os nossos dias aqui na terra junto as pessoas que mais amamos. As frases “arroz com feijão nunca vai faltar aqui” e “filha, não vai embora para aquele lugar longe”, foram as que marcaram minha vida, me fizeram tomar decisões nas quais hoje me orgulho muito e me trouxeram até aqui. Te amo vô, imagino que o senhor esteja orgulhoso em me ver chegar aqui.

AGRADECIMENTOS

A Deus, pelo dom da vida, por ter me sustentado até aqui, guiado todos meus passos, me dando sabedoria, consolo e conforto em todos os momentos.

Ao Centro de Ciências Agrárias e Engenharias da Universidade Federal do Espírito Santo, Campus Alegre e ao programa de Pós-graduação em Agronomia pelo suporte para realização do trabalho e pela oportunidade de estudo.

A CAPES (Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior) pela concessão da bolsa de estudos e aos demais órgãos de fomento que financiaram a pesquisa. O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES) – Código de Financiamento 001.

A Fundação de Amparo à Pesquisa e Inovação do Espírito Santo (FAPES) e ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) pelo apoio financeiro.

Ao meu orientador prof. Dr. Dirceu Pratissoli pela orientação, pela oportunidade de trabalho, pelos conhecimentos transmitidos, pela amizade, pelas conversas, pelos conselhos e pela confiança.

Aos meus pais, Jany e Alecir, por todo o amor dedicado, por serem meu porto seguro e o motivo que me faz acordar todos os dias para correr atrás dos meus objetivos e sonhos. Gratidão por sempre estarem ao meu lado, por acreditarem em mim e não medirem esforços para a realização dos meus sonhos.

Ao meu irmão Alexandre e minha cunhada Luana pelo apoio, incentivo e por acreditarem em meu potencial.

Ao meu sobrinho Arthur, por me ensinar tanto, mesmo sendo uma criança, a ver sempre o lado bom da vida e por ser minha distração nos momentos difíceis.

Aos meus avós maternos, Vô Tião (*in memoriam*) vó Gracinha e aos meus avós paternos (Vó Neco e vô Juca) por serem meus maiores exemplos de ser humano, simplicidade e honestidade.

A toda minha família (tios, tias, primos e primas) pelo apoio, orações, incentivo e por todo carinho.

Aos amigos e colegas, pelo companheirismo, amizade, e pela torcida.

Ao meu namorado Victor, que mesmo tendo entrado em minha vida nos últimos meses me incentivou todos os dias, se mostra um grande companheiro e tem apoiado e acreditado nos meus sonhos como se fosse os dele.

A todos meus amigos, colegas integrantes e ex-integrantes do laboratório de Entomologia (NUDEMAFI) pela ajuda, pelos momentos vividos e por termos nos transformado em uma família. Em especial, agradeço aos meus estagiários, pela ajuda nas manutenções de insetos, nos experimentos e também pelos momentos de distração. Agradeço a Lorena e Laura, pelo apoio, pelos conselhos, pela disponibilidade em ouvir, pelo abraço acolhedor e por sempre transmitirem segurança, confiança e paz interior. À minha amiga Luiza pelo auxílio em todos os experimentos, pela companhia, pelos conhecimentos compartilhados, pelas risadas, pelas avaliações divertidas e por ter tornado todo o trabalho prazeroso, agradeço também pelas conversas diárias, por ter me acompanhado em muitos momentos de dificuldade e de alegrias, por se fazer presente, mesmo no último ano estando a quilômetros. Ao Luís, pelo auxílio em todas as etapas desse trabalho, pelas conversas e pela amizade.

Aos professores do curso de Pós-graduação em Agronomia e em especial aos professores da minha linha de pesquisa pelos ensinamentos transmitidos e que auxiliaram de alguma forma na condução desse trabalho.

Aos técnicos Léo Mardgan e Carlos Magno pela ajuda no laboratório e casa de vegetação, pelos momentos de distração e pela amizade.

Aos demais funcionários da UFES que colaboraram de forma direta e indireta para a realização desse trabalho.

A banca examinadora por ter aceito o convite.

A todos que diretamente ou indiretamente fizeram parte da minha formação, meu muito obrigada.

EPÍGRAFE

O coração do homem traça o seu caminho, mas o SENHOR lhe dirige os
passos.

Provérbios 16:9

“Na vida, não vale tanto o que temos, nem tanto importa o que somos. Vale o
que realizamos com aquilo que possuímos e, acima de tudo, importa o que
fazemos de nós”.

Chico Xavier

RESUMO

DAMASCENA, Aixelhe Pacheco, D. Sc. Universidade Federal do Espírito Santo. Fevereiro de 2023. **Uso de agentes biológicos e fitoquímicos visando ao manejo de *Spodoptera eridania* (Lepidoptera: Noctuidae)**. Orientador: Prof. Dr. Dirceu Pratissoli.

A olericultura é uma excelente opção para agricultura familiar. No entanto, o cultivo de olerícolas tem passado por dificuldades como déficit hídrico, escassez de mão-de-obra e alta incidência de pragas, destacando-se *Spodoptera eridania*. Diferentes métodos de manejo dessa praga são estudados para ampliar as opções existentes. Grande parte do manejo é realizado por inseticidas sintéticos, porém existem poucos produtos registrados para as culturas, além de apresentarem baixa eficiência. Sendo assim, é de grande importância o estudo de alternativas que reduzam o uso de agrotóxicos no manejo de pragas. O objetivo dessa pesquisa foi avaliar a eficiência e seletividade dos óleos de eucalipto (*Eucalyptus citriodora*) alecrim (*Rosmarinus officinalis*), sálvia (*Salvia sclarea*), manjerição doce (*Ocimum basilicum*), citronela (*Cymbopogon winterianus*), neem (*Azadirachta indica*), gengibre (*Zingiber officinale*), graviola (*Annona muricata*) e dos compostos isolados eugenol e d-limoneno, como estratégia alternativa de manejo de *S. eridania* através de estudos avaliando a (1) eficiência de óleos essenciais, fixos e compostos isolados no manejo de *Spodoptera eridania*; (2) compatibilidade de *Heterhabditis amazonensis* e *Steinernema rarum* com óleos essenciais, fixos e compostos isolados; (3) seletividade de óleos essenciais, fixos e compostos isolados a *Trichogramma pretiosum* Riley, 1879 (Hymenoptera: Trichogrammatidae); (4) eficiência do novo isolado nucleopolyhedrovirus no manejo de *Spodoptera eridania*. A partir dos resultados obtidos, verificou-se que: (1) o uso de óleos essenciais, fixos e compostos isolados são eficientes no manejo de *S. eridania*, com ênfase nos compostos eugenol e d-limoneno; (2) todos os óleos testados reduzem a eficiência de *H. amazonensis* e *S. rarum*. Porém, na infectividade do juvenil, o composto majoritário d-limoneno foi considerado não tóxico para *H. amazonensis* e *S. rarum*, óleo de graviola como não tóxico para *H. amazonensis* e óleo de alecrim como não tóxico para *S. rarum*, pela classificação toxicológica

da IOBC; (3) na ação de óleos e compostos isolados sobre o parasitismo de *T. pretiosum*, todos os óleos e compostos testados reduzem a longevidade de fêmeas, sendo que ovos de *Anagasta kuehniella* tratados com o composto isolado eugenol e os óleos de *O. basilicum*, *E. citriodora*, *Z. officinale*, *S. sclarea*, *R. officinalis* e *C. winterianus* não foram parasitados por fêmeas de *T. pretiosum* e conseqüentemente não houve emergência de indivíduos nesses tratamentos; e, (4) um novo isolado de baculovírus de *S. eridania* foi identificado (*Spodoptera eridania* nucleopolyhedrovirus Se04), apresentando-se como letal para larvas de *S. eridania*.

Palavras-chave: Manejo Integrado de Pragas. Seletividade. Inseticidas Botânicos. Controle Biológico. Parasitoide. Entomopatógenos

ABSTRACT

DAMASCENA, Aixelhe Pacheco, D. Sc. Universidade Federal do Espírito Santo. February de 2023. **Use of biological and phytochemical agents aimed at the management of *Spodoptera eridania* (Lepidoptera: Noctuidae).** Advisor: Prof. Dr. Dirceu Pratisoli.

Olericulture is an excellent option for family farming. However, the cultivation of vegetables has gone through difficulties such as water deficit, shortage of labor and high incidence of pests, especially *Spodoptera eridania*. Different management methods for this pest are studied to expand the existing options. Much of the management is carried out by synthetic insecticides, but there are few products registered for crops, in addition to having low efficiency. Therefore, it is of great importance to study alternatives that reduce the use of pesticides in pest management. The objective of this research was to evaluate the efficiency and selectivity of eucalyptus (*Eucalyptus citriodora*) oils, rosemary (*Rosmarinus officinalis*), sage (*Salvia sclarea*), sweet basil (*Ocimum basilicum*), citronella (*Cymbopogon winterianus*), neem (*Azadirachta indica*), ginger (*Zingiber officinale*), soursop (*Annona muricata*) and the isolated compounds eugenol and d-limonene, as an alternative management strategy for *S. eridania* through studies evaluating the (1) efficiency of essential oils, fixed oils and isolated compounds in the management of *Spodoptera eridania*; (2) compatibility of *Heterhabditis amazonensis* and *Steinernema rarum* with essential oils, fixed and isolated compounds; (3) selectivity of essential oils, fixed and isolated compounds to *Trichogramma pretiosum* Riley, 1879 (Hymenoptera: Trichogrammatidae); (4) efficiency of the new nucleopolyhedrovirus isolate in the management of *Spodoptera eridania*. From the results obtained, it was verified that: (1) the use of essential oils, fixed and isolated compounds are promising in the management of *S. eridania*, with emphasis on eugenol and d-limonene compounds; (2) all tested oils reduce the efficiency of *H. amazonensis* and *S. rarum*. However, in the infectivity of the juvenile, the major compound d-limonene was considered non-toxic to *H. amazonensis* and *S. rarum*, soursop oil as non-toxic to *H. amazonensis* and rosemary oil as non-toxic to *S. rarum*, according to

the classification IOBC toxicology; (3) in the action of isolated oils and compounds on the parasitism of *T. pretiosum*, all oils and compounds tested reduced the longevity of females, and *Anagasta kuehniella* eggs treated with the isolated compound eugenol and the oils of *O. basilicum*, *E. citriodora*, *Z. officinale*, *S. sclarea*, *R. officinalis* and *C. winterianus* were not parasitized by females of *T. pretiosum* and consequently there was no emergence of individuals in these treatments; and, (4) a new isolate of *S. eridania* baculovirus was identified (*Spodoptera eridania* nucleopolyhedrovirus Se04), presenting itself as lethal for *S. eridania* larvae.

Keywords: Integrated Pest Management. Selectivity. Botanical Insecticides. Biological control. Parasitoid. Entomopathogens

SUMÁRIO

1	CAPÍTULO I.....	17
1.1	INTRODUÇÃO.....	17
1.2	REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	18
1.2.1	Importância da olericultura.....	18
1.2.2	Aspectos Gerais de <i>Spodoptera eridania</i> (Cramer, 1782) (Lepidoptera: Noctuidae)	19
1.2.3	Óleos como bioinseticidas para o manejo de pragas	21
1.2.4	Emulsões	22
1.2.5	Encapsulamento	23
1.2.5.1	Métodos de obtenção de microcápsulas.....	25
1.2.5.3	Mecanismos de liberação em microcápsulas	25
1.2.6	Seletividade de óleos e compostos isolados a organismos benéficos	26
1.3	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	28
2	CAPITULO II	38
2.1	INTRODUÇÃO.....	40
2.2	MATERIAL E MÉTODOS.....	41
2.2.1	Criação e manutenção de <i>Spodoptera eridania</i>	41
2.2.2	Extração do óleo essencial de origem natural	42
2.2.2.1	Óleo de gengibre (<i>Zingiber officinale</i> Roscoe).....	42
2.2.2.2	Óleo de graviola (<i>Annona muricata</i> Linn).....	43
2.2.3	Obtenção dos óleos comerciais e produto isolado	43
2.2.4	Caracterização química dos óleos essenciais e produtos isolados ..	44
2.2.5	Preparo das emulsões	44
2.2.6	Bioensaio de suscetibilidade das pragas as emulsões	44
2.2.7	Análise estatística	45
2.2.8	Bioensaios em casa de vegetação	45
2.2.8.1	Cultivo de tomateiro	45
2.2.8.2	Eficiência de formulações a base de d-limoneno no manejo de <i>Spodoptera eridania</i>	46
2.2.8.3	Efeito residual das formulações em plantas.	47

2.3 RESULTADOS.....	47
2.3.1 Caracterização química dos óleos essenciais	47
2.3.2 Bioensaio de suscetibilidade das pragas as emulsões.....	49
2.3.3 Eficiência de formulações a base de d-limoneno sobre <i>Spodoptera eridania</i>	50
2.3.4 Efeito residual das formulações a base de d-limoneno sobre <i>Spodoptera eridania</i>	50
2.4 DISCUSSÃO	51
2.5 CONCLUSÃO	53
2.6 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	53
3 CAPÍTULO III	59
3.1 INTRODUÇÃO.....	63
3.2 MATERIAL E MÉTODOS.....	63
3.2.1 Obtenção e multiplicação dos nematoides entomopatogênicos.....	64
3.2.1 Manutenção e multiplicação dos insetos.....	65
3.2.1.1 Criação de <i>Tenebrio molitor</i>	65
3.2.1.2 Criação de <i>Spodoptera eridania</i>	65
3.2.2 Obtenção e produção dos óleos e compostos isolados.....	66
3.2.3 Toxicidade de óleos e compostos isolados a nematoides entomopatogênicos.....	67
3.2.4 Mobilidade de nematoides entomopatogênicos submetidos à aplicação de óleos e compostos isolados.....	68
3.2.5 Infectividade de nematoides entomopatogênicos em larvas de <i>Spodoptera eridania</i> submetidos à aplicação de óleos essenciais, fixos e compostos isolados.....	68
3.3 RESULTADOS.....	70
3.3.1 Toxicidade de óleos e compostos isolados a nematoides entomopatogênicos.....	70
3.3.2 Mobilidade de nematoides entomopatogênicos submetidos à aplicação de óleos e compostos isolados	71
3.3.3 Infectividade de nematoides entomopatogênicos em larvas de <i>Spodoptera eridania</i> submetidos à aplicação de óleos essenciais, fixos e compostos isolados.....	73
3.4 DISCUSSÃO	77

3.5 CONCLUSÃO	79
3.6 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	80
4 CAPÍTULO IV	87
4.1 INTRODUÇÃO.....	89
4.2 MATERIAL E MÉTODOS.....	90
4.2.1 Obtenção multiplicação de <i>Trichogramma pretiosum</i>	90
4.2.2 Multiplicação do hospedeiro alternativo <i>Anagasta kuehniella</i>	90
4.2.3 Obtenção dos óleos e compostos isolados.....	91
4.2.4 Toxicidade de óleos e compostos isolados sobre o parasitismo de <i>Trichogramma pretiosum</i>	91
4.2.5 Toxicidade de óleos e compostos isolados sobre <i>Trichogramma pretiosum</i> em diferentes fases de desenvolvimento	92
4.3 RESULTADOS.....	93
4.3.1 Toxicidade de óleos e compostos isolados sobre o parasitismo de <i>Trichogramma pretiosum</i>	93
4.3.1.1 Longevidade das fêmeas e razão sexual da geração parental e geração F1.....	93
4.3.1.2 Parasitismo de fêmeas das gerações: parental, F1 e F2.....	94
4.3.1.3 Emergência dos parasitoides nas gerações F1 e F2.....	95
4.3.2 Toxicidade de óleos e compostos isolados sobre <i>Trichogramma pretiosum</i> em diferentes fases de desenvolvimento	96
4.3.2.1 Emergência das gerações F1 e F2.....	96
4.3.2.2 Longevidade das fêmeas de <i>Trichogramma pretiosum</i> na geração F1 e F2	98
4.3.2.3 Parasitismo de fêmeas das gerações F1 e F2.....	99
4.3.2.4 Razão sexual nas gerações F1 e F2	101
4.4 DISCUSSÃO.....	102
4.4.1 Toxicidade de óleos e compostos isolados sobre o parasitismo de <i>Trichogramma pretiosum</i>	102
4.4.2 Toxicidade de óleos e compostos isolados sobre <i>Trichogramma pretiosum</i> em diferentes fases de desenvolvimento	104
4.5 CONCLUSÃO	105
4.6 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	106
5 CAPÍTULO V	112

5.1 INTRODUÇÃO	114
5.2 MATERIAL E MÉTODOS.....	115
5.2.1 Obtenção, purificação dos corpos de oclusão (OBs) e caracterização do isolado	115
5.2.1 Manutenção e multiplicação de <i>Spodoptera eridania</i>	115
5.2.3 Patogenicidade do isolado a <i>Spodoptera eridania</i>	116
6.2.4 Especificidade do isolado	117
5.3 RESULTADOS.....	117
5.3.1 PCR e sequenciamento	117
5.3.2 Patogenicidade do isolado a <i>Spodoptera eridania</i>	117
5.3.1 Especificidade do isolado	118
5.4 DISCUSSÃO	118
5.5 CONCLUSÃO	119
5.6 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	119
CONSIDERAÇÕES FINAIS	122

1 CAPÍTULO I

1.1 INTRODUÇÃO

Spodoptera eridania (Lepidoptera: Noctuidae) é um inseto praga conhecido popularmente como lagarta das folhas ou lagarta-da-vagem (EFROM et al., 2013). Considerada como praga de importantes culturas como algodão (*Gossypium hirsutum* L.), soja (*Glycine max* L.) (FAVETTI et al., 2015; SANTOS et al., 2010) e tomateiro (*Lycopersicon esculentum* Mill.) (MIRANDA et al., 2005), essa espécie tem sido relatada ocasionando perdas significativas na produção de tais culturas (PRATISSOLI, 2015).

Métodos de manejo para *S. eridania* devem ser estudados, visando ampliar as opções já existentes. Os óleos essenciais e/ou fixos se apresentam como alternativa no manejo, afetando o desenvolvimento e a sobrevivência de insetos praga de diferentes ordens (MIRESMAILLI; ISMAN, 2014; GHABBARI et al., 2018; SOUZA; VIEIRA; NEVES, 2019). Os inseticidas botânicos têm a vantagem de reduzir o risco de resistência cruzada pela complexa estrutura química dos constituintes, diminuindo a pressão de seleção de insetos resistentes. Além disso, degradam-se rapidamente, reduzindo os danos à saúde humana e ao meio ambiente (ZACHARIA, 2011).

Entretanto, devido à baixa solubilidade dos óleos em água e sua elevada volatilidade, os emulsificantes, os quais são aditivos de grande importância nas indústrias alimentícias e farmacêuticas, têm se destacado nas técnicas de encapsulamento, tornando a solução homogênea (SOUZA; VIEIRA; NEVES, 2019; CORREA et al., 2019). O encapsulamento tem o propósito de aumentar a viabilidade dos óleos por meio da estabilização da solução, protegendo as moléculas das intempéries ambientais, o que pode prolongar o seu efeito em condições de campo e/ou casa de vegetação (AGUIAR, 2017; AZEVEDO et al., 2018). Portanto estudos que avaliam a eficiência de emulsificantes e de agentes encapsulantes como estabilizadores de bioinseticidas, constituem um vasto campo a ser explorado (NEVES, 2008; AROUCHE, 2020).

Diante do potencial de óleos e compostos isolados já evidenciado no manejo de pragas, essa ferramenta deve ser integrada com outras táticas, visando a implementação do manejo integrado de pragas (MIP) e

consequentemente, gerando maior eficiência (PEREIRA et al., 2016). Dentre as opções do MIP encontra-se o controle biológico, que consiste no uso de predadores, parasitoides ou entomopatógenos, visando reduzir as populações de pragas. Para a utilização de óleos e do controle biológico em uma mesma área, faz-se necessário que os bioinseticidas sejam seletivos aos inimigos naturais (CAMPOS et al., 2016; ZANUNCIO et al., 2016). Porém, muitos estudos são realizados avaliando a eficiência de óleos no manejo de pragas, mas, a ação dos óleos e compostos isolados sobre organismos não alvo, que atuam no controle biológico de pragas, como por exemplo parasitoides e nematoides entomopatogênicos (NEPs) é pouco estudada.

Sendo assim, avaliar a eficiência de óleos e compostos isolados, visando o desenvolvimento de bioinseticidas no manejo de *S. eridania* bem como a seletividade desses produtos a inimigos naturais é imprescindível.

1.2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

1.2.1 Importância da olericultura

O agronegócio tem grande importância na economia brasileira, com atividades que geram riquezas, representando 27,4% do PIB em 2021 (CEPEA, 2021). No Espírito Santo, possui grande destaque no desenvolvimento, com 23% do PIB proveniente da agricultura e representa uma atividade econômica relevante para muitas culturas, com destaque na cafeicultura, fruticultura, silvicultura e olericultura. A olericultura destaca-se pela elevada produção, com aproximadamente 245 mil toneladas, dos mais variados produtos. São estes: tomate, chuchu, inhame, repolho e outras brássicas, representando 64% da produção estadual de olerícolas (PEDEAG 3, 2016).

A olericultura é uma atividade de grande importância para a agricultura familiar no Espírito Santo, visto que a agricultura familiar representa 75% dos estabelecimentos rurais e é responsável por 44% do valor bruto na produção do estado (QUEDEVEZ, 2019). É uma atividade de subsistência para as famílias produtoras ou comercializadas de acordo com o excedente agrícola (SILVA, 2017). As hortaliças podem enriquecer e/ou complementar a renda dos

agricultores, possibilitando rápido retorno econômico e dando suporte a outras explorações com retorno de médio a longo prazo (AMARO, 2007).

Um dos principais pontos a serem fortalecidos na olericultura é a competitividade desse setor de forma sustentável, através da geração de tecnologias inovadoras a serem empregadas, principalmente para agricultura familiar, a qual representa um modelo de agronegócio de pequena escala e de alto valor. Para esse fim, alguns itens devem integrar uma definição de sustentabilidade, como a conservação dos recursos naturais e da produtividade agrícola; o mínimo de impactos adversos ao meio ambiente; retornos adequados aos produtores; otimização da produção das culturas com o mínimo de *inputs* químicos; e satisfação das necessidades humanas de alimentos e renda (EHLERS, 1994; PEDEAG 3, 2016).

As olerícolas são acometidas pela incidência e danos ocasionados por pragas, necessitando da utilização de produtos químicos no manejo, caracterizando-se como o método mais usual na agricultura. Alternativas para a redução do uso de agrotóxicos no manejo de pragas podem ser colocadas em prática, por meio do estudo para desenvolvimento de sistemas de manejo de pragas de olerícolas. Com a implantação dessas técnicas, a olericultura estará incorporando a inovação e a sustentabilidade, tornando o agronegócio mais competitivo, diversificado e sustentável (PEDEAG 3, 2016).

1.2.2 Aspectos Gerais de *Spodoptera eridania* (Cramer, 1782) (Lepidoptera: Noctuidae)

Nativa e disseminada nas regiões tropicais das Américas (POGUE, 2002), *S. eridania* é uma praga muito comum na América Central, América do Sul e no Caribe, conhecida popularmente como lagarta das folhas ou lagarta-da-vagem (EFROM et al., 2013). Foi registrada a partir de 202 espécies hospedeiras pertencentes a 58 famílias (MONTEZANO et al., 2014).

Nos últimos anos, *S. eridania* tem sido reconhecida como praga de importantes culturas como algodão (*G. hirsutum*), soja (*G. max*) (FAVETTI et al., 2015; SANTOS et al., 2010) e tomateiro (*L. esculentum*) (MIRANDA et al., 2005). A ocorrência desta espécie já foi registrada em diferentes culturas como alfalfa,

feijão, beterraba, repolho, mandioca, couve, algodão, cebola, amendoim, quinoa, soja, tabaco, tomate, batata doce, girassol, cenoura, berinjela, quiabo, pimenta, batata, melancia, abacate, citros, girassol, tabaco, olerícolas e várias ornamentais, além de explorar algumas plantas daninhas (HAAS et al., 2012; POGUE, 2016). Sendo assim, é considerada polífaga (BORTOLI et al., 2012).

A polifagia de *S. eridania* causa perdas importantes e contribuiu para a rápida adaptação dessa praga a diferentes agroecossistemas (BORTOLI et al., 2012). Além disso, possui elevada voracidade e capacidade reprodutiva e de dispersão, permitindo que se instalasse em quase todos os Estados agrícolas brasileiros (SANTOS et al., 2005). As lagartas cortam as plantas jovens na base do caule, causando desfolhamento, além de perfurar estruturas reprodutivas (JESUS et al., 2013).

Durante muito tempo *S. eridania* foi considerada praga secundária em muitas culturas. Porém, nos últimos anos, surtos dessa espécie passaram a ser frequentes devido à intensificação do uso de agrotóxicos para o manejo daqueles insetos denominados de pragas-chaves, além do plantio de culturas hospedeiras em áreas adjacentes e em sistema escalonados, o que permite abrigo e alimento para o inseto, proporcionando surgimento de populações resistentes (SANTOS et al., 2010). Os fatores que contribuíram para o aparecimento desta espécie possivelmente foram pelo uso indiscriminado de produtos químicos. Nos últimos anos, foi registrada ocorrência de *S. eridania* em cultivos como tomateiro, morangueiro, pimentão, batata e beterraba (PRATISSOLI; GONÇALVES, 2015).

Os ovos de *S. eridania* são de coloração verde que escurecem com o desenvolvimento embrionário e formato esférico, cobertos por camadas, com período de incubação de quatro a seis dias. As lagartas, de coloração acinzentada ou marrom, possuem uma listra de coloração branca em ambos os lados e outra alaranjada nos dois lados do dorso. Além disso, possuem triângulos pretos na parte dorsal e cápsula cefálica marrom (SOUZA et al., 2014). Em temperaturas de 25 °C a fase larval tem duração média de 20 a 25 dias, dependendo do hospedeiro. As lagartas atingem até 35 mm, com seis a sete instares. Para encerrar o período larval, as lagartas buscam no solo um local para transformarem-se em pupas, com coloração marrom escuro, medindo de 16 a 18 mm de comprimento e seis a oito mm de largura. A duração da fase de

pupa é de 11 a 13 dias, dependendo da dieta da lagarta (EFROM et al., 2013). A mariposa mede aproximadamente 30 a 40 mm de envergadura, um par de asas anteriores de coloração cinza a marrom, com pontuações cinza e as posteriores são esbranquiçadas (EFROM et al., 2013). A duração média de vida do adulto é de 9 dias para machos e 11 dias para fêmeas. A duração do período de oviposição de fêmeas é, em média, de cinco dias e uma fêmea é capaz de colocar entre 935 a 1.050 ovos (SOUZA et al., 2014). O ciclo de vida completo de *S. eridania* tem duração média de 30 a 40 dias.

Estudos para *S. eridania* ainda são escassos e limitados a características em diferentes hospedeiros e alguns agentes biológicos para seu manejo (HAAS et al., 2012; JESUS et al., 2013; MONTEZANO et al., 2014; FAVETTI et al., 2015). Sendo assim, existe a necessidade de estudos para identificar possíveis produtos e formulações eficientes no manejo dessa praga.

1.2.3 Óleos como bioinseticidas para o manejo de pragas

As plantas são capazes de produzir substâncias defensivas contra o ataque de pragas, que são chamados de metabólitos secundários. Dentre esses metabólitos, os óleos essenciais, são misturas complexas de diferentes classes de substâncias, principalmente terpenoides e fenilpropanoides, com propriedades inseticidas como repelência, inibidor de crescimento e toxicidade (ELUMALAI et al., 2010; JIANG et al., 2012; KUMAR et al., 2011; OOTANI et al., 2013).

A utilização de óleos como bioinseticidas tem conquistado o mercado e os produtores (ISMAN; MIRESMAILLI, 2011). O uso de inseticidas botânicos é considerado como uma prática de menor impacto ambiental, garantindo maior segurança a saúde do homem (AKHTAR et al., 2012; AMRI et al., 2014). Os óleos se apresentam como alternativa no manejo de pragas, afetando o desenvolvimento e a sobrevivência de insetos (MIRESMAILLI; ISMAN, 2014).

Um dos grandes problemas dos inseticidas químicos é a resistência das pragas a esses produtos, pelo uso indiscriminado. Portanto, os múltiplos sítios de ação de inseticidas botânicos, reduzem os riscos de resistência cruzada, além de apresentarem baixa persistência no ambiente, reduzindo a toxicidade a

organismos não alvo (ISMAN; MIRESMAILL, 2011; MIRESMAILL; ISMAN, 2014).

Os óleos essenciais podem ser compostos voláteis e odoríferos, além de serem sensíveis à luz, calor e oxigênio (SOUZA et al., 2016). Os óleos fixos, não evaporam ou volatilizam completamente, porém se mantidos em contato com o ar podem permanecer fluidos (COSTA et al., 2015). Estudos que avaliem a persistência dos óleos extraídos de plantas em campo são escassos e necessários. Porém, sabe-se que tais óleos são degradados rapidamente em função do tipo de óleo utilizado (essencial ou fixo), a volatilidade e toxicidade dos mesmos (ISMAN, 2006; COITINHO et al., 2010). Estudo relata baixa permanência dos óleos em campo e um período residual de 24 horas (COITINHO et al., 2010).

Sendo assim, estudos que avaliem a persistência dos óleos e alternativas para prolongar a eficiência dos mesmos em campo são necessários, a fim de melhorar as formulações compostas por óleos. Emulsões e encapsulamento são alternativas para aumentarem a eficiência e o efeito residual dos óleos em campo. Portanto, métodos de preparo de emulsões e encapsulamento, devem ser estudados.

1.2.4 Emulsões

Emulsões são consideradas dispersões, constituídas por um líquido disperso (pequenas gotículas) em outro líquido, sendo ambos imiscíveis. Geralmente, as emulsões são compostas por água e um óleo. O líquido dispersante é chamado de fase externa ou contínua, e o disperso, chamado de fase interna ou descontínua (ANSEL et al., 2007). As fases são misturadas pelos tensoativos, também chamados de surfactantes ou emulsificantes, cuja função é colaborar na formação e na estabilização de sistemas polifásicos nos quais uma fase dispersa encontra-se dentro de uma outra fase, permitindo a mistura (FERREIRA et al., 2023).

O preparo de emulsões tem como objetivo promover encapsulamento de sólidos ou líquidos proporcionando liberação do conteúdo de forma contínua e prolongada, aumentando o tempo de atividade dos fitoquímicos e reduzindo a

volatilidade (CUNHA-FILHO; SÁ-BARRETO, 2007; ISMAN et al., 2013; MARTINS et al., 2014). As emulsões também possuem finalidade promover a melhoria da aparência e propriedade de uma formulação, melhorar a especificidade, potencializar a ação dos fitoquímicos e minimizar os impactos residuais (SANTOS et al., 2003). Aplicando uma emulsão, tem-se um maior espalhamento, maior penetração e maior molhabilidade, justificando sua utilização na formulação de um inseticida biológico (WANG et al., 2007).

Grande parte dos óleos extraídos de partes de plantas são insolúveis em água ou pouco solúveis. Portanto, o preparo de emulsões inseticidas é uma alternativa viável diante dos benefícios proporcionados (LIM et al., 2013). Sendo assim, o desenvolvimento de inseticidas a base de óleos utilizando emulsões, pode ser uma excelente alternativa no manejo de pragas agrícolas, melhorando a eficiência do produto em campo e reduzindo os impactos ambientais e impactos a saúde humana. Além dos emulsificantes, a utilização de agentes encapsulantes, podem melhorar a persistência e proteção dos óleos (LIM et al., 2013).

1.2.5 Encapsulamento

Uma das tecnologias promissoras na utilização de óleos é a microencapsulação de agentes ativos. Essa tecnologia consiste em envolver o núcleo ou agente ativo por uma membrana, geralmente polimérica, isolando o material encapsulado e protegendo-o do meio. O material encapsulado é chamado de núcleo e o encapsulante denominado material de revestimento (GONÇALVES et al., 2016). Microencapsulamento é definido como sistemas esféricos e poliméricos com tamanhos variados (1 a 5.000 μm), que podem apresentar estruturas e morfologias distintas (KURIOKASE et al., 2015).

O encapsulamento tem diversos objetivos e finalidades, desde a proteção da molécula a ser encapsulada até a liberação gradativa de um agente ativo, por um período de tempo determinado. Essa tecnologia tem se mostrado promissora nas indústrias alimentícias, cosméticas e farmacêuticas (YANG et al., 2015). Existem diversas técnicas a serem utilizadas na produção de microcápsulas. A seleção deve ser tomada com base na forma de aplicação, tamanho das

cápsulas, propriedades das matérias (revestimento e núcleo) e o mecanismo de liberação (MADENE et al., 2006; KURIOKASE et al., 2015).

A principal técnica utilizada é a coacervação (separação de fases), que consiste na separação do material de revestimento, recobrando o núcleo disperso no meio (DONG et al., 2011). Diversos materiais podem ser utilizados para formação de microcápsula, como proteínas e polissacarídeos. Goma arábica, goma de xantana, goma guar e gelatina se destacam, devido sua capacidade de formação de película e pela elevada solubilidade em água (MADENE et al., 2006).

Materiais a serem encapsulados podem ser os mais diversos, como corantes, fármacos, fragrâncias, pesticidas e óleos essenciais (SILVA et al., 2003). O encasulamento de óleos essenciais vem ganhando destaque nos últimos anos, devido as muitas propriedades, como antioxidantes, hidratantes, anti-inflamatórias, além do potencial de utilização na área agrícola (WANG, 2015; GHÉDIRA; GOETZ, 2016).

O núcleo encapsulado possui melhorias no processo de liberação em comparação aos tradicionais utilizados. A substância utilizada como núcleo, pode ser liberada de forma gradual ao longo dos dias (ZANETTI; TOME, 2005). Entretanto, mecanismos como variação do pH, temperatura, pressão, difusão do núcleo através da parede polimérica, biodegradação, ruptura mecânica, gradiente de concentração presente e permeabilidade seletiva, influenciam na liberação (MADENE et al., 2006; KURIOKASE et al., 2015).

Além da liberação gradual do núcleo, o encapsulamento possui outras vantagens, pois permite a formação de barreiras, diminuindo o contato do núcleo com o meio externo, protegendo-o da luz e umidade, além de aumentar a estabilidade do agente ativo (JYOTHI et al., 2010).

Materiais de revestimento devem ser escolhidos com base nas características físicas e químicas do material de núcleo, o método que será empregado e a aplicação das microcápsulas (KURIOKASE et al., 2015). É imprescindível que o material de revestimento não tenha reação com o material de núcleo. O encapsulante deverá manter o núcleo no interior da microcápsula e fornecer proteção, além de ser viável economicamente. Os materiais que

podem ser usados como revestimento de microcápsulas são muitos. Dentro de polissacarídeos, destacam-se: goma arábica, alginatos, carragenina, quitosana e pectinas; como proteína, destacam-se: glúten, gelatina, caseína e albumina, e dentro de polímeros sintéticos destaca-se o poli (álcool vinílico) (SILVA et al., 2014).

1.2.5.1 Métodos de obtenção de microcápsulas

Existem diversas técnicas para a formação de microcápsulas. A escolha do método depende de três fatores. Dentre estas: as propriedades químicas e físicas dos materiais utilizados, tamanho e morfologia desejado de microcápsulas e a aplicação na qual será submetida (KURIOKASE et al., 2015; AZEREDO, 2005; MADENE et al., 2006).

Em geral, dentre os métodos físicos para encapsulação destacam-se *Spray-Drying*, extrusão e liofilização, e dentre os químicos a coacervação simples, coacervação complexa e polimerização *in situ*. Um método muito utilizado é o *Spray-Drying* que foi desenvolvido na década de 1930. Baseia-se na pulverização de uma dispersão que contém o núcleo a ser encapsulado, dissolvido em um material para ser o agente encapsulante. Por meio de uma corrente de ar quente, ocorre a evaporação do solvente, formando as microcápsulas. Essa metodologia é muito utilizada na produção industrial, por ser de baixo custo (KURIOKASE et al., 2015).

1.2.5.3 Mecanismos de liberação em microcápsulas

O material utilizado para formação das microcápsulas é de grande importância no processo de microencapsulação, pois é responsável por liberar o material encapsulado no lugar desejado, aumentar sua vida útil, reduzir sua toxicidade e proteger o núcleo do meio externo (GONÇALVES et al., 2016). Os principais estímulos para a liberação do material de núcleo são apresentados na Figura 1.

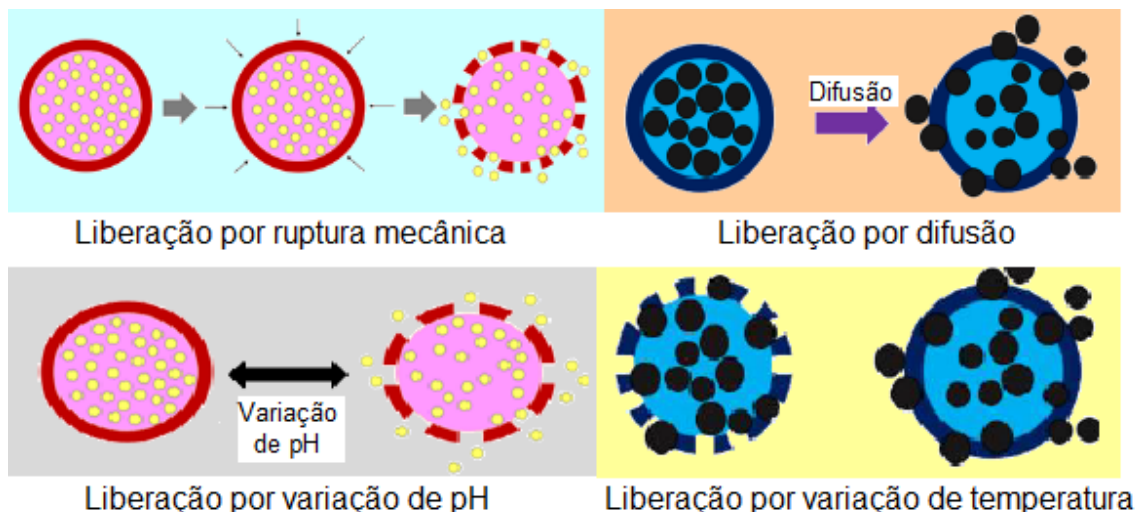


Figura 1. Estímulos para a liberação do material de núcleo. Fonte: BADKE, 2017.

Segundo Dubey et al. (2009), a liberação por ruptura mecânica ocorre por meio da pressão externa. Na liberação por difusão, a parede da cápsula atua como membrana semipermeável e a taxa de liberação está relacionada com as propriedades do núcleo e da parede. Na liberação por variação do pH a porosidade e solubilidade da parede é modificada de acordo com alteração do pH do meio. Por fim, na liberação por variação da temperatura, o núcleo é liberado a partir da variação da temperatura, a qual resulta em mudanças no estado físico da cápsula, liberando-a.

A aplicação de encapsulamento no manejo de pragas agrícolas é recente, constituindo-se em um vasto campo a ser estudado. De acordo com Goertz (2000), a encapsulação de produtos a serem utilizados como defensivos apresentam vantagens em relação aos demais produtos, por serem mais seguros para o ambiente, pois libera o ingrediente ativo gradativamente. Além disso, é mais seguro ao aplicador e trabalhador, visto que sua exposição ao produto é minimizada. Portanto, estudos que avaliem a eficiência do encapsulamento de óleos devem ser realizados, visando aumentar a eficiência do produto em campo, reduzindo os impactos ambientais.

1.2.6 Seletividade de óleos e compostos isolados a organismos benéficos

No Manejo Integrado de Pragas (MIP) considera-se a utilização em conjunto de várias táticas de manejo, visando aumentar a eficiência e

consequentemente reduzir os danos ocasionados pelos insetos praga. O controle biológico destaca-se no manejo integrado e este, se utilizado de forma correta, pode ser aliado a outras táticas de manejo existentes (OMKAR, 2016).

No controle biológico de pragas, as vespas parasitoides do gênero *Trichogramma*, são as mais utilizadas em todo mundo (JALALI et al., 2016). No Brasil, *Trichogramma pretiosum* (Riley) (Hymenoptera: Trichogrammatidae) é considerada como a mais abundante espécie, com destaque no parasitismo de ovos de pragas que acometem as culturas de milho, soja, pêssego, brássicas e tomate (PARRA; ZUCCHI, 2004; JALALI et al., 2016). Além desses, os nematoides entomopatogênicos (NEPs) dos gêneros *Steinernema* e *Heterorhabditis* tem ganhado destaque como potencial método no manejo de insetos que passam pelo menos uma fase de vida no solo (GAUGLER et al., 2000). Neste caso, o juvenil infectante de terceiro estágio (JI) é de vida livre e penetra no inseto por aberturas naturais, cavidade bucal, ânus e espiráculos e, após a infecção, libera na homocela do hospedeiro as bactérias simbiotes (*Xenorhabdus* spp. para *Steinernema* e *Photorhabdus* spp. para *Heterorhabditis*). Essas bactérias se multiplicam rapidamente, fornecendo alimento e condições ideais para o desenvolvimento dos NEPs. Toxinas são liberadas pelas bactérias e matam o hospedeiro dentro de 48 a 72h após a infecção (BURMAN, 1982; AKHURST; BOEMARE, 1990).

Mesmo diante do potencial desses organismos benéficos, os produtos químicos podem afetá-los, caso estes não sejam seletivos aos inimigos naturais (ALCÁNTARA-DE LA CRUZ et al., 2017). Assim, esses produtos podem afetar o ciclo biológico dos inimigos naturais, e até mesmo leva-los à morte (KHAN et al., 2015; ZANUNCIO et al., 2016). Portanto, a utilização de produtos que sejam seletivos aos organismos benéficos é imprescindível.

Os inseticidas botânicos, à base de óleos essenciais (OEs), óleos fixos e compostos isolados, possuem substâncias bioativas que podem matar e repelir insetos pragas (ALMEIDA et al., 2010). Como essas substâncias são degradadas de forma relativamente rápida na natureza, em muitos casos, são considerados seguros para o meio ambiente e para a saúde humana (ISMAN, 2006; PAVELA, 2018). Entretanto, tais óleos podem ou não ser compatíveis com outras estratégias de manejo, a exemplo o controle biológico (CAMPOS et al.,

2016), pois podem não apresentar seletividade aos organismos benéficos (NDAKIDEMI et al., 2016; RAMPELOTTI-FERREIRA et al., 2017), causando malformações, mudanças nas características biológicas e até morte (ZANUNCIO et al., 2016; PARREIRA et al., 2018). Portanto, faz-se necessário avaliar os efeitos colaterais de óleos e compostos isolados que são promissores no manejo de pragas agrícolas, na biologia, comportamento e mortalidade de inimigos naturais, como *Trichogramma* e NEPs.

1.3 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AGUIAR, M. C. S. **Encapsulamento de compostos orgânicos voláteis em matrizes biopoliméricas para o controle de insetos pragas**. 2017. 172 f. Dissertação (Mestrado em Química) - Centro de Ciências Exatas e de Tecnologia, Universidade Federal de São Carlos, São Carlos, 2017.

AKHTAR, Y.; PAGES, E.; STEVENS, A.; BRADBURY, R.; DA CAMARA, C. A. G.; ISMAN, M. B. Effect of chemical complexity of essential oils on feeding deterrence in larvae of the cabbage looper. **Physiological Entomology**, v. 37, n. 1, p. 81-89. 2012.

AKHURST, R.; BOEMARE, N.E. **Biology and taxonomy of *Xenorhabdus***. In: GAUGLER, R.; KAYA, H.K. Entomopathogenic Nematodes in Biological Control. CRC Press, Boca Raton, FL, p. 75–87, 1990.

ALMEIDA, G.D.; ZANUNCIO, J.C.; PRATISSOLI, D.; ANDRADE, G.S.; CECON, P.R.; SERRÃO, J.E. Effect of azadirachtin on the control of *Anticarsia gemmatalis* and its impact on *Trichogramma pretiosum*. **Phytoparasitica**, v. 38, n. 1, p. 413–419, 2010.

AMARO, G. B.; da SILVA, D. M.; MARINHO, A. G.; NASCIMENTO, W. M. **Recomendações técnicas para o cultivo de hortaliças em agricultura familiar**. Embrapa Hortaliças-Circular Técnica (INFOTECA-E), 2007.

AMRI, I.; HAMROUNI, L.; HANANA, M.; JAMOUSSE, B.; LEBDI, K. Essential oils as biological alternatives to protect date palm (*Phoenix dactylifera* L.) against *Ectomyelois ceratoniae* Zeller (Lepidoptera: Pyralidae). **Chilean Journal of Agricultural Research**, v. 74, n. 3, p. 273-279, 2014.

ANSEL, H. C.; ALLEN, L. V.; POPOVICH, N. G. **Formas farmacêuticas e sistemas de liberação de fármacos**. 8. ed. São Paulo: Artmed, 2007. 775p.

AROUCHE, J. D. S. **Desenvolvimento de uma formulação com potencial biocida baseada no encapsulamento do óleo essencial da *Piper callosum*: avaliação da estabilidade a 25° C e 35° C utilizando diferentes conservantes**. 2020. 61 f. Dissertação (Mestrado em Ciência e Engenharia de Materiais) - Faculdade de Tecnologia, Universidade Federal do Amazonas, Manaus, 2020.

AZEREDO H. M. C. Encapsulação: aplicação à tecnologia de alimentos. **Embrapa**, v. 16, n. 1, p. 89-97, 2005.

AZEVEDO, S. G.; MAR, J. M.; SILVA, L. S.; FRANÇA, L. P.; MACHADO, M. B.; TADEI, W. P.; BEZERRA, J. A.; SANTOS, A. L.; SANCHES, E. A. Bioactivity of *Licaria puchury-major* essential oil against *Aedes aegypti*, *Tetranychus urticae* and *Cerataphis lataniae*. **Records of Natural Products**, v. 12, n. 3, p. 229-238, 2018.

BADKE, L. B. **Síntese e caracterização de microcápsulas de gelatina/goma arábica contendo óleos essenciais ou ácidos graxos de microalgas empregados na cosmetologia pelo método de coacervação complexa**. 2017. 98 f. Dissertação (Mestrado em Ciências) - Programa de Pós-Graduação em Engenharia e Ciência dos Materiais (PIPE), Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2017.

BORTOLI, L. C.; BERTIN, A.; EFROM, C. F. S.; BOTTON, M. Biologia e tabela de vida de fertilidade de *Spodoptera eridania* (Cramer) (Lepidoptera: Noctuidae) em morangueiro e videira. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 34, n. 4, p. 1068-1073, 2012.

BURMAN, M. *Neoaplectana carpocapsae*: toxin production by axenic insect parasitic nematodes. **Nematologica**, v. 28, n. 1, p. 62-70, 1982.

CAMPOS, E. V.; DE OLIVEIRA, J. L.; PASCOLI, M.; DE LIMA, R.; & FRACETO, L. F. Neem oil and crop protection: from now to the future. **Frontiers in plant science**, v. 7, n. 1, p. 1494, 2016.

CEPEA. Centro de Estudos Avançados em Economia Aplicada. **PIB do Agronegócio Brasileiro**. 2021. Disponível em:

<<https://www.cepea.esalq.usp.br/br/pib-do-agronegocio-brasileiro.aspx>>.

Acesso em: 15 jan. 2023.

COITINHO, R. L. B. C.; de OLIVEIRA, J. V. D.; GONDIM JÚNIOR, M. G. C.; CÂMARA, C. A. G. D. Persistência de óleos essenciais em milho armazenado, submetido à infestação de gorgulho do milho. **Ciência Rural**, v. 40, n. 7, p. 1492-1496, 2010.

CORREA, M. S.; SCHWAMBACH, J.; MANN, M. B.; FRAZZON, J.; FRAZZON, A. P. G. Antimicrobial and antibiofilm activity of the essential oil from dried leaves of *Eucalyptus staigeriana*. **Arquivos do Instituto Biológico**, v. 86, n. 1, p. 1-8, 2019.

COSTA, C. L. da; de REZENDE FRANÇA, E. T.; SANTOS, D. S.; COSTA, M. C. P.; BARBOSA, M. D. C. L.; NASCIMENTO, M. D. D. 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, 2015.

CRUZ, R. A. D. L.; ZANUNCIO, J. C.; LACERDA, M. C.; WILCKEN, C. F.; FERNANDES, F. L.; TAVARES, W. D. S.; SEDIYAMA, C. S. Side-effects of pesticides on the generalist endoparasitoid *Palmistichus elaeisis* (Hymenoptera: Eulophidae). **Scientific Reports**, v. 7, n. 1, p. 1-8, 2017.

CUNHA-FILHO, M. S. S.; SÁ-BARRETO, L. C. L. 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, 2007.

DONG, Z.; MA, Y.; HAYAT, K.; JIA, C.; JIA, C.; XIA, S.; ZHANG, X. Morphology and release profile of microcapsules encapsulating peppermint oil by complex coacervation. **Journal of Food Engineering**, v. 104, n. 3, p. 455-460, 2011.

DUBEY R.; SHAMI, T. C.; BHASKER R. A. O. K. Microencapsulation technology and applications. **Defence Science Journal**, v. 59, n. 1, p. 82-95, 2009.

EFROM, C. F. S.; BORTOLI, L. C.; BERTIN, A.; SPECHT, A.; BOTTON, M. Bioecologia e controle de *Spodoptera eridania* (Lepidoptera: Noctuidae) em videira no Rio Grande do Sul. Bento Gonçalves: Embrapa Uva e Vinho Comunicado Técnico, 150, 2013. 7 p.

EHLERS, E. M. **O que se entende por agricultura sustentável?** 1994, 161f. Dissertação (Mestrado em Ciência Ambiental) - Programa de Pós-Graduação em Ciência Ambiental, Universidade de São Paulo, São Paulo, 1994.

ELUMALAI, K.; KRISHNAPPA. K.; ANANDAN, A.; GOVINDARAJAN, M.; MATHIVANAN, T. Larvicidal and ovicidal activity of seven essential oil against lepidopteran pest *S. litura* (Lepidoptera: Noctuidae). **International Journal of Recent Scientific Research**, v. 1, n. 1, p. 08-14, 2010.

FAVETTI, B. M.; BUTNARIU, A. G.; FOERSTER, L. A. Biology and reproductive capacity of *Spodoptera eridania* (Cramer) (Lepidoptera, Noctuidae) in different soybean cultivars. **Revista Brasileira de Entomologia**, v. 59, n. 1, p. 89-95, 2015.

FERNÁNDEZ-GRANDON, G. M.; HARTE, S. J.; EWANY, J.; BRAY, D.; STEVENSON, P. C. Additive effect of botanical insecticide and entomopathogenic fungi on pest mortality and the behavioral response of its natural enemy. **Plants**, v. 9, n. 2, p. 173, 2020.

FERREIRA, P. G.; FUTURO, D. O.; FOREZI, L. D. S. M.; DA SILVA, F. D. C.; FERREIRAA, V. F. Aqui tem Química: Parte VII. Tensoativos em Produtos Comerciais. **Revisva Virtual de Química**, v. 1, n. 1, p. 1-16, 2023.

GAUGLER, R.; GREWAL, P.; KAYA, H. K.; SMITH-FIOLA, D. Quality assessment of commercially produced entomopathogenic nematodes. **Biological Control**, v. 17, n. 1, p. 100-109, 2000.

GHABBARI, M.; GUARINO, S.; CALECA, V.; SAIANO, F.; SINACORI, M.; BASER, N.; MADIOUNI, J.; VERDE, G. Behavior-modifying and insecticidal effects of plant extracts on adults of *Ceratitidis capitata* (Wiedemann) (Diptera Tephritidae). **Journal of Pest Science**, v. 91, n. 1, p. 907–917, 2018.

GHÉDIRA, K.; GOETZ P. *Calendula officinalis* L. (Asteraceae): souci. **Phytothérapie**, v. 14, n. 1, p. 62-67, 2016.

GOERTZ, H. M. **Controlled release technology, agricultura**. In: KIRK-OTHOMER (Ed.) *Encyclopedia of Chemical Technology*, 4ª Edição. Hoth Wiley & Sons, Inc, pp. 251- 274. 2000.

GONÇALVES, A.; ESTEVINHO, B. N.; ROCHA, F. Microencapsulation of vitamin A: A review. **Trends in Food Science & Technology**, v. 51, n. 1, p. 76-87, 2016.

HAAS, J.; MORCELLI, S. V. K.; HAIDA, K. S.; PIRES, E.; GARCIA, B. C.; ALVES, L. F. A. Avaliação de Extratos Vegetais Aquosos sobre *Spodoptera eridania* (Cramer) (Lepidoptera: Noctuidae). **BioAssay**, v. 7, n. 7, p. 1-4, 2012.

ISMAN, M. B. Botanical insecticides, deterrents, and repellents in modern agriculture and an increasingly regulated world. **Annual Review of Entomology**, v. 51, n. 1, p. 45-66, 2006.

ISMAN, M. B. Botanical insecticides, deterrents, and repellents in modern agriculture and an increasingly regulated world. **Annual Review of Entomology**, v. 51, n. 1, p. 45-66, 2006.

ISMAN, M. B. Plant essential oils for pest and disease management. **Crop Protection**, v. 19, n. 1, p. 603- 608, 2013.

ISMAN, M. B.; MIRESMALLI, S. Commercial opportunities for pesticides based on plant essential oils in agriculture, industry and consumer products. **Phytochemistry Reviews**, v. 10, n. 2, p. 197-204, 2011.

JALALI, S.K.; MOHANRAJ, P.; LAKSHMI, B.L. **Trichogrammatids**. In: OMKAR, B.K. (Ed.). *Ecofriendly Pest Management for Food Security*, 1st ed. Elsevier-Academic Press, 2016. pp. 139–181.

JESUS, F. G.; SOUSA, P. V.; MACHADO, R. B.; PEREIRA, A. I. A.; ALVES, G. C. S. Desenvolvimento de *Spodoptera eridania* (Cramer) (Lepidoptera: Noctuidae) em diferentes hospedeiros. **Arquivos do Instituto Biológico**, v.80, n. 4, p. 430-435, 2013.

JIANG, Z. L.; AKHTAR, Y.; ZHANG, X.; BRADBURY, R.; ISMAN, M. B. Insecticidal and feeding deterrent activities of essential oils in the cabbage looper, *Trichoplusia ni* (Lepidoptera: Noctuidae). **Journal of Applied Entomology**, v. 136, n. 1, p. 191-202, 2012.

JYOTHI, N.; PRASANNA, P. M.; SAKARKAR, S. N.; PRABHA, K. S.; RAMAIAH, P. S.; SRAWAN, G. Y. Microencapsulation techniques, factors influencing encapsulation efficiency. **Journal of microencapsulation**, v. 27, n. 3, p. 187-197, 2010.

KHAN, M. A.; KHAN, H.; RUBERSON, J. R. Lethal and behavioral effects of selected novel pesticides on adults of *Trichogramma pretiosum* (Hymenoptera: Trichogrammatidae). **Pest management science**, v. 71, n. 12, p. 1640-1648, 2015.

KUMAR, P.; MISHRA, S.; MALIK, A.; SATYA, S. Efficacy of *Mentha piperita* and *Mentha citrata* essential oils against housefly, *Musca domestica* L. **Industrial Crops and Products**, v. 39, n. 1, p. 106-112, 2012.

KURIOKASE, A. B.; SATHIREDDY, P.; PRIYA, S. P. A Review on Microcapsules. **Global Journal of Pharmacology**, v. 9, n. 1, p. 28-39, 2015.

LIM, C. J.; BASRI, M.; OMAR, D.; ABDUL RAHMAN, M. B.; SALLEH, A. B.; RAJA ABDUL RAHMAN, R. N. Z. 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, n. 1, p. 10-11, 2013.

MADENE, A.; JACQUOT, M.; SCHER, J.; DESOBRY, S. Flavour encapsulation and controlled release – a review. **International Journal of Food Science and Technology**, n 41, n. 1, p. 1-21, 2006.

MAHDI, K. R.; BEHNAM, A. B. Fumigant toxicity and repellency effect of orange leaves *Citrus sinensis* (L.) essential oil on *Rhyzopertha dominica* and *Lasioderma serricorne*. **Journal of Essential Oil Bearing Plants**, v. 21, n. 2, p. 577- 582, 2018.

MARTINS, I. M.; BARREIRO, M. F.; COELHO, M.; RODRIGUES, A. E. Microencapsulation of essential oils with biodegradable polymeric carriers for cosmetic applications. **Chemical Engineering Journal**, v. 245, n. 1, p. 191-200, 2014.

MIRANDA, M. M. M.; PICANÇO, M. C.; ZANUNCIO, J. C.; BACCI, L.; SILVA, E. M. Impacto do manejo integrado de pragas na população de

garimpeiros, brocas e inimigos naturais de tomate. **Ciência Rural**, v. 35, n. 1, p. 204-208, 2005.

MIRESMAILLI, S.; ISMAN, M. B. Botanical insecticides inspired by plant-herbivore chemical interactions. **Trends in Plant Science**, v. 19, n. 1, p. 29-35, 2014.

MONTEZANO, D. G.; SPECHT, A.; SOSA-GÓMEZ, D. R.; ROQUE-SPECHT, V. F.; DE BARROS, N. M. Fases imaturas de *Spodoptera eridania* (Lepidoptera: Noctuidae): parâmetros de desenvolvimento e plantas hospedeiras. **Journal of Insect Science**, v. 14, n. 1, pp. 1-11, 2014.

NDAKIDEMI, B.; MTEI, K.; NDAKIDEMI, P. A. Impacts of synthetic and botanical pesticides on beneficial insects. **Agricultural Sciences**, v. 7, n. 6, p. 364, 2016.

NEVES, K. Nanotecnologia em cosméticos. **Cosmetic & Toiletries**, v. 20, n. 1, p. 22, 2008.

OMKAR, B. K. **Ecofriendly Pest Management for Food Security**. Elsevier Ltd, 2016.

OOTANI, M. A.; AGUIAR, R. W.; RAMOS, A. C.; BRITO, D. R.; SILVA, J. B. D. E.; CAJAZEIRA, J. P. Use of Essential Oils in Agriculture. **Journal of Biotechnology and Biodiversity**, v. 4, n. 2, p. 162-175, 2013.

PARRA, J. R.; ZUCCHI, R. A. *Trichogramma* in Brazil: feasibility of use after twenty years of research. **Neotropical Entomology**, v. 33, n. 1, p. 271-281, 2004.

PARREIRA, D. S.; ALCÁNTARA-DE LA CRUZ, R.; LEITE, G. L. D.; DE SOUZA RAMALHO, F.; ZANUNCIO, J. C.; SERRÃO, J. E. Quantifying the harmful potential of ten essential oils on immature *Trichogramma pretiosum* stages. **Chemosphere**, v. 199, n. 1, p. 670-675, 2018.

PAVELA, R. Essential oils from *Foeniculum vulgare* Miller as a safe environmental insecticide against the aphid *Myzus persicae* Sulzer. **Environmental science and pollution research**, v. 25, n. 11, p. 10904-10910, 2018.

PEDEAG 3. **Espírito Santo Sustentável**. 2016. Disponível em: <[https://seag.es.gov.br/Media/seag/Documentos/PEDEAG_Completo_sem%20ficha%20t%C3%A9cnica%20\(1\).pdf](https://seag.es.gov.br/Media/seag/Documentos/PEDEAG_Completo_sem%20ficha%20t%C3%A9cnica%20(1).pdf)>. Acesso em: 19 junho 2020.

PEREIRA, E. S.; CALDEIRA, Z. V.; SOARES, M. A. Manejo integrado de pragas na eucaliptocultura: inseticidas e parasitoides são compatíveis? **Agri-Environmental Sciences**, v. 2, n. 2, p. 1-13, 2016.

POGUE, G. M. **World Database Spodoptera** (Lepidoptera: Noctuidae). Disponível em: <<http://www.sel.barc.usda.gov/lep/spodoptera/spodoptera.html>>. Acesso em 17 junho 2020.

POGUE, M. G. Uma revisão mundial do gênero *Spodoptera* Guenée (Lepidoptera: Noctuidae). **Memórias da American Entomological Society**, v. 43, n. 28, p. 117-124, 2002.

PRATISSOLI, D. **Pragas emergentes no estado do Espírito Santo**. Alegre: UNICOPY, 2015. 140 p.

PRATISSOLI, D.; GONÇALVES, J. R. Brocção. In: PRATISSOLI, D. **Pragas emergentes no estado do Espírito Santo**. UNICOPY: Alegre, 2015. Cap. 6, p 46-53.

QUEDEVEZ, K. **ANUÁRIO do agronegócio capixaba**. Safra ES. 2019. 200 p.

RAGHUVVEER, I.; ANURAG, K.; ANUMALIK, Y.; NITIKA, G.; SWADESH, K.; NIKHIL, G.; HIMANSHU, G. Metabolites in plants and its classification. **World Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences**, v. 4, n. 1, p. 287-305, 2015.

RAMPELOTTI-FERREIRA, F. T.; COELHO JR., A.; PARRA, J. R. P.; VERDRAMIN, J. D. Selectivity of plant extracts for *Trichogramma pretiosum* Riley (Hym.: Trichogrammatidae). **Ecotoxicology and environmental safety**, v, 138, n. 1, p. 78–82, 2017.

SANTOS, A. C. A., SERAFINI, L. A., CASSEL, E. **Estudo de processos de extração de óleos essenciais e bioflavonóides de frutas cítricas**. Caxias do Sul: EDUCS, p. 19-29, 2003.

SANTOS, K. B.; MENEGUIM, A. M.; NEVES, P. M. O. J. Biologia de *Spodoptera eridania* (Cramer) (Lepidoptera: Noctuidae) em diferentes hospedeiros. **Neotropical Entomology**, v. 34, n. 6, p. 903-910, 2005

SANTOS, K.B.; MENEGUIM, A. M.; SANTOS, W. J.; NEVES, P. M.; SANTOS, R.B. Caracterização dos danos de *Spodoptera eridania* (Cramer) e *Spodoptera cosmioides* (Walker) (Lepidoptera: Noctuidae) a estruturas de algodoeiro. **Neotropical Entomology**, v. 39, n. 4, p. 626-631, 2010.

SILVA, C. A. R. **Viabilidade técnica e econômica do cultivo consorciado de hortaliças para a Agricultura Familiar**. 2017. 132 f. Tese (Doutorado em Agronomia) – Faculdade de Agronomia. Universidade de Brasília, Brasília, 2017.

SILVA, C.; RIBEIRO, A.; FERREIRA, D.; VEIGA, F. Administração oral de peptídeos e proteínas: II. Aplicação de métodos de microencapsulação. **Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 39, n. 1, p. 1-20, 2003.

SILVA, I. M.; ZANUNCIO, T. V.; PEREIRA, F. F.; WILCKEN, C. F.; SERRÃO, J. E.; ZANUNCIO, J. C. Reproduction of *Trichospilus diatraeae* (Hymenoptera: Eulophidae) in the pupae of *Diaphania hyalinata* (Lepidoptera: Crambidae) of various ages. **The Florida Entomologist**, v. 98, n. 4, p. 1025-1029, 2015.

SILVA, V. M.; VIEIRA, G. S.; HUBINGER, M. D. Influence of different combinations of wall materials and homogenisation pressure on the microencapsulation of green coffee oil by spray drying. **Food Research International**, v. 61, p. 132–143, 2014.

SOUZA, A. C. de; VIEIRA, G. H. C.; NEVES, L. M. Uso de óleos essenciais no controle do *Colletotrichum gloeosporioides* causador da antracnose no caju. **Enciclopédia Biosfera**, v. 16, n. 29, p. 1709-1715, 2019.

SOUZA, B. H. S. de; COSTA, E. N.; SILVA, A. G. da; BOIÇA JÚNIOR, A. L. Aspectos bionômicos de *Spodoptera eridania* (Cramer): uma praga em expansão na cultura da soja na região do cerrado brasileiro. **EntomoBrasilis**, v. 7, n. 2, p. 75-80, 2014.

- SOUZA, R. F. C.; FERRAZ-FREITAS, P. N.; OLIVEIRA, W. P. Complexos de inclusão binários, ternários e quaternários contendo óleo essencial de *Lippia sidoides*. **Química Nova**, v. 39, n. 8, p. 979-986, 2016.
- STANIEK, A.; BOUWMEESTER, H.; FRASER, P. D.; KAYSER, O.; MARTENS, S.; TISSIER, A.; WARZECHA, H. Natural products–learning chemistry from plants. **Biotechnology Journal**, v. 9, n. 3, p. 326-336, 2014.
- WANG, H. M. D.; CHEN, C.; HUYNH, P.; CHANG, J. S. Exploring the potential of using algae in cosmetics. **Bioresource Technology**, v. 184, n. 1, p. 355–362, 2015.
- WANG, L.; LI, X.; ZHANG, G.; DONG, J.; EASTOE, J. Oil-in-water nanoemulsions for pesticide formulations. **Journal of Colloid and Interface Science**, v. 314, n. 1, p. 230-235, 2007.
- YANG, C.; CHANG, X.; ZHANG, M.; NI, X.; LV T.; GONG, G.; YUE, G.; SUN, X.; CHEN, H. Active compounds of stem bark extract from *Schima superba* and their molluscicidal effects on *Pomacea canaliculata*. **Journal of Pest Science**, v. 91, n. 1, p. 437-445, 2017.
- ZACHARIA, J. T. Ecological effects of pesticide. In: TOYTICHEVA M. (Ed). **Pesticides in the modern world – Risks and benefits**. Croácia: InTech, p. 129-142, 2011.
- ZANETTI, F. L. P.; TOMÉ, F. M. **Estudo teórico a eficiência e vantagens da encapsulação de fármacos em Ciclodextrinas**. V Encontro Latino Americano de Pós-Graduação – Universidade do Vale do Paraíba, 2005.
- ZANUNCIO, J. C.; MOURÃO, S. A.; MARTÍNEZ, L. C.; WILCKEN, C. F.; RAMALHO, F. S.; PLATA-RUEDA, A.; SERRÃO, J. E. Toxic effects of the neem oil (*Azadirachta indica*) formulation on the stink bug predator, *Podisus nigrispinus* (Heteroptera: Pentatomidae). **Scientific reports**, v. 6, n. 1, p. 1-8, 2016.

2 CAPITULO II

Eficiência de óleos essenciais, fixos e compostos isolados no manejo de *Spodoptera eridania*

RESUMO

O uso de óleos essenciais e compostos isolados tem apresentado eficiência no manejo de pragas de olerícolas. O objetivo do trabalho foi avaliar a eficiência dos óleos essenciais de eucalipto (*Eucalyptus citriodora*), alecrim (*Rosmarinus officinalis*), sálvia (*Salvia sclarea*), manjeriço doce (*Ocimum basilicum*), citronela (*Cymbopogon winterianus*), gengibre (*Zingiber officinale*), dos óleos fixos de neem (*Azadirachta indica*) e graviola (*Annona muricata*) e dos compostos isolados eugenol e d-limoneno no manejo de *Spodoptera eridania*. Os óleos e compostos puros foram aplicados em lagartas de 2º e 4º instar das pragas, por exposição direta e via alimentação. Cada tratamento foi composto por seis repetições e a mortalidade avaliada após 72h. O delineamento utilizado foi o inteiramente casualizado em fatorial duplo (produtos x vias de exposição). A eficiência do composto d-limoneno encapsulado foi testada em casa de vegetação sobre lagartas de 2º instar de *S. eridania*. Os resultados revelaram que o composto puro eugenol se destacou, apresentando efeito na exposição direta em lagartas; na exposição via alimentar, por sua vez, o composto d-limoneno se destacou, apresentando mortalidade para o 2º instar de *S. eridana*. No 4º instar de *S. eridania* nenhum óleo e composto testado foi tóxico as lagartas. O composto d-limoneno encapsulado com goma guar ou maltodextrina resultou em mortalidade de lagartas de 2º instar de *S. eridania*. Assim, os óleos essenciais e compostos isolados testados representam ferramentas valiosas com potencial para integração no manejo de *S. eridania*.

Palavras chave: Inseticidas botânicos. Produção integrada. Olericultura. Manejo de pragas.

Efficiency of essential oils and pure compounds in the management of
Spodoptera eridania

ABSTRACT

The use of essential oils and isolated compounds has shown efficiency in the management of vegetable pests. The objective of this work was to evaluate the efficiency of the essential oils of eucalyptus (*Eucalyptus citriodora*), rosemary (*Rosmarinus officinalis*), sage (*Salvia sclarea*), sweet basil (*Ocimum basilicum*), citronella (*Cymbopogon winterianus*), ginger (*Zingiber officinale*), fixed oils of neem (*Azadirachta indica*) and soursop (*Annona muricata*) and isolated compounds eugenol and d-limonene in the management of *Spodoptera eridania*. Pure oils and compounds were applied to 2nd and 4th instar caterpillars of the pests, by direct exposure and via feeding. Each treatment consisted of six replicates and mortality was evaluated after 72h. The design used was completely randomized in double factorial (products x routes of exposure). The efficiency of the encapsulated d-limonene compound was tested in a greenhouse on 2nd instar caterpillars of *S. eridania*. The results revealed that the pure eugenol compound stood out, showing an effect on direct exposure to caterpillars; in exposure via food, in turn, the pure compound d-limonene stood out, showing mortality for the 2nd instar of *S. eridania*. In the 4th instar of *S. eridania*, none of the oils and compounds tested were toxic to the caterpillars. The d-limonene compound encapsulated with guar gum or maltodextrin resulted in mortality of 2nd instar caterpillars of *S. eridania*. Thus, the essential oils and isolated compounds tested represent valuable tools with potential for integration in the management of *S. eridania*.

Keywords: Botanical insecticides. Integrated production. Olericulture. Pest management.

2.1 INTRODUÇÃO

A aplicabilidade de óleos essenciais tem se destacado no manejo de insetos-praga, devido suas propriedades toxicológicas contra diferentes artrópodes da ordem Coleoptera, Lepidoptera, Hemiptera, Díptera e Orthoptera, pois apresentam múltiplos modos de ação (GHABBARI et al., 2018; SOUZA; VIEIRA; NEVES, 2019). Derivados de plantas são considerados fontes potenciais para composição de novos inseticidas (FERNÁNDEZ-GRANDON et al., 2020).

Os óleos derivados de plantas apresentam uma ampla gama de compostos, com uma diversidade que inclui desde moléculas simples a moléculas complexas (STANIEK et al., 2014). Os compostos que se destacam são os produzidos pelo metabolismo secundário das plantas, como terpenos, compostos fenólicos e nitrogenados, apresentando-se como fonte potencial para composição de novos inseticidas (RAGHUVVEER et al., 2015).

Os inseticidas botânicos têm a vantagem de reduzir o risco de resistência cruzada pela complexa estrutura química dos constituintes, diminuindo assim a pressão de seleção de insetos resistentes aos agrotóxicos. Além disso, degradam-se rapidamente, causando menos danos à saúde humana e ao meio ambiente, quando comparados com moléculas sintéticas (KRINSKI; MASSAROLI; MACHADO, 2014; FOGEL et al., 2016; AZEREDO et al., 2018; AZEVEDO et al., 2018; PAVELA, 2018). Em geral os óleos apresentam menor toxicidade a organismos não-alvo e ao meio ambiente (MAHDI; BEHNAM, 2018).

O inseto *Spodoptera eridania* (Cramer) (Lepidoptera: Noctuidae), têm recebido atenção especial, devido aos danos ocasionados em diversas culturas. Foi registrada em 202 espécies de plantas hospedeiras, pertencentes a 58 famílias (MONTEZANO et al., 2014; FAVETTI et al., 2015). Portanto, faz-se necessário o estudo de métodos alternativos no manejo deste inseto-praga, visando ampliar as opções de manejo, e devido a carência de produtos químicos registrados e eficientes.

Entretanto, devido à baixa solubilidade dos óleos em água e sua elevada volatilidade, os emulsificantes, os quais são aditivos de grande importância nas indústrias alimentícias e farmacêuticas, têm se destacado nas técnicas de

encapsulamento, tornando a solução homogênea. O encapsulamento tem o propósito de aumentar a viabilidade dos óleos por meio da estabilização da solução, protegendo as moléculas das intempéries ambientais, o que pode prolongar o seu efeito em condições de campo e/ou casa de vegetação (AZEVEDO et al., 2018; SOUZA; VIEIRA; NEVES, 2019; CORREA et al., 2019). Todavia, são poucos os estudos que avaliam a eficiência de emulsificantes e de agentes encapsulantes como estabilizadores de bioinseticidas, uma vez que a aplicação de encapsulantes no manejo de pragas agrícolas é muito incipiente, constituindo-se em um vasto campo a ser explorado.

Sendo assim, estudar a eficiência de óleos, visando o manejo de pragas é imprescindível. Portanto, o objetivo deste trabalho foi avaliar os efeitos letais de óleos essenciais, fixos e compostos isolados sobre lagartas de 2^o e 4^o instar de *S. eridania* e avaliar a eficiência do encapsulamento do composto isolado de limoneno em casa de vegetação.

2.2 MATERIAL E MÉTODOS

Os experimentos foram realizados no Núcleo de Desenvolvimento Científico e Tecnológico em Manejo Fitossanitário de Pragas e Doenças (NUDEMAFI), localizado no Centro de Ciências Agrárias e Engenharias da Universidade Federal do Espírito Santo (CCAUE-UFES). A extração e caracterização dos óleos foram realizadas no Laboratório de Fitoquímica e Catálise do Instituto Federal do Espírito Santo (IFES) - Campus de Alegre.

2.2.1 Criação e manutenção de *Spodoptera eridania*

As lagartas recém-emergidas de *S. eridania* foram acondicionadas em potes plásticos (20 cm x 40 cm x 12 cm altura) com tampa possuindo uma abertura, fechada com tecido microtuler. Com o crescimento das lagartas e a perda de hábito gregário que acaba no segundo instar, estas lagartas foram repicadas em novos potes até atingir um stand final de 100 lagartas por pote. As lagartas foram alimentadas com dieta artificial adaptada (GREENE; LEPPLA; DICKERSON, 1976), constituída por 125 g de feijão, 62,4 g de levedo de cerveja,

100 g de gérmen de trigo, 100 g de proteína de soja, 50 g de caseína, 35 g de ágar, 5 g de nipagin, 6 g de ácido ascórbico, 3 g de ácido sórbico, 6 mL de formol em 40% e 10 g de solução vitamínica (niacinamida, pantotenato de cálcio, tiamina, riboflavina, piridoxina, ácido fólico, biotina e vitamina B12), suficiente para a alimentação de 24 horas. Quando as lagartas atingiam a fase de pre-pupa, foram individualizadas em potes (10 cm de diâmetro x 7 cm de altura) com tampas perfuradas e tampadas com tecido microtuler, forradas com $\frac{1}{4}$ de folha de papel formato A4. Estes potes receberam 1 cm³ de dieta descrita acima e 7 lagartas, que permaneceram no recipiente até a fase de pupa. Estas foram coletadas e acondicionadas em placas de plástico tipo Gerbox® (6 cm de diâmetro x 1,5 cm de altura) até a emergência dos adultos, que foram destinados a uma gaiola de acrílico (80 cm x 80 cm x 70 cm), permanecendo nesta condição por 48 horas, e posteriormente transferidos para gaiolas de PVC (20 cm de diâmetro x 25 cm de altura) revestidos internamente com folha de papel branco. A extremidade superior fechada com tecido do tipo “voil” e a inferior fechada com uma placa quadrada de isopor (25 cm de lado x 3 cm de espessura), contendo solução de mel em 10% (m/v) como substrato alimentar, por meio de algodão embebido de solução em frasco de vidro (5 mL). As folhas de papel, contendo as posturas foram recortadas e as massas de ovos acondicionadas em placas de plástico tipo Gerbox® (6 cm de diâmetro x 1,5 cm de altura), mantidas em condições controladas (25 ± 1 °C, UR de $70 \pm 10\%$ e fotofase de 12h), até a emergência das lagartas.

2.2.2 Extração do óleo essencial de origem natural

2.2.2.1 Óleo de gengibre (*Zingiber officinale* Roscoe)

O óleo essencial de gengibre foi obtido por hidrodestilação da raiz “in natura” triturada em liquidificador. O material triturado foi inserido em um balão de fundo redondo de 2 litros e adicionado 500 mL de água destilada. Em seguida, o balão com o material vegetal foi acoplado a um aparelho de Clevenger e submetido a aquecimento por 3 horas (DOS SANTOS et al., 2021). Após esse período, o hidrolato (óleo essencial e água) foi coletado e separado por centrifugação e transferido para um frasco de vidro âmbar e guardado em freezer

a temperatura de 0 °C. A massa do óleo foi aferida para o cálculo do rendimento de extração.

2.2.2.2 Óleo de graviola (*Annona muricata* Linn)

Foi pesado 400 g de resíduo de graviola, separando-se as sementes e secando em estufa de circulação forçada de ar (MARCONI, modelo MA 035/5) a 55 °C por 72h, para que as sementes se tornassem secas. As cascas foram retiradas manualmente das sementes. A massa das sementes descascadas foi aferida e o rendimento determinado. O conteúdo foi armazenado em freezer a – 20 °C para análise centesimal e extração do óleo. A extração foi realizada via extrusão (DE LIMA SOUZA et al., 2021). Pesou-se 100 g de sementes e a extração do óleo realizada pelo Extrator de Óleo Gourmet (HOME UP, modelo MQO 001). A fração lipídica foi transferida para tubos Falcon e centrifugada a 2500rpm por cinco minutos. O volume final do óleo foi medido e o rendimento calculado.

2.2.3 Obtenção dos óleos comerciais e produto isolado

Os óleos comerciais e produtos isolados foram adquiridos de fonte comercial e não sofreram nenhum tratamento prévio. Os óleos essenciais e compostos isolados utilizados foram: óleo essencial de eucalipto (*Eucalyptus citriodora*, Ferquima lote 114), óleo essencial de alecrim (*Rosmarinus officinalis* - Destilaria Bauru lote DBKT-ALIP1218/312), óleo essencial de sálvia (*Salvia sclarea* - Ferquima lote 227), óleo essencial de manjeriço doce (*Ocimum basilicum* - Terraflor lote 20027), óleo essencial de citronela (*Cymbopogon winterianus* – Ferquima, lote 158), óleo fixo de neem (*Azadirachta indica* - Ribeirão Comercial Agrícola Ltda – 0,15% de azadiractina A e 0,12% de azadiractina B), eugenol (composto puro - Maquira indústria de produtos odontológicos) e d-limoneno (composto puro - Fraction Químicos Fracionados, lote 190715/01).

2.2.4 Caracterização química dos óleos essenciais e produtos isolados

Todos os óleos essenciais foram caracterizados por cromatografia gasosa para avaliação da composição química e pureza.

A identificação dos compostos químicos presentes em cada óleo essencial foi realizada por cromatografia gasosa acoplada ao espectrômetro de massas (CG-EM), em equipamento com detector seletivo de massa, modelo QP-PLUS-2010 (Shimadzu) utilizando uma coluna capilar de sílica fundida com fase estacionária Rtx-5MS, de 30 m de comprimento e 0,25 mm de diâmetro interno, utilizando hélio como gás de arraste. A quantificação e a determinação dos índices de retenção (IR) dos compostos presentes nos óleos essenciais foi realizada por cromatografia em fase gasosa (CG) em equipamento Shimadzu GC-2010 Plus, equipado com detector de ionização de chama (FID) e coluna capilar Rtx-5MS, 30 m de comprimento e 0,25 mm de diâmetro interno. O gás de arraste utilizado foi o nitrogênio. Em ambas as análises as temperaturas foram de 220 °C no injetor e 300 °C no detector e com a temperatura inicial da coluna de 60 °C, sendo programada para ter acréscimos de 3 °C a cada minuto, até atingir a temperatura máxima de 240 °C (DOS SANTOS et al., 2021). A identificação dos compostos foi obtida por comparações dos espectros de massas com os existentes no banco de dados do equipamento, com dados da literatura pelo índice de retenção (IR) (ADAMS, 2007).

2.2.5 Preparo das emulsões

Os óleos essenciais e compostos isolados foram diluídos a 2% (v/v) usando Tween® 80 PS a 0,05% (v/v) e água destilada sob agitação constante. Como testemunha (controle negativo) foi utilizado água e Tween® 80 PS a 0,05% (v/v).

2.2.6 Bioensaio de suscetibilidade das pragas as emulsões

Os experimentos foram conduzidos em câmara climatizada (temperatura de 25±1 °C, umidade relativa de 70±10% e fotofase de 14 h). Foram utilizados como alimento discos de dieta artificial. As emulsões foram aplicadas de duas

formas: (i) diretamente sobre as lagartas de 2^o e 4^o instar (contato); (ii) imersão do alimento por 5 segundos na emulsão (ingestão/alimentação) seguindo a metodologia proposta por de Souza Lima et al. (2015).

Na aplicação da emulsão sobre as lagartas (contato), cada um dos tratamentos foi aplicado sobre 10 indivíduos de *S. eridania*, separadamente, que foram mantidos em placas de Petri (10 x 1,2 cm) sobre discos de papel filtro. Em seguida, o alimento foi fornecido as lagartas. Para efetuar as aplicações foi utilizado aerógrafo, sendo utilizado um volume de 2 mL para cada repetição dos tratamentos.

No teste de aplicação da emulsão via alimentação, o alimento foi imerso durante cinco segundos nos diferentes tratamentos. Posteriormente, os mesmos foram colocados sobre papel toalha para secar o excesso de umidade. Em seguida, os discos foram acondicionados nas placas de Petri, sobre o papel filtro. Dez indivíduos por repetição foram colocados em cada placa.

2.2.7 Análise estatística

O experimento foi conduzido para lagartas de 2^o e 4^o ínstaes. Cada tratamento consistiu de 12 repetições e a mortalidade foi avaliada após 72 h. Foi utilizado um delineamento inteiramente casualizado em fatorial duplo (produtos x modos de ação). Os dados foram submetidos a análise de variância (ANOVA), comparando as médias pelo teste Scott-Knott a 5% de probabilidade. As análises foram realizadas no software R (R DEVELOPMENT CORE TEAM, 2009). F1, p1 e F2, p2 correspondem aos valores de experimentos 1 e 2.

2.2.8 Bioensaios em casa de vegetação

2.2.8.1 Cultivo de tomateiro

Mudas de tomateiro (*Solanum lycopersicum* variedade Santa Clara I-5300) foram plantadas em vasos plásticos com substrato e cultivadas de forma orgânica para bioensaios com *S. eridania*.

2.2.8.2 Eficiência de formulações a base de d-limoneno no manejo de *Spodoptera eridania*

Foram preparadas formulações contendo d-limoneno (2,0%), Tween 80 (0,05%) e água, combinados com diferentes agentes encapsulantes (Tabela 1). As formulações foram pulverizadas em plantas com auxílio de um pulverizador (Figura 1-A) e imediatamente distribuídas cinco lagartas de segundo instar em cada planta (Figura 1-B), os vasos de planta foram encapados com sacos de TNT branco para evitar a fuga das lagartas e permitir que as trocas gasosas continuassem ocorrendo (Figura 1-C). Cada tratamento foi composto por seis repetições. A mortalidade de lagartas foi avaliada 72 h após a aplicação dos formulados, sendo consideradas mortas as lagartas que ao serem tocadas com um pincel, não apresentaram movimento. Os dados foram submetidos à análise de variância e as médias comparadas pelo Teste de Tukey a 5% de probabilidade.

Tabela 1. Formulações aplicadas em mudas de tomateiro (*Solanum lycopersicum* variedade Santa Clara I-5300) para manejo de *Spodoptera eridania*.

Controle 1 (C1)	Controle 2 (C2)	Controle 3 (C3)	Controle 4 (C4)
Água destilada	Água destilada	Água destilada	Água destilada
Tween (0,05)	Tween (0,05)	Tween (0,05)	Tween (0,05)
	Goma de xantana (0,1%)	Goma de guar (0,1%)	Maltodextrina (0,1%)
Formulado 1 (F1)	Formulado 2 (F2)	Formulado 3 (F3)	Formulado 4 (F4)
D-limoneno (2%)	D-limoneno (2%)	D-limoneno (2%)	D-limoneno (2%)
Tween (0,05)	Tween (0,05)	Tween (0,05)	Tween (0,05)
	Goma de xantana (0,1%)	Goma de guar (0,1%)	Maltodextrina (0,1%)



Figura 1. Pulverização dos formulados a base de d-limoneno para manejo de *Spodoptera eridania*. A) Pulverizador manual utilizado para aplicação das formulações. B) Distribuição das lagartas em plantas. C) Vasos encapados com sacos de TNT branco para evitar a fuga das lagartas e permitir que as trocas gasosas.

2.2.8.3 Efeito residual das formulações em plantas.

Quando constatado a mortalidade de lagartas após 72h da aplicação das formulações, foram liberadas novamente lagartas nas plantas para avaliar o efeito residual das formulações.

2.3 RESULTADOS

2.3.1 Caracterização química dos óleos essenciais

Analisando o perfil cromatográfico dos óleos essenciais testados, observou-se a presença do citronellal (78,32%) como composto majoritário de eucalipto; α -zingiberene (16,34%) e geranial (12,23%) para gengibre 1,8-cineole // eucalyptol (32,00%), canfora (20,48%) e α -pinene (18,73%) para alecrim; citronellal (42,52%), geraniol (21,64%) e citronellol (15,72%) para citronela; acetato de linalol (65,59%) e linalol (24,00%) para sálvia e linalol (86,24%) para manjeriço doce (tabela 2).

Tabela 2. Perfil cromatográfico dos óleos essenciais testados.

Óleos essenciais		Compostos identificados
Nome comum	Nome científico	
Eucalipto	<i>Eucalyptus citriodora</i>	Citronellal (78.32), citronellol (9,90), isopulegol (7,28), citronellol acetate (1,23), Ecaryophyllene (1,21), NIa (0,81)
Gengibre	<i>Zingiber officinale</i>	2-heptanol (0,79), α -pinene (1,64), camphene (5,88), myrcene (1,47), β -phellandrene (5,04), 1,8-cineole(=eucalyptol) (5,53), minalol (0,91), borneol (1,35), α -terpineol (1,06), citronellol (1,57), neral (9,06), geraniol (1,17), geranial (12.23), NI (10,44), α -amorfeno (1,00), α -curcumeno (5,02), α -zingiberene (16.34), α -farnesene (8,97), β -sesquiphellandrene (7,22), germacrene B (7,22), (E)trans-nerolidol (0,64), NI (2,03)
Alecrim	<i>Rosmarinus officinalis</i>	α -pinene (18.73), NI (0,88), tricyclene (1,06), α -pinene (19,73%), myrcene (1,79), camphene (7,00), β -pinene (3,37), p-cymene (2,53), 1,8-cineole(=eucalyptol) (32,00%), γ -terpinene (0,52), camphor (20.48%), linalool (2,10), isoborneol (2,36), terpinen-4-ol (0,76), α -terpineol (2,74), geraniol (1,16), isobornyl acetate (1,93), NI (0,59%)
Citronela	<i>Cymbopogon winterianus</i>	Limonene (1,03), linalool (0,66), isopulegol (0,72), citronellal (42,52), citronellol (15,72), geraniol (21,64), citronellyl acetate (3,10), geraniol acetate (3,33), β -elemene (1,35), NI (0,88), Germacrene D (2,09), α -Muurolene (0,95), γ -cadinene (0,64), δ -cadinene (2,10), elemol (2,26), NI (1,01)
Sálvia	<i>Salvia sclarea</i>	Linalool (24,00), α -Terpineol (3,31), Linalool acetate (65,59), Neryl acetate (1,43), Geranyl (2,66), (E)-Caryophyllene (1,72), germacrene D (1,30)
Manjeriço doce	<i>Ocimum brasiliicum</i>	Linalool (86.24), α -Pinene (1,05), limonene (2,70), (E)-Caryophyllene (4,75), α -Humulene (1,80), NI (3,46)

^a NI= Não identificado.

2.3.2 Bioensaio de suscetibilidade das pragas as emulsões

No teste de mortalidade sobre *S. eridania* na via de exposição por contato, apenas o composto isolado eugenol diferiu estatisticamente dos demais tratamentos, apresentando mortalidade de 100% no 2º instar da praga ($F=63,64$; $p<0,01$). Na exposição por ingestão, os compostos isolados eugenol e d-limoneno, e os óleos essenciais de eucalipto e manjerição doce diferiram-se da testemunha ($F_1=83,0615$; $p_1<0,01$; $F_2= 80,8976$; $p_2<0,01$). Entretanto, o composto isolado d-limoneno diferiu dos demais tratamentos apresentando mortalidade superior de 96,7%. O composto isolado eugenol possui maior ação na via de exposição por contato, enquanto os óleos essenciais de eucalipto, manjerição doce e o composto isolado d-limoneno possuem maior eficiência na via de exposição por ingestão (tabela 2). No 4º instar larval, os óleos e compostos isolados testados não apresentam efeito na mortalidade de *S. eridania* ($F_1=0,0$; $p_1=0,0$) (tabela 3).

Tabela 3. Mortalidade (\pm erro padrão) de *Spodoptera eridania* sob duas vias de exposição (contato e ingestão) submetidos a aplicações de óleos essenciais e compostos majoritários no 2º instar larval.

Tratamentos		Experimento 1	
		2º instar	
Nome comum	Nome científico	Contato	Ingestão
Testemunha	Testemunha	0,0 \pm 0,0 Ba	0,0 \pm 0,0 Ea
Gengibre	<i>Zingiber officinale</i>	0,0 \pm 0,0 Ba	6,6 \pm 4,2 Ea
Eucalipto	<i>Eucalyptus citriodora</i>	0,0 \pm 0,0 Ba	16,0 \pm 7,3 Da
Sálvia	<i>Salvia sclarea</i>	0,0 \pm 0,0 Ba	0,0 \pm 0,0 Ea
Alecrim	<i>Rosmarinus officinalis</i>	0,0 \pm 0,0 Ba	0,0 \pm 0,0 Ea
Manjerição	<i>Ocimum basilicum</i>	0,0 \pm 0,0 Bb	66,7 \pm 12,2 Ba
Citronela	<i>Cymbopogon winterianus</i>	0,0 \pm 0,0 Ba	0,0 \pm 0,0 Ea
Graviola	<i>Annona muricata</i>	0,0 \pm 0,0 Ba	0,0 \pm 0,0 Ea
Neem	<i>Azadirachta indica</i>	0,0 \pm 0,0 Ba	0,0 \pm 0,0 Ea
D-limoneno	D-limoneno	0,0 \pm 0,0 Bb	96,7 \pm 3,3 Aa
Eugenol	Eugenol	100,0 \pm 0,0 Aa	36,7 \pm 6,1 Cb
F interação		63,64	
p-valor		<0,01	

* Médias seguidas de mesma letra maiúscula na coluna e minúscula na linha não diferem entre si pelo teste de Scott Knott a 5% de probabilidade.

2.3.3 Eficiência de formulações a base de d-limoneno sobre *Spodoptera eridania*

O formulado composto pela goma guar (F3) e maltodextrina (F4) difeririam estatisticamente dos demais tratamentos e do controle ($p < 0,05$), apresentando 49,0 e 46,0% de mortalidade, respectivamente (tabela 4).

Tabela 4. Mortalidade (%) de *Spodoptera eridania* no 2º instar larval, após tratamento com diferentes formulações de d-limoneno.

Formulações ¹	Mortalidade (%)
Controle 1	0,0 ± 0,0 a
Controle 2	0,0 ± 0,0 a
Controle 3	0,0 ± 0,0 a
Controle 4	0,0 ± 0,0 a
Formulado 1	0,0 ± 0,0 a
Formulado 2	17,0% ± 5,3 a
Formulado 3	49,0 ± 8,5 b
Formulado 4	46,0 ± 12,6 b
p-valor	<0,05

*Médias seguidas pela mesma letra não diferem entre si ao nível de 5% de probabilidade pelo Teste de Tukey. ¹Controle 1 = água destilada + Tween (0,05%); Controle 2 = água destilada + Tween (0,05%) + goma de xantana (0,1%); Controle 3 = água destilada + Tween (0,05%) + goma guar (0,1%); Controle 4 = água destilada + Tween (0,05%) + maltodextrina (0,1%); formulado 1= d-limoneno (2%) + Tween (0,05%); formulado 2 = d-limoneno (2%) + Tween (0,05%) + Goma de xantana (0,1%); formulado 3= d-limoneno (2%) + Tween (0,05) + Goma guar (0,1%); e formulado 4 = d-limoneno (2%) + Tween (0,05%) + maltodextrina (0,1%).

2.3.4 Efeito residual das formulações a base de d-limoneno sobre *Spodoptera eridania*

No tratamento composto pelo agente encapsulante goma guar (F3) e maltodextrina (F4), foi comprovado mortalidade das lagartas no prazo de 72h e, portanto, foram liberados novamente lagartas de *S. eridania* para avaliar o efeito residual do formulado. Entretanto, não foi constatado mortalidade, evidenciando que o formulado não possui efeito residual após 72h de aplicação.

2.4 DISCUSSÃO

Os óleos e compostos isolados matam lagartas *S. eridania*, com destaque para os compostos isolados e óleo de manjerição doce (*S. sclarea*). Entretanto, é importante observar o perfil cromatográfico dos óleos essenciais, pois podem apresentar variabilidade no teor e na composição química, visto que os óleos essenciais são produzidos por organismos vivos, sujeitos a várias alterações, o que pode ser a razão da variação da resposta do inseto a um mesmo óleo essencial (SODEIFIAN; SAJADIAN; ARDESTANI, 2016).

A variabilidade no teor e na composição química dos óleos essenciais são determinados por caracteres genéticos e podem ser influenciados por diferentes fatores, como tipo de solo, temperatura, estação do ano, luminosidade, idade, estágio de desenvolvimento da planta, disponibilidade de nutrientes, disponibilidade de água no solo, e técnicas de colheita (época e horário de coleta), alterando significativamente a produção dos metabólitos secundários (MORAIS, 2009; MORAIS; CASTANHA, 2012; SODEIFIAN; SAJADIAN; ARDESTANI, 2016; KNUDSEN et al., 2006; ZITO; DÖTTERL; SAJEVA, 2015). Todas as modificações metabólicas ocasionadas refletem no teor, na composição química e no rendimento dos óleos, podendo influenciar diretamente nos resultados de testes sobre o organismo alvo (KOUL et al., 2013; OLIVEIRA et al., 2018). Portanto, pode-se observar divergência entre resultados provenientes de ensaios realizados com as mesmas espécies vegetais e patógenos. Sendo assim, é importante realizar a análise química dos óleos essenciais avaliados, para obter a sua caracterização fitoquímica, favorecendo o conhecimento de qual o composto majoritário do óleo essencial, bem como a composição química como um todo, responsável por conferir a sua ação sobre determinada praga.

A elevada mortalidade na via de exposição por contato pelo composto puro eugenol, que se destaca como o maior componente (70–90 %) do óleo essencial extraído do cravo-da-índia (*Eugenia caryophyllata*), pode ser atribuída ao efeito inseticida de contato de ação rápida que esse composto produz, com efeito conhecido em uma ampla variedade de artrópodes pragas (ISMAN, 2006; DAYAN et al., 2009; MEDEIROS et al., 2013; QUEIROZ et al., 2015; SHARMA et al., 2017; BAKER; GRANT, 2017; GONZÁLEZ ARMIJOS et al., 2019). Estudos

indicam que este fenol penetra na cutícula e tem como alvo funções vitais da fisiologia do inseto (por exemplo, funções de receptores de octopamina e canais de potencial receptor transiente- TRP), o que pode levar à interrupção da sinalização do sistema nervoso (PRICE; BERRY, 2006; BAKER; GRANT, 2017).

Dentre os óleos e compostos isolados testados na via de exposição por alimentação, o destaque foi obtido pelo composto puro d-limoneno. Esse composto é um monoterpene e apresenta-se como composto majoritário em óleo essencial de citrus (MARTINS et al., 2017; PALMA et al., 2019). Possui propriedades fungicidas e inseticidas, apresentando-se como potencial no desenvolvimento de pesticidas naturais (UMAGILYAGE et al., 2017). O d-limoneno é relatado como inibidor da enzima acetilcolinesterase, promovendo a morte do inseto (SOUZA et al., 2012). Mesmo diante da efetividade do d-limoneno no presente estudo, existem estudos que indicam maior efetividade do óleo essencial de citrus na mortalidade de insetos quando comparado ao composto puro d-limoneno puro. A maior efetividade ocorre porque as interações entre os compostos majoritários e os compostos em menores concentrações de um óleo essencial são complexas e podem afetar as características e a toxicidade de um óleo essencial de acordo com a praga em questão (RATTAN, 2010; MARTINS et al., 2017).

A eficiência das formulações a base de d-limoneno compostas pelos agentes encapsulantes em comparação a formulação com a ausência desses compostos, se deve ao fato de que o encapsulamento de inseticidas se baseia na adição de agentes ativos dentro de um glóbulo, podendo aumentar a mortalidade da praga em comparação com pesticidas convencionais, devido à capacidade de evitar a degradação precoce dos ingredientes ativos submetidos a condições adversas (KAH et al., 2018). Esses agentes reduzem à deriva no momento da aplicação das formulações e perdas por volatilização (ATHANASSIOU et al., 2018).

A Goma guar é um polímero natural hidrossolúvel utilizado na preparação de comprimidos matriciais de liberação controlada, que atua na formação de uma barreira difusional e apresenta baixo custo. Sua combinação criteriosa de polímeros pode constituir a matriz de um sistema de liberação de fármacos muito promissor, que fornece um efeito prolongado e uma biodisponibilidade mais

equilibrada (SRIVASTAVA et al., 2010), essas propriedades do polímero são uma boa alternativa para serem utilizadas, como agente encapsulador na agricultura. Já a maltodextrina é um amido hidrolisado com aroma e sabor neutro, com capacidade de formar película ao redor de gotículas de emulsões (UEKANE et al., 2016). Um estudo realizado por de Araujo et al. (2020) indicou que microesferas de óleo de laranja (*Citrus sinensis*) formuladas apenas com maltodextrina apresentaram superfícies mais regulares, boa estabilidade térmica e propriedade antioxidante, prolongando a estabilidade da formulação, atuando proteção do óleo contra fatores ambientais e tempo de armazenamento prolongado.

2.5 CONCLUSÃO

O uso de óleos essenciais e compostos isolados são potenciais para serem utilizados no manejo de *S. eridania*, com ênfase nos compostos eugenol e d-limoneno e formulação a base do composto d-limoneno em associação com agentes encapsulantes (goma guar e maltodextrina) melhoram a eficiência do composto resultando em maior efetividade no manejo de *S. eridania*.

2.6 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ADAMS, R. P. **Identification of essential oil components by gas chromatography/mass spectroscopy**. 4. ed. Carol Stream: Allured Publishing Corporation, 2007. 803 p.

ATHANASSIOU, C. G.; KAVALLIERATOS, N. G.; BENELLI, G.; LOSIC, D.; USHA RANI, P.; DESNEUX, N. Nanoparticles for pest control: current status and future perspectives. **Journal of Pest Science**, v. 91, p. 1-15, 2018.

AZEVEDO, S. G.; MAR, J. M.; SILVA, L. S.; FRANÇA, L. P.; MACHADO, M. B.; TADEI, W. P.; BEZERRA, J. A.; SANTOS, A. L.; SANCHES, E. A. Bioactivity of *Licaria puchury-major* essential oil against *Aedes aegypti*, *Tetranychus urticae* and *Cerataphis lataniae*. **Records of Natural Products**, v. 12, n. 3, p. 229-238, 2018.

AZEVEDO, S. G.; MAR, J. M.; SILVA, L. S.; FRANÇA, L. P.; MACHADO, M. B.; TADEI, W. P.; BEZERRA, J. A.; SANTOS, A. L.; SANCHES, E. A. Bioactivity of *Licaria puchury-major* essential oil against *Aedes aegypti*, *Tetranychus urticae* and *Cerataphis lataniae*. **Records of Natural Products**, v. 12, n. 3, p. 229-238, 2018.

BAKER, B. P.; GRANT, J. A. Perfil de eugenol. **Cornell Cooperative Extension**, v. 1, n. 1, p. 1-15, 2018.

CORREA, M. S.; SCHWAMBACH, J.; MANN, M. B.; FRAZZON, J.; FRAZZON, A. P. G. Antimicrobial and antibiofilm activity of the essential oil from dried leaves of *Eucalyptus staigeriana*. **Arquivos do Instituto Biológico**, v. 86, n. 1, p. 1-8, 2019.

DAYAN, F. E.; CANTRELL, C. L.; DUKE, S. O. Natural products in crop protection. **Bioorganic & medicinal chemistry**, v. 17, n. 12, p. 4022-4034, 2009.

DE ARAÚJO, J. S. F.; DE SOUZA, E. L.; OLIVEIRA, J. R.; GOMES, A. C. A.; KOTZEBUE, L. R. V.; DA SILVA AGOSTINI, D. L.; CAVALCANTI, M. T. Microencapsulation of sweet orange essential oil (*Citrus aurantium* var. *dulcis*) by liophylization using maltodextrin and maltodextrin/gelatin mixtures: Preparation, characterization, antimicrobial and antioxidant activities. **International journal of biological macromolecules**, v. 143, p. 991-999, 2020.

DE LIMA SOUZA, J. R. C.; VILLANOVA, J. C. O.; DE SOUZA, T. D. S.; MAXIMINO, R. C.; MENINI, L. Vegetable fixed oils obtained from soursop agro-industrial waste: Extraction, characterization and preliminary evaluation of the functionality as pharmaceutical ingredients. **Environmental Technology & Innovation**, v. 21, p. 1-12, 2021.

DE SOUZA LIMA, V. L.; CELESTINO, F. N.; PRATISSOLI, D.; DALVI, L. P.; DE CARVALHO, J. R.; PAES, J. P. P. Atividade inseticida do óleo de mamona sobre *Diaphania nitidalis* (Stoll) (Lepidoptera: Pyralidae). **Revista Brasileira de Ciências Agrárias**, v. 10, n. 3, p. 347-351, 2015.

DOS SANTOS, A. T. B.; JUNIOR, J. S. Z.; PARREIRA, L. A.; DE ABREU, K. M. P.; DE OLIVEIRA BERNARDES, C.; DE CARVALHO, J. R.;

MENINI, L. Chemical identification and insecticidal effect of *Tephrosia vogelii* essential oil against *Cerosipha forbesi* in strawberry crop. **Crop Protection**, v. 139, p. 1-6, 2021.

FAVETTI, B. M.; BUTNARIU, A. G.; FOERSTER, L. A. Biology and reproductive capacity of *Spodoptera eridania* (Cramer) (Lepidoptera, Noctuidae) in different soybean cultivars. **Revista Brasileira de Entomologia**, v. 59, n. 1, p. 89-95, 2015.

FOGEL, M. N.; SCHNEIDER, M. I.; RIMOLDI, F.; LADUX, L. S.; DESNEUX, N.; RONCO, A. E. Toxicity assessment of four insecticides with different modes of action on pupae and adults of *Eriopis connexa* (Coleoptera: Coccinellidae), a relevant predator of the Neotropical Region. **Environmental Science and Pollution Research**, v. 23, n. 15, p. 14918-14926, 2016.

FURLONG, M. J.; WRIGHT, D. J.; DOSDALL, L. Diamondback moth ecology and management: problems, progress, and prospects. **Annual review of entomology**, v. 58, n. 1, p. 517-541, 2013.

GHABBARI, M.; GUARINO, S.; CALECA, V.; SAIANO, F.; SINACORI, M.; BASER, N.; MEDIOUNI, J.; VERDE, G. Behavior-modifying and insecticidal effects of plant extracts on adults of *Ceratitis capitata* (Wiedemann) (Diptera Tephritidae). **Journal of Pest Science**, v. 91, n. 1, p. 907–917, 2018.

GONZÁLEZ ARMIJOS, M. J.; VITERI JUMBO, L.; D'ANTONINO FARONI, L. R.; OLIVEIRA, E. E.; FLORES, A. F.; HADDI, K. Fumigant toxicity of eugenol and its negative effects on biological development of *Callosobruchus maculatus* L. **Revista de Ciencias Agrícolas**, v. 36, n. 1, p. 5-15, 2019.

GREENE, G. L.; LEPPLA, N.C.; DICKERSON, W.A. Velvetbean caterpillar: a rearing procedure and artificial medium. **Journal Economic Entomology**, n. 69, p. 487-497, 1976.

ISMAN, M. B. Botanical insecticides, deterrents, and repellents in modern agriculture and an increasingly regulated world. **Annual Review of Entomology**, v. 51, n. 1, p. 45-66, 2006.

KAH, M.; KOOKANA, R. S.; GOGOS, A.; BUCHELI, T. D. A critical evaluation of nanopesticides and nanofertilizers against their conventional analogues. **Nature Nanotechnology**, London, v. 13, p. 677-684, 2018.

KNUDSEN, J. T.; ERIKSSON, R.; GERSHENZON, J.; STÅHL, B. Diversity and Distribution of Floral Scent. **The Botanical Review**, v. 72, n. 1, p. 1-120, 2006.

KOUL, O.; WALIA, S.; DHALIWAL, G. S. Essential oils as green pesticides: Potential and constraints. **Biopesticides International**, v. 4, n. 1, p. 63-84, 2008.

KRINSKI, D.; MASSAROLI, A.; MACHADO, M. Potencial inseticida de plantas da família Annonaceae. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 36, p. 225-242, 2014.

MARTINS, G. D. S. O.; ZAGO, H. B.; COSTA, A. V.; DE ARAUJO JUNIOR, L. M.; DE CARVALHO, J. R. Caracterização química e toxicidade de óleos essenciais cítricos sobre *Dysmicoccus brevipes* (Hemiptera: Pseudococcidae). **Revista Caatinga**, v. 30, n. 3, p. 811-817, 2017.

MEDEIROS, E. S.; RODRIGUES, I. B.; LITAIFF-ABREU, E.; TADEI, W. P. Larvicidal activity of clove (*Eugenia caryophyllata*) extracts and eugenol against *Aedes aegypti* and *Anopheles darlingi*. **African Journal of Biotechnology**, v. 12, n. 8, p. 836-840, 2013.

MONTEZANO, D. G.; SPECHT, A.; SOSA-GÓMEZ, D. R.; ROQUE-SPECHT, V. F.; DE BARROS, N. M. Fases imaturas de *Spodoptera eridania* (Lepidoptera: Noctuidae): parâmetros de desenvolvimento e plantas hospedeiras. **Journal of Insect Science**, v. 14, n. 1, pp. 1-11, 2014.

MORAIS, L. A. S. de. Influência dos fatores abióticos na composição química dos óleos essenciais. **Horticultura Brasileira**, v. 27, n. 2, p. 4050-4063, 2009.

MORAIS, L. A. S. de.; CASTANHA, R. F. Composição química do óleo essencial de manjeriço naturalmente submetido ao ataque de cochonilhas. **Horticultura Brasileira**, v. 30, n. 2, p. 2178-2182, 2012.

OLIVEIRA, A. P.; SANTOS, A. A.; SANTANA, A. S.; LIMA, A. P. S.; MELO, C. R.; SANTANA, E. D. R.; SAMPAIO, T. S.; BLANK, A. F.; ARAÚJO, A. P. A.; CRISTALDO, P. F.; BACCI, L. Essential oil of *Lippia sidoides* and its major compound thymol: Toxicity and walking response of populations of *Sitophilus zeamais* (Coleoptera: Curculionidae). **Crop Protection**, v. 112, p. 33-38, 2018.

PALMA, C. E.; CRUZ, P. S.; CRUZ, D. T. C.; BUGAYONG, A. M. S.; CASTILLO, A. L. Chemical composition and cytotoxicity of *Philippine calamansi* essential oil. **Industrial Crops and Products**, v. 128, n. 1, p. 108-114, 2019.

PAVELA, R. Essential oils from *Foeniculum vulgare* Miller as a safe environmental insecticide against the aphid *Myzus persicae* Sulzer. **Environmental science and pollution research**, v. 25, n. 11, p. 10904-10910, 2018.

PRICE, D. N.; BERRY, M. S. Comparação dos efeitos da octopamina e dos óleos essenciais inseticidas na atividade da medula nervosa, intestino anterior e neurônios medianos não pareados dorsais de baratas. **Journal of insect physiology**, v. 52, n. 3, p. 309-319, 2006.

QUEIROZ, J. M. C.; SUZUKI, M. C. M.; MOTTA, A. P. R.; NOGUEIRA, J. M. R.; CARVALHO, E. M. Aspectos populares e científicos do uso de espécies de *Eugenia* como fitoterápico. **Etnofarmacologia**, v. 9, n. 2, p. 73-100, 2015.

R Development Core Team, 2009. R: **A language and environment for statistical computing**, R Foundation for Statistical Computing, Vienna, 2009.

RATTAN, R. S. Mechanism of action of insecticidal secondary metabolites of plant origin. **Crop protection**, v. 29, n. 9, p. 913-920, 2010.

SHARMA, U. K.; SHARMA, A. K.; GUPTA, A.; KUMAR, R.; PANDEY, A.; PANDEY, A. K. Pharmacological activities of cinnamaldehyde and eugenol: antioxidant, cytotoxic and anti-leishmanial studies. **Cellular and Molecular Biology**, v. 63, n. 1, p.73-78, 2017.

SODEIFIAN, G.; SAJADIAN, S.A.; ARDESTANI, N.A.; Extraction of *Dracocephalum kotschy* Boiss using supercritical carbon dioxide: Experimental

and optimization. **Journal of Supercritical Fluids**. v. 107, n. 1, p. 137–144, 2016.

SOUZA, A. C. de; VIEIRA, G. H. C.; NEVES, L. M. Uso de óleos essenciais no controle do *Colletotrichum gloeosporioides* causador da antracnose no caju. **Enciclopédia Biosfera**, v. 16, n. 29, p. 1709-1715, 2019.

SOUZA, A. C. de; VIEIRA, G. H. C.; NEVES, L. M. Uso de óleos essenciais no controle do *Colletotrichum gloeosporioides* causador da antracnose no caju. **Enciclopédia Biosfera**, v. 16, n. 29, p. 1709-1715, 2019.

SOUZA, S. P. D.; VALVERDE, S. S.; DA SILVA, R. L.; LIMA, K. D. S. C.; LIMA, A. L. D. S. Óleos essenciais como inibidores da acetilcolinesterase. **Revista Fitos**, v. 7, n. 4, p. 259-266, 2012.

SRIVASTAVA, P.; MALVIYA, R.; GUPTA, S.; SHARMA, P. K. Evaluation of various natural Gums as releases modifiers in tablet formulations. **Pharmacognosy Journal**, v. 2, n. 13, p. 525-529, 2010.

UEKANE, T. M.; COSTA, A. C. P.; PIERUCCI, A. P. T. R.; ROCHA-LEÃO, M. H. M.; REZENDE, C. M. Sulfur aroma compounds in gum Arabic/maltodextrin microparticles. **Lebensmittel-Wissenschaft + Technologie**, v. 70, p.3 42-348, 2016.

UMAGILIYAGE, A. L.; BECERRA-MORA, N.; KOHLI, P.; FISHER, D. J.; CHOUDHARY, R. Antimicrobial efficacy of liposomes containing d-limonene and its effect on the storage life of blueberries. **Postharvest Biology and Technology**, v. 128, n. 1, p. 130-137, 2017.

YANG, X.; GAO, N.; HU, L.; LI, J.; SUN, Y. Development and evaluation of novel microcapsules containing poppy-seed oil using complex coacervation. **Journal of Food Engineering**, v. 161, n. 1, p. 87-93, 2015.

ZITO, P.; DÖTTERL, S.; SAJEVA, M. Floral Volatiles in a Sapromyiophilous Plant and Their Importance in Attracting House Fly Pollinators. **Journal of Chemical Ecology**, v. 41, p. 340-349, 2015.

3 CAPÍTULO III

Compatibilidade de *Heterhabditis amazonensis* e *Steinernema rarum* com óleos essenciais, fixos e compostos isolados

RESUMO

A utilização de óleos essenciais, fixos e compostos isolados tem sido relatada no manejo de pragas, porém, a ação desses óleos em organismos considerados não alvo é pouco conhecida. O objetivo deste trabalho foi avaliar o efeito dos óleos essenciais de eucalipto (*Eucalyptus citriodora*), alecrim (*Rosmarinus officinalis*), sálvia (*Salvia sclarea*), manjeriço doce (*Ocimum basilicum*), citronela (*Cymbopogon winterianus*), gengibre (*Zingiber officinale* Roscoe), dos óleos fixos de neem (*Azadirachta indica*) e graviola (*Annona muricata*) e dos compostos isolados eugenol e d-limoneno, na toxicidade, mobilidade e infectividade de nematoides entomopatogênicos (NEPs). Os óleos foram diluídos a 1% (v/v) em água e Tween® 80 PS a 0,05% (v/v) e utilizado água+ Tween® no tratamento controle. No teste de mortalidade, 2 mL de solução, contendo 50 µL (15 Jis) da suspensão de nematoides, 20 µL de solução de óleo/compostos isolados com Tween 80 e 1930 µL de água, foram colocados em recipientes plásticos. Após quatro dias, foi contabilizado o número de juvenis mortos. No bioensaio de comportamento dos NEPs, foi analisado a frequência de batidas laterais do corpo dos juvenis infectantes em meio líquido, após contato com os tratamentos. No teste de infectividade os juvenis foram lavados após contato com os tratamentos e aplicados em larvas de 2º instar de *Spodoptera eridania*. Todos os óleos e compostos isolados resultaram em mortalidade de *Heterhabditis amazonensis* e *Steinernema rarum*, destacando o óleo de manjeriço doce (*O. basilicum*) e o composto isolado eugenol para *H. amazonensis* e manjeriço (*O. basilicum*), eucalipto (*E. citriodora*), gengibre (*Z. officinale*), sálvia (*S. sclarea*) e o composto isolado eugenol para *S. rarum*. Houve redução do número de batidas laterais de *H. amazonensis* e *S. rarum* para todos os tratamentos, com exceção do óleo de citronela para *H. amazonensis* e de graviola (*A. muricata*) para *S. rarum*. A infectividade de *H. amazonensis* e *S. rarum* sobre *S. eridania* foi reduzida quando expostos aos óleos e compostos majoritários testados, com exceção do composto isolado d-limoneno para ambas

as espécies, graviola para *H. amazonensis* e alecrim para *S. raram*, sendo estes classificados como não tóxicos para as espécies testadas.

Palavras chave: Controle biológico. Nematoides Entomopatogênicos. Bioinseticidas. Mortalidade. Comportamento. Infecção.

Compatibility of *Heterhabditis amazonensis* and *Steinernema rarum* with essential oils, fixed and isolated compounds

ABSTRACT

The use of essential oils, fixed and isolated compounds has been reported in pest management, however, the action of these oils on non-target organisms is little known. The objective of this work was to evaluate the effect of essential oils of eucalyptus (*Eucalyptus citriodora*), rosemary (*Rosmarinus officinalis*), sage (*Salvia sclarea*), sweet basil (*Ocimum basilicum*), citronella (*Cymbopogon winterianus*), ginger (*Zingiber officinale*), of fixed oils of neem (*Azadirachta indica*) and graviola (*Annona muricata*) and isolated compounds eugenol and d-limonene, on the toxicity, mobility and infectivity of entomopathogenic nematodes (EPNs). The oils were diluted at 1% (v/v) in water and Tween® 80 PS at 0.05% (v/v) and water + Tween® was used in the control treatment. In the mortality test, 2 mL of solution, containing 50 µL (15 µL) of the nematode suspension, 20 µL of oil solution/compounds isolated with Tween 80 and 1930 µL of water, were placed in plastic containers. After four days, the number of dead juveniles was counted. In the behavior bioassay of EPNs, the frequency of lateral body blows of infective juveniles in liquid medium, after contact with the treatments, was analyzed. In the infectivity test, the juveniles were washed after contact with the treatments and applied to 2nd instar larvae of *Spodoptera eridania*. All oils and isolated compounds resulted in mortality of *Heterhabditis amazonensis* and *Steinernema rarum*, highlighting sweet basil oil (*O. basilicum*) and the isolated compound eugenol for *H. amazonensis* and basil (*O. basilicum*), eucalyptus (*E. citriodora*), ginger (*Z. officinale*), sage (*S. sclarea*) and the isolated compound eugenol for *S. rarum*. There was a reduction in the number of side hits for *H. amazonensis* and *S. rarum* for all treatments, with the exception of citronella oil for *H. amazonensis* and soursop oil (*A. muricata*) for *S. rarum*. The infectivity of *H. amazonensis* and *S. rarum* on *S. eridania* was reduced when exposed to the oils and major compounds tested, with the exception of the isolated compound d-limonene for both species, soursop for *H. amazonensis* and rosemary for *S. rarum*, being these classified as non-toxic for the tested species.

Keywords: Biological control. Entomopathogenic Nematodes. Bioinsecticides. Mortality. Behavior. Infection.

3.1 INTRODUÇÃO

O emprego de bioinseticidas a base de óleos e extrato de plantas tem-se destacado, devido a suas características, como as propriedades toxicológicas contra diversas espécies de insetos, e a redução do risco de resistência cruzada graças a complexa estrutura química dos constituintes dos óleos e a rápida degradação comparado aos inseticidas sintéticos, causando menos danos à saúde humana e ao meio ambiente (PAVELA, 2018; GHABBARI et al., 2018; SOUZA; VIEIRA; NEVES, 2019).

Estudo relatando a eficiência dos óleos e compostos isolados no manejo de organismos nocivos, como por exemplo nematoides fitoparasitas, pragas agrícolas e florestais são frequentes. No entanto, a ação dos óleos e compostos isolados sobre organismos não alvos, como por exemplo parasitoides, predadores e nematoides entomopatogênicos (NEPs) deve ser estudada. Os NEPs são nematoides benéficos que atuam no controle biológico de diversas pragas (RAE et al., 2007; DAMASCENA et al., 2019; HORTA et al., 2021). Esses organismos possuem alguns atributos como curto ciclo de vida e ampla gama de hospedeiros; ambientalmente seguro e persistência no ambiente, que os colocam como potenciais agentes no controle biológico de pragas (DAMASCENA et al., 2020). São parasitas obrigatórios e possuem relação simbiótica com bactérias do gênero *Xenorhabdus* para *Steinernema* e *Photorhabdus* para *Heterorhabditis*, capazes de infectar e matar o hospedeiro (BATALLA-CARRERA; MORTON; GARCIA-DEL-PINO, 2016).

Considerando a existência de estudos avaliando a eficiência de óleos e compostos isolados no manejo de pragas, e a falta de informações sobre a ação dos óleos em organismos não alvo, o objetivo deste trabalho é avaliar a mortalidade, infectividade e comportamento de nematoides entomopatogênicos das espécies *Heterorhabditis amazonensis* (Rhabditida: Heterorhabditidae) e *Steinernema rarum* (Rhabditida: Steinernematidae) sob exposição de óleos essenciais, fixos e compostos majoritários.

3.2 MATERIAL E MÉTODOS

Os experimentos foram realizados no Núcleo de Desenvolvimento Científico e Tecnológico em Manejo Fitossanitário de pragas e Doenças

(NUDEMAFI), localizado no Centro de Ciências Agrárias e Engenharias da Universidade Federal do Espírito Santo (CCAUE-UFES). A extração e caracterização dos óleos foram realizadas no Laboratório de Fitoquímica e Catálise do Instituto Federal do Espírito Santo (IFES) - Campus de Alegre.

3.2.1 Obtenção e multiplicação dos nematoides entomopatogênicos

As populações de NEPs foram obtidas da Coleção de Nematoides Entomopatogênicos do Banco do Instituto Biológico de Campinas, São Paulo, Brasil e multiplicadas no laboratório de Entomologia do CCAUE-UFES. Os juvenis infectantes (JIs) de *H. amazonensis* isolado IBCB 10 e *S. rorum* isolado PAM 25 foram multiplicados em larvas de *Tenebrio molitor* (Linnaeus, 1758) (Coleoptera: Tenebrionidae). Foram utilizadas 10 larvas de *T. molitor* por placa de Petri (9 cm de diâmetro) revestidas com papel de filtro umedecido com uma suspensão de 1 mL contendo JIs de nematoides à concentração de 500 JIs/cm². As larvas mortas foram transferidas para armadilhas de White (WHITE, 1927) (Figura 1) e armazenadas em câmara incubadora (B.O.D.) a 25 °C. Após 11 dias, os JIs foram coletados e acondicionados em recipientes plásticos contendo água destilada, e armazenados em câmaras climatizadas a temperatura de 18 °C, 70% de HR. Os JIs foram usados até 48h após a coleta.



Figura 1. Armadilha do tipo White para coleta de juvenis infectantes (JI) dos nematoides entomopatogênicos (NEPs).

3.2.1 Manutenção e multiplicação dos insetos

3.2.1.1 Criação de *Tenebrio molitor*

Larvas de *T. molitor* foram obtidas da criação estoque mantida no laboratório de Entomologia do NUDEMAFI (CCAUE-UFES), mantidas em bandejas plásticas de 39,3 x 59,5 x 7,0cm e alimentadas com farelo de trigo (ZAMPERLINI et al., 1992).

3.2.1.2 Criação de *Spodoptera eridania*

As lagartas recém-emergidas de *S. eridania* foram acondicionadas em potes plásticos (20 cm x 40 cm x 12 cm altura) com tampa possuindo uma abertura, fechada com tecido microtuler. Com o crescimento das lagartas e a perda de hábito gregário que acaba no segundo instar, estas lagartas foram repicadas em novos potes até atingir um stand final de 100 lagartas por pote. As lagartas foram alimentadas com dieta artificial adaptada (GREENE; LEPPLA; DICKERSON, 1976), constituída por 125 g de feijão, 62,4 g de levedo de cerveja, 100 g de gérmen de trigo, 100 g de proteína de soja, 50 g de caseína, 35 g de ágar, 5 g de nipagin, 6 g de ácido ascórbico, 3 g de ácido sórbico, 6 mL de formol em 40% e 10 g de solução vitamínica (niacinamida, pantotenato de cálcio, tiamina, riboflavina, piridoxina, ácido fólico, biotina e vitamina B12), suficiente para a alimentação de 24 horas. Quando as lagartas atingiam a fase de pre-pupa, foram individualizadas em potes (10 cm de diâmetro x 7 cm de altura) com tampas perfuradas e tampadas com tecido microtuler, forradas com ¼ de folha de papel formato A4. Estes potes receberam 1 cm³ de dieta descrita acima e 7 lagartas, que permaneceram no recipiente até a fase de pupa. Estas foram coletadas e acondicionadas em placas de plástico tipo Gerbox® (6 cm de diâmetro x 1,5 cm de altura) até a emergência dos adultos, que foram destinados a uma gaiola de acrílico (80 cm x 80 cm x 70 cm), permanecendo nesta condição por 48 horas, e posteriormente transferidos para gaiolas de PVC (20 cm de diâmetro x 25 cm de altura) revestidos internamente com folha de papel branco. A extremidade superior fechada com tecido do tipo “voil” e a inferior fechada com uma placa quadrada de isopor (25 cm de lado x 3 cm de espessura), contendo solução de mel em 10% (m/v) como substrato alimentar, por meio de algodão

embebido de solução em frasco de vidro (5 mL). As folhas de papel, contendo as posturas foram recortadas e as massas de ovos acondicionadas em placas de plástico tipo Gerbox® (6 cm de diâmetro x 1,5 cm de altura), mantidas em condições controladas (25 ± 1 °C, UR de $70 \pm 10\%$ e fotofase de 12h), até a emergência das lagartas.

3.2.2 Obtenção e produção dos óleos e compostos isolados

Foram utilizados os óleos essenciais de eucalipto (*Eucalyptus citriodora*, Ferquima lote 114), alecrim (*Rosmarinus officinalis* - Destilaria Bauru lote DBKT-ALIP1218/312), sálvia (*Salvia sclarea* - Ferquima lote 227), manjerição doce (*Ocimum basilicum* - Terraflor lote 20027), citronela (*Cymbopogon winterianus* – Ferquima, lote 158), óleo fixo de neem (*Azadirachta indica* - Ribeirão Comercial Agrícola Ltda – 0,15% de azadiractina A e 0,12% de azadiractina B), e os compostos isolados eugenol (composto isolado - Maquira indústria de produtos odontológicos) e d-limoneno (composto isolado - Fraction Químicos Fracionados, lote 190715/01), obtidos no comércio por compras e não sofreram nenhum tratamento.

O óleo de gengibre (*Zingiber officinale* Roscoe) foi obtido por hidrodestilação da raiz “in natura”. O gengibre foi cortado em pequenas porções de ± 300 g, e submetidos a hidrodestilação em triplicata. Cada material foi colocado em um balão de dois litros e adicionado 500 mL de água destilada, que foi acoplado ao Clevenger e submetido a aquecimento. Dessa forma, a hidrodestilação da atmosfera foi realizada, por três horas consecutivas (DOS SANTOS et al., 2021). Após três horas, o hidrolato (óleo essencial e água) foi coletado e separado por centrifugação e transferido para um eppendorf e guardado em um freezer a temperatura de 0 °C.

Para obtenção do óleo de graviola (*Annona muricata* Linn), foi pesado 400 g de resíduo de graviola, separando-se as sementes e secando em estufa de circulação forçada de ar (MARCONI, modelo MA 035/5) a 55 °C por 72h. As cascas foram retiradas manualmente das sementes. O conteúdo foi armazenado em freezer a – 20 °C para análise centesimal e extração do óleo. A extração foi realizada via extrusão (DE LIMA SOUZA et al., 2021). Pesou-se 100 g de sementes e a extração do óleo realizada pelo Extrator de Óleo Gourmet (HOME

UP, modelo MQO 001). A fração lipídica foi transferida para tubos Falcon e centrifugada a 2500rpm por cinco minutos. O volume final do óleo foi medido e o rendimento calculado.

3.2.3 Toxicidade de óleos e compostos isolados a nematoides entomopatogênicos

Para a avaliação do efeito tóxico dos óleos/compostos majoritários sobre os nematoides entomopatogênicos, os óleos essenciais, fixos e compostos isolados foram diluídos a 1% (v/v) seguindo a metodologia de Barua et al. (2020). Como testemunha foi utilizado água e Tween® 80 PS a 0,05% (v/v).

As suspensões contendo nematoides foram preparadas através da contagem em triplicata do número de juvenis presentes em uma alíquota, estimando para que 15 juvenis infectantes estivesse em 50µL. Portanto, dois mL de solução, contendo 50 µL da suspensão de nematoides, 20 µL de solução de óleo/compostos isolados com Tween® 80 e 1930 µL de água, foram colocados em recipientes plásticos (3,5cm Ø). Os recipientes foram colocados em câmaras climatizadas em temperatura de 20 ± 1 °C e UR de $70 \pm 10\%$.

A avaliação da toxidade foi realizada após quatro dias, por meio de contagem e observação, o número de juvenis mortos. Foi considerado morto, o indivíduo com o corpo estendido/reto após o estímulo com estilete, e vivo o indivíduo que movimentava após o estímulo com estilete de acordo com a metodologia de Barua et al. (2020).

O delineamento utilizado foi o inteiramente casualizado, em esquema fatorial (10 x 2) com dez óleos e testemunha e duas espécies de nematoides entomopatogênicos (*H. amazonensis* e *S. rorum*) com 10 repetições. Os dados foram submetidos à análise de variância, as médias comparadas pelo teste de Scott Knott a 5% de probabilidade no software estatístico R (pacote ExDes.pt) (R DEVELOPMENT CORE TEAM, 2019).

3.2.4 Mobilidade de nematoides entomopatogênicos submetidos à aplicação de óleos e compostos isolados

Para avaliar o efeito dos óleos na mobilidade de *H. amazonensis* e *R. rarum*, foi seguido a metodologia proposta por Sleight (2010), analisando-se a frequência de batidas laterais do corpo dos juvenis infectantes em meio líquido.

Soluções contendo os juvenis infectantes e os óleos/compostos isolados foram preparadas semelhantemente ao teste de mortalidade. As soluções foram colocadas em recipientes plásticos e, no mesmo instante, sob microscópio estereoscópio, foi contabilizado o número de batidas laterais para três nematoides selecionados aleatoriamente durante um minuto nos três respectivos tempos: 0, 30 e 60 minutos.

O delineamento utilizado foi inteiramente casualizado, em esquema fatorial (11 x 3), com dez óleos e testemunha e três tempos, com 3 repetições para cada tempo. Os dados foram submetidos à análise de variância, as médias comparadas pelo teste de Scott Knott a 5% de probabilidade no software estatístico R (pacote ExDes.pt) (R DEVELOPMENT CORE TEAM, 2019).

3.2.5 Infectividade de nematoides entomopatogênicos em larvas de *Spodoptera eridania* submetidos à aplicação de óleos essenciais, fixos e compostos isolados

Para verificar o número de juvenis infectantes de cada espécie de nematoide entomopatogênico a ser utilizado no manejo de *Spodoptera eridania* (Cramer) (Lepidoptera: Noctuidae), foram adicionados 2mL da suspensão contendo JIs de 48h sobre 1 lagarta de *S. eridania*, variando conforme as concentrações de 0, 25, 50, 100, 150, 200, 300, 400 JI/inseto e para a testemunha foi adicionado 2mL de água destilada. As lagartas foram mantidas em câmara incubadora (B.O.D.) a temperatura de 25 °C e 70% UR. As avaliações de mortalidade foram realizadas oito dias após a inoculação do nematoide. Constatada a mortalidade, os cadáveres foram transferidos individualmente para a armadilha de White (White, 1927), para verificar a emergência dos nematoides. O experimento foi conduzido em delineamento inteiramente casualizado, com 8 tratamentos e 10 repetições. Os dados obtidos

foram avaliados através do software estatístico SISVAR 5.6 e as médias comparadas pelo teste de Tukey a 5% de significância (FERREIRA, 2015).

Para verificar a infetividade de *H. amazonensis* e *S. rarum* após o contato com óleos e compostos isolados, utilizou-se lagartas de 2º instar de *S. eridania*. 10 mL de suspensão contendo os juvenis infectantes (concentração previamente determinada) e dois mL de solução de óleos/compostos isolados e Tween 80, foram colocados em tubos de vidro (2,5x 8,5cm), e mantidos à temperatura de 16 °C±1 °C e UR de 60 ± 10% por 30 minutos. Após esse tempo, o sobrenadante (3mL) foi retirado e adicionado 3mL de água destilada com o intuito de remover o resíduo de óleo e/ou composto isolado, de acordo com a metodologia de Özdemir et al. (2020). Foi realizado três vezes o mesmo procedimento, para garantia da eliminação do resíduo do óleo e/ou composto isolado. Posteriormente, foi retirado dessa suspensão uma alíquota contendo 400 JI infectantes dos respectivos nematoides. Foi realizado a contagem tripla de amostras de 20µL, e colocado em recipientes plásticos (3,5cm Ø) contendo papel filtro, dieta artificial e uma larva de 2º instar de *S. eridania*.

As avaliações foram realizadas após oito dias, através da observação das larvas mortas e posteriormente as larvas foram transferidas individualmente para a armadilha de White (WHITE, 1927), para confirmação da mortalidade por NEPs.

O delineamento utilizado foi o inteiramente casualizado, com 10 repetições. A mortalidade foi corrigida através da fórmula de Abbott (1925) e os dados foram submetidos ao teste não paramétrico de Kruskal-Wallis e as médias comparadas pelo teste de Dunn a 5% de probabilidade no software estatístico R (pacote ExDes.pt) (R DEVELOPMENT CORE TEAM, 2019). Foi calculado a redução de infectividade com base na fórmula: $Red (\%) = (1 - It/Ic) \times 100$, em que It correspondeu à mortalidade nos tratamentos e Ic a mortalidade na testemunha (PETERS; POULLOT, 2004) e os produtos classificados quanto a seletividade baseada no guia IOBC, recebendo as classificações: (1) não tóxicos (< 30%), (2) pouco tóxicos (30-79%), (3) moderadamente tóxicos (80-99%) e (4) tóxicos (>99%).

3.3 RESULTADOS

3.3.1 Toxicidade de óleos e compostos isolados a nematoides entomopatogênicos

Todos os óleos e compostos isolados resultaram em mortalidade de *H. amazonensis* e *S. rarum*. Para *H. amazonensis*, manjeriço doce (*O. basilicum*) e o composto isolado eugenol apresentaram as maiores mortalidades, com $92,41 \pm 9,88\%$ e $100 \pm 0,00\%$ respectivamente, diferindo dos demais tratamentos. As maiores mortalidades de *S. rarum*, foram pelos óleos de manjeriço (*O. basilicum*), eucalipto (*E. citriodora*), gengibre (*Z. officinale*), salvia (*S. sclarea*) e para o composto isolado eugenol, diferindo estaticamente dos demais óleos e compostos isolados. Para a maioria dos produtos não houve diferença na mortalidade entre as espécies, com exceção do óleo de eucalipto (*E. citriodora*) que a mortalidade foi superior para a espécie *S. rarum* (Tabela 1).

Tabela 1. Mortalidade corrigida (%) (\pm erro padrão) de *Heterorhabditis amazonensis* e *Steinernema rarum* submetidos à aplicação de óleos essenciais, fixos e compostos isolados em laboratório ($25 \pm 2^\circ\text{C}$, umidade relativa de $60 \pm 10\%$).

Tratamentos		<i>Heterorhabditis amazonensis</i>	<i>Steinernema rarum</i>
Nome científico	Nome comum		
D-limoneno	D-limoneno	62,50 \pm 5,00 Ac	63,89 \pm 3,5 Ab
Eugenol	Eugenol	100,00 \pm 0,00 Aa	100,00 \pm 0,00 Aa
<i>Ocimum basilicum</i>	Manjeriço doce	92,41 \pm 3,12 Aa	87,22 \pm 4,06 Aa
<i>Eucalyptus citriodora</i>	Eucalipto	67,86 \pm 3,24 Bc	86,11 \pm 3,44 Aa
<i>Zingiber officinale</i>	Gengibre	82,59 \pm 3,67 Ab	84,44 \pm 3,30 Aa
<i>Salvia sclarea</i>	Sávia	80,36 \pm 3,27 Ab	74,44 \pm 4,55 Aa
<i>Rosmarinus officinalis</i>	Alecrim	57,59 \pm 5,59 Ac	53,89 \pm 5,73 Ab
<i>Cymbopogon winterianus</i>	Citronela	69,65 \pm 4,03 Ac	57,78 \pm 6,37 Ab
<i>Azadirachta indica</i>	Neem	58,48 \pm 6,92 Ac	66,67 \pm 9,11 Ab
<i>Annona muricata</i>	Graviola	76,79 \pm 4,69 Ab	63,33 \pm 4,98 Ab
F interação		23,54	
p-valor		<0,001	

*Médias seguidas pela mesma letra minúscula na coluna e maiúscula na linha não diferem entre si pelo teste de Scott-Knott a 5% de significância.

3.3.2 Mobilidade de nematoides entomopatogênicos submetidos à aplicação de óleos e compostos isolados

A interação entre os fatores (tratamentos x tempo) foi significativa para a espécie *H. amazonensis* ($F = 5,69$; $p < 0,001$). No tempo 0, o menor número de batidas laterais corporais de *H. amazonensis* foi na presença do óleo de eucalipto, diferindo dos demais óleos e compostos isolados. No tempo 30 (30 minutos após), os menores valores de batidas do corpo foram observados para o composto isolado eugenol e para os óleos de manjerição (*O. basilicum*), eucalipto (*E. citriodora*) e alecrim (*R. officinalis*), diferindo dos demais tratamentos. Após 60 minutos, os menores valores de batidas laterais foram promovidos pelos mesmos óleos citados anteriormente para o tempo de 30 minutos (Tabela 2).

Analisando no decorrer do tempo, houve redução do número de batidas laterais de *H. amazonensis* para todos os óleos, compostos isolados e testemunha, com exceção do óleo de citronela (*C. winterianus*), que manteve o número de batidas, não apresentando diferença entre o tempo 0, 30 e 60 minutos (Tabela 2).

Tabela 2. Número médio de batidas corporais de *Heterorhabditis amazonensis* (\pm erro padrão) submetidos à aplicação de óleos essenciais, fixos e compostos isolados em três intervalos de tempo (0, 30 e 60 minutos), em laboratório (25 ± 2 °C, umidade relativa de $60 \pm 10\%$).

Tratamentos		Tempo (minutos)		
Nome científico	Nome comum	0	30	60
Testemunha	Testemunha	138,44 \pm 9,14 Aa	108,00 \pm 7,12 Ba	79,67 \pm 4,74 Ca
D-limoneno	D-limoneno	99,44 \pm 12,62 Ab	52,78 \pm 11,12 Bb	28,78 \pm 7,41 Cc
Eugenol	Eugenol	73,22 \pm 7,76 Ac	1,00 \pm 0,60 Bd	0,00 \pm 0,00 Bd
<i>Ocimum basilicum</i>	Manjeriçã	77,22 \pm 10,76 Ac	16,22 \pm 3,19 Bd	4,00 \pm 1,40 Bd
<i>Eucalyptus citriodora</i>	Eucalipto	45,11 \pm 7,63 Ad	5,22 \pm 1,94 Bd	0,56 \pm 0,10 Bd
<i>Zingiber officinale</i>	Gengibre	67,78 \pm 9,84 Ac	58,22 \pm 3,33 Ab	31,44 \pm 8,41 Bc
<i>Salvia sclarea</i>	Sávia	84,33 \pm 7,85 Ac	41,00 \pm 5,86 Bb	31,67 \pm 4,29 Bc
<i>Rosmarinus officinalis</i>	Alecrim	79,78 \pm 7,47 Ac	3,11 \pm 2,10 Bd	0,00 \pm 0,00 Bd
<i>Cymbopogon winterianus</i>	Citronela	77,11 \pm 9,62 Ac	65,22 \pm 9,07 Ab	77,67 \pm 5,61 Aa
<i>Azadirachta indica</i>	Neem	66,56 \pm 7,74 Ac	33,22 \pm 5,63 Bc	25,11 \pm 3,97 Bc
<i>Annona muricata</i>	Graviola	80,11 \pm 7,68 Ab	60,11 \pm 4,36 Bb	40,78 \pm 2,75 Cb
F interação			5,69	
p-valor			<0,001	

*Médias seguidas pela mesma letra minúscula na coluna e maiúscula na linha não diferem entre si pelo teste de Scott-Knott a 5% de significância.

Para *S. rarum*, a interação entre os fatores (tratamentos x tempo) foi significativa ($F = 10,12$; $p < 0,001$). No tempo 0, o menor número de batidas corporais foi observado na presença do óleo de eucalipto (*E. citriodora*) e salvia (*S. sclarea*). Semelhantemente ao observado para *H. amazonensis*, no tempo 30 e no tempo 60, o composto isolado eugenol e os óleos de manjeriçã (*O. basilicum*), eucalipto (*E. citriodora*) e alecrim (*R. officinalis*) resultaram em menores valores de batidas laterais de corpo de *S. rarum*. No tempo 60, o número de batidas laterais de *S. rarum* foi de 0,00 para eugenol, 1,44 para manjeriçã (*O. basilicum*), 5,78 para eucalipto (*E. citriodora*), e 0,00 para o óleo de alecrim (*R. officinalis*).

Analisando ao longo do tempo, observou-se redução no número de batidas laterais para todos os óleos, compostos isolados e para a testemunha,

com exceção do óleo de graviola (*A. muricata*) que não apresentou diferença estatística no decorrer do tempo (Tabela 3).

Tabela 3. Número médio de batidas corporais de *Steinernema rarum* (\pm erro padrão) submetidos à aplicação de óleos essenciais, fixos e compostos isolados em três intervalos de tempo (0, 30 e 60 minutos), em laboratório (25 ± 2 °C, umidade relativa de $60 \pm 10\%$).

Tratamentos		Tempo (minutos)		
Nome científico	Nome comum	0	30	60
Testemunha	Testemunha	127,78 \pm 10,16 Aa	108,44 \pm 7,34 Aa	79,67 \pm 4,74 Bb
D-limoneno	D-limoneno	127,00 \pm 16,67 Aa	59,11 \pm 11,69 Bb	40,44 \pm 6,00 Bc
Eugenol	Eugenol	119,22 \pm 11,52 Aa	0,56 \pm 0,44 Bd	0,00 \pm 0,00 Bd
<i>Ocimum basilicum</i>	Manjeriçã	101,44 \pm 10,57 Ab	9,22 \pm 4,01 Bd	1,44 \pm 0,34 Bd
<i>Eucalyptus citriodora</i>	Eucalipto	43,44 \pm 11,33 Ad	7,11 \pm 1,47 Bd	5,78 \pm 5,65 Bd
<i>Zingiber officinale</i>	Gengibre	98,33 \pm 10,85 Ab	90,33 \pm 8,31 Aa	26,67 \pm 7,82 Bc
<i>Salvia sclarea</i>	Sávia	53,67 \pm 10,10 Ad	69,33 \pm 6,93 Ab	26,00 \pm 4,48 Bc
<i>Rosmarinus officinalis</i>	Alecrim	73,33 \pm 5,51 Ac	1,89 \pm 7,78 Bd	0,00 \pm 0,00 Bd
<i>Cymbopogon winterianus</i>	Citronela	76,78 \pm 5,51 Ac	27,00 \pm 5,52 Bc	42,11 \pm 6,01 Bc
<i>Azadirachta indica</i>	Neem	95,33 \pm 3,09 Ab	27,67 \pm 3,09 Bc	20,33 \pm 4,37 Bc
<i>Annona muricata</i>	Graviola	124,33 \pm 8,53 Aa	112,33 \pm 9,43 Aa	120,00 \pm 6,43 Aa
F interação			10,12	
p-valor			<0,001	

*Médias seguidas pela mesma letra minúscula na coluna e maiúscula na linha não diferem entre si pelo teste de Scott-Knott a 5% de significância.

3.3.3 Infectividade de nematoides entomopatogênicos em larvas de *Spodoptera eridania* submetidos à aplicação de óleos essenciais, fixos e compostos isolados

O número de juvenis infectantes necessários para matar 80% das lagartas de 4^o instar de *S. eridania* foi de 400JI/inseto para de *H. amazonenses* e de 100 JI/inseto para *S. rarum*.

Tabela 4. Mortalidade de *Spodoptera eridania* pelos nematoides entomopatogênicos *Heterorhabditis amazonensis* e *Steinernema rarum* em diferentes concentrações.

Concentração	Mortalidade (%)	
	<i>Heterorhabditis amazonensis</i>	<i>Steinernema rarum</i>
0	0,0±0,0 a	0,0±0,0 a
25	0,0±0,0 a	60,0±4,5 ab
50	20,0±4,5 a	60,0±4,5 ab
100	20,0±4,5 a	80,0±14,1 b
150	20,0±4,5 a	80,0±14,1 b
200	20,0±4,5 a	80,0±14,1 b
300	60,0±10,1 ab	80,0±14,1 b
400	80,0±17,2 b	100,0±0,0 b
p-valor	<0,001	<0,001

Médias seguidas pela mesma letra não diferem entre si ao nível de 5% de probabilidade pelo teste de Tukey ($p < 0,05$).

A infectividade de *H. amazonensis* reduziu quando exposto aos óleos e compostos majoritários testados, com exceção do composto isolado d-limoneno e o óleo de graviola (*A. muricata*) que não diferiram estatisticamente da testemunha. Não houve infectividade de *H. amazonensis* quando exposto ao composto majoritário eugenol (0,0%) (Tabela 5).

Para *S. rarum*, o composto majoritário d-limoneno e o óleo de alecrim (*R. officinalis*) não diferiram da testemunha, indicando que a infectividade de *S. rarum* não foi reduzida. *S. rarum* não infectou *S. eridania* quando exposto ao composto majoritário eugenol e o óleo de citronela (*C. winterianus*) (Tabela 6).

- 1 **Tabela 5.** Infectividade de *Heterhabditis amazonensis* em *Spodoptera eridania* submetidos à aplicação de óleos essenciais, fixos e
 2 compostos majoritários em laboratório sob temperatura de 25 ± 2 °C e umidade de $60 \pm 10\%$.
 3

Óleos 1%	Testemunha	D-limoneno	Eugenol	Manjeriçã	Eucalipto	Gengibre	Salvia	Alecrim	Citronela	Nim	Graviola
D-limoneno	0.5000	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Eugenol	0.0000*	0.0000*	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Manjeriçã	0.0026*	0.0006*	0.0001*	-	-	-	-	-	-	-	-
Eucalipto	0.0026*	0.0026*	0.0006*	0.3209	-	-	-	-	-	-	-
Gengibre	0.0026*	0.0026*	0.0314	0.0314	0.0814	-	-	-	-	-	-
Sálvia	0.0026*	0.0006*	0.0006*	0.3209	0.5000	0.0814	-	-	-	-	-
Alecrim	0.0026*	0.0006*	0.0006*	0.3209	0.5000	0.0814	0.5000	-	-	-	-
Citronela	0.0026*	0.0026*	0.0314	0.0314	0.0814	0.5000	0.0814	0.0814	-	-	-
Nim	0.0026*	0.0026*	0.0314	0.0314	0.0814	0.5000	0.0814	0.0814	0.5000	-	-
Graviola	0.5000	0.5000	0.0000*	0.0006*	0.0006*	0.0026*	0.0026*	0.0026*	0.0026*	0.0026*	-
Mortalidade (%)	100,0	100,0	0,0	40,0	70,0	40,0	70,0	70,0	40,0	40,0	100,0
Kruskal-Wallis Qui-quadrado	43,61										
Graus de liberdade	10										
p-valor	> 0,01										

*alpha = 0.05. Rejeita Ho if $p \leq \alpha/2$ de acordo com o teste de Dunn

1 **Tabela 6.** Infectividade de *Steinernema rarum* em *Spodoptera eridania* submetidos à aplicação de óleos essenciais, fixos e
 2 compostos majoritários em laboratório sob temperatura de 25 ± 2 °C e umidade de $60 \pm 10\%$.

3

Óleos 1%	Testemunha	D-limoneno	Eugenol	Manjeriçã	Eucalipto	Gengibre	Salvia	Alecrim	Citronela	Nim	Graviola
D-limoneno	0.5000	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Eugenol	0.0000*	0.0000*	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Manjeriçã	0.0037*	0.0037*	0.0373	-	-	-	-	-	-	-	-
Eucalipto	0.0037*	0.0037*	0.0373	0.5000	-	-	-	-	-	-	-
Gengibre	0.0002*	0.0002*	0.1863	0.1863	0.1863	-	-	-	-	-	-
Sálvia	0.0002*	0.0002*	0.0037*	0.1863	0.1863	0.0373	-	-	-	-	-
Alecrim	0.0373	0.0373	0.0002*	0.0373	0.0373	0.0037*	0.1863	-	-	-	-
Citronela	0.0000*	0.0000*	0.5000	0.0373	0.0373	0.1863	0.0037*	0.0002*	-	-	-
Nim	0.0037*	0.0037*	0.0373	0.5000	0.5000	0.1863	0.1863	0.0373	0.0373	-	-
Graviola	0.0037*	0.0037*	0.0373	0.5000	0.5000	0.1863	0.1863	0.0373	0.0373	0.5000	-
Mortalidade (%)	100,0	100,0	0,0	40,0	40,0	20,0	60,0	80,0	20,0	40,0	60,0
Kruskal-Wallis Qui-quadrado	48,57										
Graus de liberdade	10										
p-valor	m> 0,01										

*alpha = 0.05. Rejeita Ho if $p \leq \alpha/2$ de acordo com o teste de Dunn

Na classificação da toxicidade em larvas de *S. eridania*, o composto majoritário d-limoneno foi considerado não tóxico para *H. amazonensis* e *S. rarum*. O óleo de graviola foi classificado como não tóxico para *H. amazonensis* e o óleo de alecrim como não tóxico para *S. rarum*. O composto isolado eugenol foi considerado tóxico par ambas as espécies de NEPs testadas (Tabela 7).

Tabela 7. Redução da infectividade (Red) de *Steinernema rarum* e *Heterorhabditis amazonensis* em larvas de *Spodoptera eridania* após o com óleos essenciais, fixos e compostos majoritários e classificação de toxicidade (CT), sob temperatura de 25 ± 2 °C e umidade de $60 \pm 10\%$.

Tratamentos		<i>Heterorhabditis amazonensis</i>		<i>Steinernema rarum</i>	
Nome científico	Nome comum	Red (%) ¹	CT ²	Red (%) ¹	CT ²
Testemunha	Testemunha	-	-	-	-
D-limoneno	D-limoneno	0,0	1	0,0	1
Eugenol	Eugenol	100,0	4	100,0	4
<i>Ocimum basilicum</i>	Manjeriçã	60,0	2	60,0	2
<i>Eucalyptus citriodora</i>	Eucalipto	30,0	2	60,0	2
<i>Zingiber officinale</i>	Gengibre	60,0	2	80,0	3
<i>Salvia sclarea</i>	Sávia	30,0	2	40,0	2
<i>Rosmarinus officinalis</i>	Alecrim	30,0	2	20,0	1
<i>Cymbopogon winterianus</i>	Citronela	60,0	2	80,0	3
<i>Azadirachta indica</i>	Neem	60,0	2	60,0	2
<i>Annona muricata</i>	Graviola	0,0	1	40,0	2

¹Redução da infectividade: Red (%) = $(1 - It/Ic) \times 100$. ²CT=Classificação toxicológica de acordo com IOBC: (1) não tóxicos (< 30%), (2) pouco tóxicos (30-79%), (3) moderadamente tóxicos (80-99%) e (4) tóxicos (>99%).

3.4 DISCUSSÃO

Os óleos essenciais, fixos e compostos isolados testados são tóxicos a *H. amazonensis* e *S. rarum*. Estudos relatam que óleos e compostos isolados matam nematoides parasitas de plantas (GUPTA; SHARMA; NAIK, 2011; CABONI et al., 2013). Muitos óleos essenciais são conhecidos pela atividade nematicida (NTALLI et al., 2011; GUPTA; SHARMA; NAIK, 2011; ELOH et al., 2019) e utilizados no manejo de diversas pragas agrícolas e florestais (MC DONNELL et al., 2016; SOUSA et al.,

2017; KLEIN et al., 2020). Verifica-se que os óleos não só matam nematoides parasitas de plantas (NPP), como também nematoides benéficos (NEPs). Portanto, atenção deve ser dada ao utilizar esses óleos como ferramenta no manejo integrado de pragas.

Manjerição doce (*O. basilicum*) e o composto isolado eugenol promoveram maiores mortalidades de *H. amazonensis* e os óleos de manjerição (*O. basilicum*), eucalipto (*E. citriodora*), gengibre (*Z. officinale*), salvia (*S. sclarea*) e o composto eugenol foram os mais tóxicos para *S. rarum*. O modo de ação dos óleos e compostos isolados em nematoides são pouco conhecidos e necessitam de mais estudos (BARUA et al., 2020). Mas de forma geral os óleos possuem compostos voláteis, que podem penetrar na cutícula dos nematoides por difusão, afetando o sistema nervoso, levando a morte dos nematoides. A cutícula dos nematoides é uma das principais estruturas que garante seu desenvolvimento e sobrevivência, sendo constituída principalmente por lipídios, considerados como compostos orgânicos insolúveis em água e solúveis em solventes como óleo (BIRD; BIRD, 1991; STADLER; BUTELER, 2009). Além disso, a ausência da quitina em nematoides facilita a penetração dos óleos (NEGRISOLI JUNIOR et al., 2010). Portanto, a mortalidade de nematoides pelos óleos provavelmente ocorre pela propriedade lipofílica existentes nos óleos. De forma geral, os óleos possuem uma afinidade com a superfície corporal de ácaros e insetos. Quando penetram na cutícula desses organismos, dissolvem os lipídios (STADLER; BUTELER; 2009; TAVERNER et al., 1999), o que provavelmente ocorre com os NEPs.

Os óleos e compostos isolados testados tem efeito no movimento lateral de nematoides (número de batidas), refletindo na locomoção destes. A redução do número de batidas laterais do corpo do nematoide pode ou não ser paralisada na presença dos óleos e pode variar com o passar do tempo. Na presença de condições adversas, os NEPs podem ainda apresentar comportamento quiescente, também conhecido como criptobiose, em que reduzem sua atividade metabólica (COOPER; VAN GUNDY, 1971). A compatibilidade de NEPs a produtos em geral, varia de acordo com características da espécie de NEP e da cepa, influenciada pela temperatura e pelo tempo de exposição (LAZNIK et al. 2012; LAZNIK; TRDAN, 2014; LAZNIK; TRDAN, 2017).

Na infectividade dos NEPs em *S. eridania*, o composto isolado eugenol foi tóxico para os NEPs zerando a infectividade de *S. rarum* e *H. amazonensis*,

possivelmente pela mortalidade dos juvenis infectantes (JI). É considerado um composto fenólico volátil, relatado com propriedades inseticidas, fungicidas e bactericidas (OYEDEMI et al. 2009; LISKA et al. 2010; KAMATOU et al. 2012; CARRASCO et al. 2012; DA SILVA et al., 2018). Além disso, esse composto pode matar ou inibir o desenvolvimento de nematoides parasitas de plantas, reduzindo número de galhas e massa de ovos em raízes de plantas (MOREIRA et al., 2013; NASIOU; GIANNAKOU, 2020). Esse composto pode afetar a embriogênese dos nematoides ou matar os juvenis de segundo estágio (TSAO; YU 2000, PARK et al. 2007). Mesmo diante da efetividade do eugenol no manejo de pragas (COITINHO et al., 2010), doenças (FERREIRA et al., 2020) e nematoides (MOREIRA et al., 2013), verifica-se nesse trabalho a ação tóxica desse composto sobre organismos não alvo.

Dos óleos e compostos isolados testados, apenas o composto d-limoneno foi classificado como não tóxico para ambas as espécies de NEPs, enquanto o óleo de graviola não tóxico para *H. amazonensis* e alecrim para *S. rorum*. Óleo de laranja, cujo composto majoritário é o d-limoneno apresentam toxicidade para nematoides parasitas de plantas (EI-GAYED et al., 2017; DOS SANTOS et al., 2017) e para diversos insetos praga (EMILIA et al., 2015; CAMPOLO et al., 2016; FENG et al., 2020; BRITO et al., 2021). Nos últimos anos, o limoneno vem ganhando destaque nas formulações de inseticidas botânicos (ISMAN, 2020), juntamente com o óleo de neem foram os óleos mais utilizados como bioinseticida no estado da Califórnia, EUA (Chaaban et al., 2018). Portanto, os resultados obtidos são indicativos de que tanto o óleo de neem quanto o d-limoneno possuem potencial como inseticidas botânicos. Os óleos de graviola e alecrim são ainda pouco explorados no manejo de pragas e doenças. Diante da seletividade atribuída a esses óleos, destacam-se como potencial na composição de inseticidas botânicos.

3.5 CONCLUSÃO

Os resultados obtidos nesse estudo podem ser úteis para a escolha de óleos e compostos isolados com potencial uso em programas de manejo integrado de pragas. Todos os óleos testados, matam *H. amazonensis* e *S. rorum*. Porém, na infectividade de JI, o composto majoritário d-limoneno foi considerado não tóxico para *H. amazonensis* e *S. rorum*, óleo de graviola como não tóxico para *H. amazonensis* e óleo de alecrim como não tóxico para *S. rorum*, pela classificação toxicológica da

IOBC. O composto isolado eugenol foi considerado tóxico para os NEPs, não adequado a ser utilizado no MIP, pois afeta negativamente a sobrevivência, comportamento e infecção de nematoides benéficos. Diante do potencial dos NEPs, e de outros organismos no controle biológico de pragas, é recomendável verificar a seletividade dos óleos sobre tais organismos, a fim de detectar quais óleos são incompatíveis com os organismos benéficos e não poderão ser recomendados no manejo integrado de pragas.

3.6 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABBOTT, W. S. A method of computing the effectiveness of an insecticide. **Journal Economic Entomology**, v.18, n.2, p.265-267, 1925.

BARUA, A., MCDONALD-HOWARD, K. L., MC DONNELL, R. J., RAE, R., WILLIAMS, C. D. Toxicity of essential oils to slug parasitic and entomopathogenic nematodes. **Journal of Pest Science**, v. 93, n. 4, p. 1411-1419, 2020.

BATALLA-CARRERA, L.; MORTON, A.; GARCIA-DEL-PINO, F. Virulence of entomopathogenic nematodes and their symbiotic bacteria against the hazelnut weevil *Curculio nucum*. **Journal Applied Entomology**, v. 140, n.1, p. 115–123, 2016.

BIRD, A. F.; BIRD, J. **The structure of nematodes**, In: The Epidermis. Academic Press, 2ed, 301p., 1991.

CABONI, P.; SABA, M.; TOCCO, G.; CASU, L.; MURGIA, A.; MAXIA, A.; MENKISSOGLU-SPIROUDI, U.; NTALLI, N. Nematicidal activity of mint aqueous extracts against the root-knot nematode *Meloidogyne incognita*. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 61, n. 1, p. 9784–9788, 2013.

CAMPOLO, O.; ROMEU, FV; ALGERI, GM; LAUDANI, F.; MALACRINÒ, A.; TIMPANARO, N.; PALMERI, V. Efeitos larvicidas de quatro óleos essenciais de cascas de frutas cítricas contra o vetor arbovírus *Aedes albopictus* (Diptera: Culicidae). **Journal of Economic Entomology**, v. 109, p. 360-365, 2016.

CARRASCO, H.; RAIMONDI, M.; SVETAZ, L.; LIBERTO, M. D.; RODRÍGUEZ, M. V.; ESPINOZA, L.; ZACCHINO, S. Antifungal activity of eugenol

analogues: influence of different substituents and studies on mechanism of action. **Molecules**, v. 17, n. 1, p. 1002-1024, 2012.

COITINHO, R. L. B. D. C.; OLIVEIRA, J. V. D.; GONDIM JÚNIOR, M. G. C.; & CÂMARA, C. A. G. D. Persistência de óleos essenciais em milho armazenado, submetido à infestação de gorgulho do milho. **Ciência Rural**, v. 40, n. 7, p. 1492-1496, 2010.

COOPER, A.F. J.; VAN GUNDY, S.D. Senescence, quiescence and cryptobiosis. **Plant Parasitic Nematodes**, v. 2, p. 297–318, 1971.

DA SILVA, F. F. M.; MONTE, F. J. Q.; DE LEMOS, T. L. G.; DO NASCIMENTO, P. G. G.; DE MEDEIROS COSTA, A. K.; DE PAIVA, L. M. M. Eugenol derivatives: synthesis, characterization, and evaluation of antibacterial and antioxidant activities. **Chemistry Central Journal**, v. 12, n. 1, p. 1-9, 2018.

DAMASCENA, A. P.; CARVALHO, V. R.; RIBEIRO, M. F.; HORTA, A. B.; CASTRO, B. M. C.; ZANUNCIO, A. J. V.; WILCKEN, C. F.; ZANUNCIO, J. C.; WILCKEN, S. R. S. *Steinernema diaprepesi* (Rhabditida: Steinernematidae) parasitizing *Gonipterus platensis* (Coleoptera: Curculionidae). **Royal Society Open Science**, v. 7, n. 1, p. 200282, 2020.

DAMASCENA, A. P.; FERREIRA, J. C. A.; COSTA, M. G. S.; DE ARAUJO JUNIOR, L. M.; WILCKEN, S. R. S. Hatching and mortality of *Meloidogyne enterolobii* under the interference of entomopathogenic nematodes in vitro. **Journal of Nematology**, v. 51, n. 1, p. 1-8, 2019.

DE LIMA SOUZA, J. R. C.; VILLANOVA, J. C. O.; DE SOUZA, T. D. S.; MAXIMINO, R. C.; MENINI, L. Vegetable fixed oils obtained from soursop agro-industrial waste: Extraction, characterization and preliminary evaluation of the functionality as pharmaceutical ingredients. **Environmental Technology & Innovation**, v. 21, p. 1-12, 2021.

DOS SANTOS, A. T. B.; JUNIOR, J. S. Z.; PARREIRA, L. A.; DE ABREU, K. M. P.; DE OLIVEIRA BERNARDES, C.; DE CARVALHO, J. R.; MENINI, L. Chemical identification and insecticidal effect of *Tephrosia vogelii* essential oil against *Cerosipha forbesi* in strawberry crop. **Crop Protection**, v. 139, p. 1-6, 2021.

DOS SANTOS, D. M.; JUNIOR, A. I.; BALDISERA, S. S.; LOPES, A. D.; DO VALLE, J. S.; GOMES, S. D. M. S. Utilização de óleo essencial de duas variedades de laranja na eclosão de *Meloidogyne javanica*. **Arquivos de Ciências Veterinárias e Zoologia**, v. 20, n. 3, p. 161-166, 2017

EI-GAYED, S. H.; EI-SAYED, A. M.; AI-GHONAIMY, A. M.; HPLC-UV fingerprint profile and bioactivity of *Citrus aurantium* var. delicious fruits: peel and seeds on certain plant-parasitic nematodes. **Journal of Medicinal Plants Research**, v. 11, n. 15, p. 284-295, 2017.

ELOH, K.; KPEGBA, K.; SASANELLI, N.; KOUMAGLO, H. K.; CABONI, P. Nematicidal activity of some essential plant oils from tropical West Africa. **Journal of Pesticide Science**, v. 66, n. 2, p. 131–141, 2019.

EMÍLIA, D.; MALLENT, M.; MENUT, C.; CHANDRE, F.; MARTIN, T. Resposta comportamental de *Bemisia tabaci* (Hemiptera: Aleyrodidae) a 20 extratos vegetais. **Journal of Economic Entomology**, v. 108, p. 1890-1901, 2015.

FENG, J.; WANG, R.; CHEN, Z.; ZHANG, S.; YUAN, S.; CAO, H.; JAFARI, SM; YANG, W. Otimização da formulação de nanoemulsões carregadas de D-limoneno como biopesticida natural e eficiente. **Aspectos Físicos e de Engenharia**, v. 596, 124746, 2020.

FERREIRA, C. F.; AOYAMA, E. M.; DE SOUZA, A. D.; FORTES, N. L. P.; FURLAN, M. R. Óleos essenciais e eugenol no controle in vitro de fungos fitopatogênicos de pós-colheita. **Revista Biociências**, v. 26, n. 2, p. 1-12, 2020.

GHABBARI, M.; GUARINO, S.; CALECA, V.; SAIANO, F.; SINACORI, M.; BASER, N.; MADIOUNI, J.; VERDE, G. Behavior-modifying and insecticidal effects of plant extracts on adults of *Ceratitis capitata* (Wiedemann) (Diptera Tephritidae). **Journal of Pest Science**, v. 91, n. 1, p. 907–917, 2018.

GREENE, G. L.; LEPPLA, N.C.; DICKERSON, W.A. Velvetbean caterpillar: a rearing procedure and artificial medium. **Journal Economic Entomology**, n. 69, p. 487-497, 1976.

GUPTA, A.; SHARMA, S.; NAIK, S. N. Biopesticidal value of selected essential oils against pathogenic fungus, termites, and nematodes. **International biodeterioration & biodegradation**, v. 65, n. 5, p. 703-707, 2011.

HORTA, A. B.; DAMASCENA, A. P.; CARVALHO, V. R.; RIBEIRO, M. F.; CASTRO, B.; WILCKEN, C. F.; WILCKEN, S. R. *Steinernema diaprepesi* Nguyen & Duncan (Rhabditida: Steinernematidae), a new entomopathogenic nematode from Brazil. **Anais da Academia Brasileira de Ciências**, v. 93, n. 4, p. 1-6, 2021.

ISMAN, MB Desenvolvimento comercial de óleos essenciais vegetais e seus constituintes como ingredientes ativos em bioinseticidas. **Phytochemistry Reviews**, v. 19, p. 235-241, 2020.

KAMATOU, G. P.; VERMAAK, I.; VILJOEN, A. M. Eugenol: from the remote Maluku Islands to the international market place: a review of a remarkable and versatile molecule. **Molecules**, v. 17, n. 6, p. 6953-6981, 2012.

KLEIN, M. L.; CHASTAIN, T. G.; GARBACIK, C. J.; QIAN, Y. P. L. MC DONNELL, R. J. Acute toxicity of essential oils to the pest slug *Deroceras reticulatum* in laboratory and greenhouse bioassays. **Journal of Pesticide Science**, v. 93, n. 1, p. 415–425, 2020.

LAZNIK, Ž., TRDAN, S. The influence of herbicides on the viability of entomopathogenic nematodes (Rhabditida: Steinernematidae and Heterorhabditidae). **International Journal of Pest Management**, v. 63, n. 2, p. 105–111, 2017.

LAZNIK, Ž., TRDAN, S. The influence of insecticides on the viability of entomopathogenic nematodes (Rhabditida: Steinernematidae and Heterorhabditidae) under laboratory conditions. **Pest Management Science**, v. 70, n. 5, p. 784–789, 2014.

LAZNIK, Z., VIDRIH, M., TRDAN, S. The effects of different fungicides on the viability of entomopathogenic nematodes *Steinernema feltiae* (filipjev), s. *Carpocapsae weiser*, and *Heterorhabditis downesi* stock, grifn & burnell (nematoda: Rhabditida) under laboratory conditions. **Chilean Journal Agricultural Research**, v. 72, n. 1, p. 62-67, 2012.

LISKA, A.; ROZMAN, V.; KALINOVIC, I.; IVECIC, M.; BALICEVIC, R. Contact and fumigant activity of 1,8-cineole, eugenol and camphor against *Tribolium castaneum* (Herbst). **Julius-Kühn-Archiv**, v. 425, n. 1, p. 716-720, 2010.

MC DONNELL, R.; YOO, J.; PATEL, K.; RIOS, L.; HOLLINGSWORTH, R.; MILLAR, J.; PAINE, T. Can essential oils be used as novel drench treatments for the eggs and juveniles of the pest snail *Cornu aspersum* in potted plants? **Journal of Pesticide Science**, v. 89, n. 1, p. 549–555, 2016.

MOREIRA, L. C. B.; VIEIRA, B. S.; MOTA JÚNIOR, C. V. D.; LOPES, E. A.; CANEDO, E. J. Nematicidal effect of eugenol on tomato plants. **Pesquisa Agropecuária Tropical**, v. 43, n. 3, p. 286-291, 2013.

NASIOU, E.; GIANNAKOU, I. O. potencial do eugenol como agente nematicida contra *Meloidogyne javanica* (Treub) Chitwood. **Jornal de Nematologia**, v. 52, n. 1, p. 1-10, 2020.

NEGRISOLI Jr, A. S., GARCIA, M. S.; NEGRISOLI, C. R. B. Compatibility of entomopathogenic nematodes (Nematoda: Rhabditida) with registered insecticides for *Spodoptera frugiperda* (Smith, 1797) (Lepidoptera: Noctuidae) under laboratory conditions. **Crop Protection**, v. 29, n.6, p. 545-549, 2010.

NEGRISOLI JUNIOR, A. S.; GARCIA, M. S.; NEGRISOLI, C. R. B. Compatibility of entomopathogenic nematodes (Nematoda: Rhabditida) with registered insecticides for *Spodoptera frugiperda* (Smith, 1797) (Lepidoptera: Noctuidae) under laboratory conditions. **Crop Protection**, v. 29, n. 6, p. 545-549, 2010.

NTALLI, N. G.; FERRARI, F.; GIANNAKOU, I.; MENKISSOGLU-SPIROUDI, U. Synergistic and antagonistic interactions of terpenes against *Meloidogyne incognita* and the nematicidal activity of essential oils from seven plants indigenous to Greece. **Pest Management Science**, v. 67, n. 1, p. 341–351, 2011.

OYEDEMI, S. O.; OKOH, A. I.; MABINYA, L. V.; PIROCHENVA, G.; AFOLAYAN, A. J. The proposed mechanism of bactericidal action of eugenol, α -terpineol and γ -terpinene against *Listeria monocytogenes*, *Streptococcus pyogenes*, *Proteus vulgaris* and *Escherichia coli*. **African Journal of Biotechnology**, v. 8, n. 7, p. 1280-1286, 2009.

ÖZDEMİR, E., İNAK, E., EVLİCE, E., LAZNIK, Z. Compatibility of entomopathogenic nematodes with pesticides registered in vegetable crops under laboratory conditions. **Journal of Plant Diseases and Protection**, v. 127, p. 529-535, 2020.

PARK, I. K.; KIM, J.; LEE, S. G.; SHIN, S. C. Nematicidal activity of plant essential oils and components from ajowan (*Trachyspermum ammi*), allspice (*Pimenta dioica*) and litsea (*Litsea cubeba*) essential oils against pine wood nematode (*Bursaphelenchus Xylophilus*). **Journal of Nematology**, v. 39, n. 3, p. 275-279, 2007.

PAVELA, R. Essential oils from *Foeniculum vulgare* Miller as a safe environmental insecticide against the aphid *Myzus persicae* Sulzer. **Environmental science and pollution research**, v. 25, n. 11, p. 10904-10910, 2018.

PETERS, A.; POULLOT, D. Side effects of surfactants and pesticides on entomopathogenic nematodes assessed using advanced IOBC guidelines. **IOBC/WPRS Bulletin**, v. 27, n. 6, p. 67-72, 2004.

R DEVELOPMENT CORE TEAM. R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing: Vienna. 2019. Disponível em: < <https://www.R-project.org/> >. Acesso em: 05 out. 2021.

RAE, R.; VERDUN, C.; GREWAL, P. S.; ROBERTSON, J. F.; WILSON, M. J. Biological control of terrestrial molluscs using *Phasmarhabditis hermaphrodita*—progress and prospects. **Pest Management Science**, v. 63, n. 1, p. 1153–1164, 2007.

SIQUIEROLI, A. C. S.; ANDALÓ, V.; DUARTE, J. G.; SOUSA, R. M. F. D.; FELISBINO, J. K. R. P.; SILVA, G. C. D. Formulação de inseticida botânico com óleo de nim e D-limoneno para controle da broca-do-café. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 56, p. 1-9, 2021.

SLEIGH, J. N. Functional analysis of nematode nicotinic receptors. **Bioscience Horizons**, v. 3, n. 1, p. 29-39, 2010.

SOUSA, R. M. O. F.; ROSA, J. S.; CUNHA, A. C.; FERNANDES-FERREIRA, M. Molluscicidal activity of four apiaceae essential oils against the freshwater snail *Radix peregra*. **Journal of Pesticide Science**, v. 90, n. 3, p. 971–984, 2017.

SOUZA, A. C. de; VIEIRA, G. H. C.; NEVES, L. M. Uso de óleos essenciais no controle do *Colletotrichum gloeosporioides* causador da antracnose no caju. **Enciclopédia Biosfera**, v. 16, n. 29, p. 1709-1715, 2019.

STADLER, T.; BUTELER, M. Modes of entry of petroleum distilled spray-oils into insects: a review. **Bulletin of Insectology**, v. 62, n. 2, p.169–177, 2009.

STADLER, T.; BUTELER, M. Modes of entry of petroleum distilled spray-oils into insects: a review. **Bulletin of insectology**, v. 62, n. 2, p. 169–177, 2009.

TAVERNER, P.; BAILEY, P.; HODGKINSON, M.; BEATTIE, G. A. C. Post-harvest disinfestation of lightbrown apple moth, *Epiphyas postvittana* Walker (Lepidoptera: Tortricidae), with an alkane. **Journal of Pesticide Science**, v. 55, n. 1, p. 1159–1166, 1999.

TSAO, R.; YU, Q. Nematicidal activity of monoterpenoid compounds against economically important nematodes in agriculture. **Journal of Essential Oil Research**, Messina, v. 12, n. 3, p. 350-354, 2000.

WHITE, G.F. A method for obtaining infective nematode larvae from cultures, **Science**, v. 66, p. 302-303, 1927.

ZAMPERLINI, B.; ZANUNCIO, J.C.; LEITE, J.E.M.; BRAGANÇA, M.A.L. Influência da alimentação de *Tenebrio molitor* L. 1758 (Coleoptera: Tenebrionidae) no desenvolvimento ninfal de *Podisus connexivus* Bergroth, 1891 (Hemiptera: Pentatomidae). **Revista Árvore**, v. 16, p. 224-203, 1992.

4 CAPÍTULO IV

Seletividade de óleos essenciais, fixos e compostos isolados a *Trichogramma pretiosum* Riley, 1879 (Hymenoptera: Trichogrammatidae)

RESUMO

A utilização de óleos essenciais, fixos e compostos isolados tem sido considerado eficiente no manejo de pragas. O objetivo desse trabalho foi avaliar os efeitos de seis óleos essenciais, dois fixos e dois compostos isolados sobre os parâmetros biológicos e reprodutivos em duas gerações de *Trichogramma pretiosum*. Dois bioensaios foram executados: (1) ação dos óleos e compostos isolados sobre o parasitismo de *T. pretiosum* e, (2) ação de óleos e compostos isolados sobre *T. pretiosum* em diferentes fases de desenvolvimento (ovo, larva e pupa). Verificou-se que todos os óleos e compostos isolados testados afetam algum parâmetro biológico de *T. pretiosum*. Entretanto, na ação de óleos e compostos isolados sobre o parasitismo de fêmeas de *T. pretiosum*, os ovos de *Anagasta kuehniella* tratados com o composto isolado eugenol e os óleos de *Ocimum basilicum*, *Eucalyptus citriodora*, *Zingiber officinale*, *Salvia sclarea*, *Rosmarinus officinalis* e *Cymbopogon winterianus* não foram parasitados e conseqüentemente não houve emergência de indivíduos do parasitoide nesses tratamentos. Na ação de óleos e compostos isolados em diferentes fases de desenvolvimento de *T. pretiosum*, verificou-se que todos os óleos interferem na emergência do parasitoide em alguma fase de desenvolvimento, com destaque para d-limoneno, eugenol, *E. citriodora*, *Z. officinale*, *S. sclarea* e *C. winterianus*. Portanto, a utilização de óleos e compostos majoritários em programas de manejo integrado de pragas podem afetar a eficiência e sobrevivência do parasitoide de ovos *T. pretiosum*.

Palavras-chave: Produtos naturais. Parasitoides. Desempenho reprodutivo. Parâmetros biológicos.

Selectivity of essential oils, fixed and isolated compounds to *Trichogramma pretiosum* Riley, 1879 (Hymenoptera: Trichogrammatidae)

ABSTRACT

The use of essential oils, fixed and isolated compounds, has been considered efficient in pest management. The objective of this work was to evaluate the effects of six essential oils, two fixed and two isolated compounds on biological and reproductive parameters in two generations of *Trichogramma pretiosum*. Two bioassays were carried out: (1) action of oils and isolated compounds on the parasitism of *T. pretiosum* females, and (2) action of oils and isolated compounds on *T. pretiosum* in different stages of development (egg, larva and pupa). It was found that all tested oils and isolated compounds affect some biological parameter of *T. pretiosum*. However, the action of isolated oils and compounds on the parasitism of *T. pretiosum* females, *Anagasta kuehniella* eggs treated with the isolated compound eugenol and oils from *Ocimum basilicum*, *Eucalyptus citriodora*, *Zingiber officinale*, *Salvia sclarea*, *Rosmarinus officinalis* and *Cymbopogon winterianus* were not parasitized and consequently there was no emergence of parasitoid individuals in these treatments. In the action of oils and isolated compounds in different stages of development of *T. pretiosum*, it was verified that all oils interfere with the emergence of the parasitoid at some stage of development, with emphasis on d-limonene, eugenol, *E. citriodora*, *Z. officinale*, *S. sclarea* and *C. winterianus*. Therefore, the use of oils and major compounds in integrated pest management programs may affect the efficiency and survival of the egg parasitoid *T. pretiosum*.

Keywords: Natural products. Parasitoids. Reproductive performance. Biological parameters.

4.1 INTRODUÇÃO

O gênero *Trichogramma* (Hymenoptera: Trichogrammatidae) é composto por parasitoides de ovos de pragas agrícolas e florestais, preferencialmente da ordem Lepidoptera, impedindo que os hospedeiros atinjam o estágio larval e danifiquem plantas (WANG et al., 2014). A facilidade de multiplicação de *Trichogramma* e ampla distribuição geográfica, tornaram esses agentes como destaque em programas de controle biológico no mundo (KHAN et al., 2015).

Trichogramma pretiosum Riley, 1879 (Hymenoptera: Trichogrammatidae) é amplamente distribuído e encontra-se disponível comercialmente para liberação em vários sistemas de cultivo. Porém, em função do tipo de cultura e da população da praga, apenas liberações do parasitoide pode não ser suficiente para o manejo das pragas. Portanto, a associação com outros métodos de manejo é recomendada e necessária, incluindo aplicações de agrotóxicos (KHAN et al., 2015). No entanto, deve-se levar em consideração que alguns pesticidas têm efeitos colaterais adversos sobre os inimigos naturais, principalmente os de amplo espectro (PREETHA et al., 2010; PLATA-RUEDA et al., 2017).

A incompatibilidade para a integração de agrotóxicos e inimigos naturais em programas de manejo integrado de pragas (MIP), torna-se um problema quando os produtos utilizados não são seletivos aos inimigos naturais. Para isso, torna-se necessário estudos para verificar quais produtos proporcionam menor impacto sobre os agentes de controle biológico (KHAN et al., 2015; MKENDA et al., 2015; CRUZ et al., 2017). Determinar os impactos dos agrotóxicos sobre os agentes de biocontrole é importante para a integração efetiva de ambas as estratégias (GONZÁLEZ ARMIJOS et al., 2013; CAMPOS et al., 2016).

Uma das ferramentas para a associação com agentes de controle biológico é o uso de óleos e compostos isolados de extratos botânicos, os quais apresentam diferentes atividades biológicas, como inseticidas e antimicrobianos, apresentando-se como potencial para composição de bioinseticidas, uma vez que podem retardar o desenvolvimento de resistência em artrópodes pragas (GERWICK, SPARKS, 2014; MIRESMAILLI, ISMAN 2014; LUIZ et al., 2017). Porém, existem bioinseticidas que são inespecíficos e tóxicos para os inimigos naturais, tornando necessário a avaliação de seu uso em programas de MIP (NDAKIDEMI et al., 2016)

Muitos estudos avaliam o potencial de óleos e compostos isolados no manejo de pragas, mas poucos avaliam os efeitos colaterais sobre os inimigos naturais. O objetivo desse trabalho foi avaliar o efeito de seis óleos essenciais, dois óleos fixos e dois compostos isolados sobre os parâmetros biológicos e reprodutivos de *T. pretiosum*.

4.2 MATERIAL E MÉTODOS

Os experimentos e criação de insetos foram realizados no Núcleo de Desenvolvimento Científico e Tecnológico em Manejo Fitossanitário de Pragas e Doenças (NUDEMAFI), localizado no Centro de Ciências Agrárias e Engenharias da Universidade Federal do Espírito Santo (CCAUE-UFES).

4.2.1 Obtenção multiplicação de *Trichogramma pretiosum*

A linhagem comercial utilizada foi *T. pretiosum* (Pretiobug) da empresa *Koppert Biological Systems*. Para multiplicação do parasitoide, foram utilizados ovos do hospedeiro alternativo *Anagasta kuehniella* (Zeller, 1879) (Lepidoptera: Pyralidae), inviabilizados em lâmpada germicida e fixados com goma arábica (30%) em cartolina azul (8,0 x 2,5 cm). Essas cartelas foram transferidas para tubos de vidro de fundo chato (8,5 x 2,5 cm), contendo adultos recém-emergidos do parasitoide. Posteriormente os tubos foram vedados com filme plástico do tipo policloreto de vinila (PVC) e mantidos em câmaras climatizadas (B.O.D.) por 25 ± 2 °C, umidade relativa de $70 \pm 10\%$ e fotoperíodo de 12 h por 24 h (PRATISSOLI et al., 2010).

4.2.2 Multiplicação do hospedeiro alternativo *Anagasta kuehniella*

A metodologia empregada na criação do hospedeiro alternativo *A. kuehniella* foi a desenvolvida por Parra et al. (1997), utilizando uma dieta à base de farinha de trigo integral (97%) e levedura de cerveja (3%) para alimentação das lagartas, mantidas em bandejas plásticas de 39,3 x 59,5 x 7,0cm

4.2.3 Obtenção dos óleos e compostos isolados

Os óleos comerciais e produtos isolados foram adquiridos de fonte comercial e não sofreram nenhum tratamento prévio. Os óleos essenciais e compostos isolados utilizados foram: óleo essencial de eucalipto (*Eucalyptus citriodora*, Ferquima lote 114), óleo essencial de alecrim (*Rosmarinus officinalis* - Destilaria Bauru lote DBKT-ALIP1218/312), óleo essencial de sálvia (*Salvia sclarea* - Ferquima lote 227), óleo essencial de manjeriço doce (*Ocimum basilicum* - Terraflor lote 20027), óleo essencial de citronela (*Cymbopogon winterianus* - Ferquima, lote 158), eugenol (composto isolado - Maquira indústria de produtos odontológicos) e d-limoneno (composto isolado - Fraction Químicos Fracionados, lote 190715/01).

O óleo de gengibre (*Zingiber officinale* Roscoe) foi obtido por hidrodestilação da raiz “in natura”, seguindo a metodologia proposta por dos Santos et al. (2021) e o óleo de graviola (*Annona muricata* Linn), foi obtido pela extração via extrusão (DE LIMA SOUZA et al., 2021).

4.2.4 Toxicidade de óleos e compostos isolados sobre o parasitismo de *Trichogramma pretiosum*

Fêmeas recém-emergidas de *T. pretiosum* da criação estoque do laboratório NUDEMAFI foram individualizadas em tubos de vidro (8 cm de altura x 2 cm de diâmetro) contendo uma gotícula de mel na parede interna e fechadas com filme PVC. Ovos de *A. kuehniella* com até 24 h de idade foram colados em tiras de papel cartão azul (0,2 cm de comprimento x 0,2 cm de largura) utilizando goma arábica diluída em água destilada (50:50 v/v). Essas cartelas foram imersas por cinco segundos em soluções de óleos e compostos isolados e colocados em papel toalha por 30 min para evaporação do solvente. Os óleos essenciais, fixos e compostos isolados foram diluídos a 1% (v/v) com Tween® 80 PS a 0,05% (v/v) e água destilada, seguindo a metodologia de Barua et al. (2020). Como testemunha (controle negativo) foi utilizada água e Tween® 80 PS a 0,05% (v/v). Os ovos tratados foram expostos a fêmeas individualizadas de *T. pretiosum* por 24 h.

Fêmeas recém-emergidas desta geração de ovos tratados (F1), foram individualizadas em tubos de vidro com gotículas de mel na parede interna e expostas a ovos de *A. kuehniella* por 24 h. Após esse período, essas fêmeas foram mantidas

dentro dos tubos e as tiras de papel, com os ovos, transferidas para novos tubos e mantidos em B.O.D ($25 \pm 2^\circ \text{C}$, umidade relativa de $70 \pm 10\%$ e fotoperíodo de 12 h) até a geração F2. O delineamento experimental foi inteiramente casualizado com 12 repetições por tratamento. Foram avaliados os seguintes parâmetros: parasitismo (%) e longevidade (dias) para as gerações parentais, 1ª geração (F1) e 2ª geração (F2), período ovo-adulto (dias), emergência (%) (ovos do hospedeiro com orifício de saída/ovos totais x100) e razão sexual (RS = fêmeas emergidas / total de parasitoides emergidos). A longevidade foi determinada verificando diariamente se as fêmeas estavam vivas ou mortas.

As taxas de redução do parasitismo e emergência de cada tratamento também foram expressas em porcentagem em relação ao controle não tratado. A toxicidade dos óleos e compostos isolados foram classificadas com base nas classes tóxicas (CT) (I = inócuo, II = levemente prejudicial, III = moderadamente prejudicial e IV = prejudicial) de acordo com a redução na emergência ou parasitismo das gerações F1 e F2 de *T. pretiosum*, sendo <30% (CT I), entre 31– 79% (CT II), entre 80–99% (CT III) e >99% (CT IV), respectivamente. Este protocolo foi proposto pela Organização Internacional para o Controle Biológico e Integrado-IOBC (STERK et al., 1999). As taxas de redução do percentual de parasitismo e emergência foram calculadas (% de redução de parasitismo/emergência) = $100 - [(\% \text{ média do tratamento} / \% \text{ média do controle}) \times 100]$. As médias foram comparadas pelo Teste de Scott-Knott a 5% de probabilidade.

4.2.5 Toxicidade de óleos e compostos isolados sobre *Trichogramma pretiosum* em diferentes fases de desenvolvimento

Para verificar a toxicidade dos óleos e compostos, 36 fêmeas de *T. pretiosum* por tratamento com até 24 horas de idade, foram individualizadas em tubos de vidro (8 cm x 2,5 cm) e alimentadas com mel por meio de uma gotícula depositada na parede interna dos tubos e fechados com filme de PVC. Cerca de 125 ovos de *A. kuehniella* colados em cartelas de cartolina azul (8 cm x 0,5 cm), com goma arábica diluída a 50:50 v/v em água destilada, inviabilizados sob lâmpada germicida, foram ofertados às fêmeas do parasitoide por um período de 24 horas. Decorrido esse período, essas fêmeas foram descartadas e as cartelas mantidas em B.O.D ($25 \pm 1^\circ \text{C}$, UR de $70 \pm 10\%$ e fotofase de 12 horas), até os parasitoides atingirem seus respectivos

estágios de desenvolvimento: ovo (0-24 horas), larva (72-96 horas) e pupa (168-192 horas).

Os óleos essenciais, fixos e compostos isolados foram diluídos a 1% (v/v) com Tween® 80 PS a 0,05% (v/v) e água destilada, seguindo a metodologia de Barua et al. (2020). Como testemunha (controle negativo) foi utilizado água e Tween® 80 PS a 0,05% (v/v). Em cada tratamento, 12 cartelas, de cada fase de desenvolvimento (ovo, larva e pupa), foram imersas por cinco segundos em cada solução, sendo imediatamente dispostos em papel toalha por 30 min para evaporar o solvente. Posteriormente, as cartelas foram colocadas em novos tubos de vidro e mantidos em ambiente controlado nas mesmas condições descritas anteriormente. Cada tratamento foi composto por doze repetições, para cada fase de desenvolvimento.

Os efeitos dos óleos e compostos isolados sobre os parasitoides foram avaliados em função do parasitismo (%), longevidade de fêmeas (dias), período ovo-adulto (dias), emergência (%) e razão sexual. Os óleos e compostos isolados foram classificados em categorias toxicológicas, conforme recomendações de membros da "IOBC" ("*International Organization for Biological and Integrated Control of Noxious Animals and Plants*").

4.3 RESULTADOS

4.3.1 Toxicidade de óleos e compostos isolados sobre o parasitismo de *Trichogramma pretiosum*

4.3.1.1 Longevidade das fêmeas e razão sexual da geração parental e geração F1

A longevidade das fêmeas da geração parental de *T. pretiosum* foi maior na testemunha que nos demais tratamentos. Na geração F1, a longevidade foi semelhante para o controle, d-limoneno, *A. muricata* e *A. indica* com 6.5, 3.6, 4.0 e 4.0 dias, respectivamente. Não houve progênie F1 e F2 com o composto isolado eugenol e os óleos de *O. basilicum*, *E. citriodora*, *Z. officinale*, *S. sclarea*, *R. officinalis* e *C. winterianus* (Tabela 1).

A razão sexual da geração F1 de *T. pretiosum* foi semelhante nos tratamentos, controle, d-limoneno, *A. muricata* e *A. indica*. Entretanto, na geração F2, *A. muricata*

e *A. indica* apresentaram menor razão sexual (Tabela 1).

Tabela 1. Longevidade em dias (Long.) de fêmeas de *Trichogramma pretiosum* Riley (Hymenoptera: Trichogrammatidae) na geração parental e F1 em ovos de *Anagasta kuehniella* Zeller (Lepidoptera: Pyralidae) tratadas com óleos e compostos isolados, e razão sexual (RS) nas gerações F1 e F2.

Tratamentos	Geração Parental		Geração F1	
	Long.	RS-F1	Long.	RS-F2
Controle	6,3±0,2 a	0,8±0,1 a	6,5±0,5 a	0,7±0,1 a
D-limoneno	4,2±0,2 b	0,7±0,1 a	3,6±0,3 a	0,6±0,1 a
Eugenol	2,2±0,1 c	-	-	-
<i>Ocimum basilicum</i>	1,0±0,0 c	-	-	-
<i>Eucalyptus citriodora</i>	3,6±0,2 b	-	-	-
<i>Zingiber officinale</i>	3,7±0,2 b	-	-	-
<i>Annona muricata</i>	2,5±0,1 c	0,5±0,1 a	4,0±0,3 a	0,0±0,0 b
<i>Salvia sclarea</i>	3,7±0,3 b	-	-	-
<i>Rosmarinus officinalis</i>	5,0±0,2 b	-	-	-
<i>Cymbopogon winterianus</i>	3,5±0,3 b	-	-	-
<i>Azadirachta indica</i>	3,4±0,2 b	0,7±0,1 a	4,0±0,3 a	0,1±0,0 b

Médias seguidas da mesma letra minúscula na coluna não difere pelo teste de Scott-Knott ($P < 0,05$).
± Erro padrão da média (n=12).

4.3.1.2 Parasitismo de fêmeas das gerações: parental, F1 e F2

Os ovos de *A. kuehniella* tratados com o composto isolado eugenol e os óleos de *O. basilicum*, *E. citriodora*, *Z. officinale*, *R. officinalis* e *C. winterianus* não foram parasitados por fêmeas de *T. pretiosum* sendo classificados como nocivos ao parasitoide na geração parental. Os óleos de *A. muricata* e *A. indica* receberam a classificação moderadamente nocivo (CT III, redução entre 80–99%) cujo parasitismo diferiu estatisticamente da testemunha. O parasitismo na geração F1, não diferiu entre os tratamentos, porém d-limoneno e *A. indica* foram classificados como levemente prejudicial (CT II). Na geração F2, d-limoneno, *A. muricata* e *A. indica* diferiram estatisticamente da testemunha, sendo que *A. muricata* foi classificada como nocivo a *T. pretiosum* (CT IV) (Tabela 2).

Tabela 2. Parasitismo (OP) de *Anagasta kuehniella* Zeller (Lepidoptera: Pyralidae) tratadas com óleos e compostos isolados, por fêmeas das gerações parental, F1 e F2 de *Trichogramma pretiosum* Riley (Hymenoptera: Trichogrammatidae), redução da taxa de parasitismo (P%) e classe tóxica (CT).

Tratamentos	Geração Parental			Geração F1			Geração F2		
	OP	P%	CT	OP	P%	CT	OP	P%	CT
Controle	16,7±4,8 a	-	-	16,9±1,9 a	-	-	18,4±3,6 a	-	-
D-limoneno	10,3±3,0 b	38,3	II	11,8±2,0 a	30,2	II	4,7±1,8 c	74,5	II
Eugenol	0,0±0,0 c	100,0	IV	-	-	-	-	-	-
<i>Ocimum basilicum</i>	0,0±0,0 c	100,0	IV	-	-	-	-	-	-
<i>Eucalyptus citriodora</i>	0,0±0,0 c	100,0	IV	-	-	-	-	-	-
<i>Zingiber officinale</i>	0,0±0,0 c	100,0	IV	-	-	-	-	-	-
<i>Annona muricata</i>	1,3±0,4 c	82,8	III	13,0±2,4 a	23,1	I	0,0±0,0 c	100,0	IV
<i>Salvia sclarea</i>	1,9±1,3 c	88,6	III	-	-	-	-	-	-
<i>Rosmarinus officinalis</i>	0,0±0,0 c	100,0	IV	-	-	-	-	-	-
<i>Cymbopogon winterianus</i>	0,0±0,0 c	100,0	IV	-	-	-	-	-	-
<i>Azadirachta indica</i>	10,1±3,9 b	39,5	II	5,4±0,0 a	68,0	II	13,0±0,0 b	29,3	I

Médias seguidas da mesma letra maiúscula por coluna não diferem pelo teste de Scott-Knott ($P < 0,05$). TC = classe tóxica (Sterk et al., 1999): I = inócua; II=levemente prejudicial; III=moderadamente nociva; IV = nociva. ± Erro padrão (n=12).

4.3.1.3 Emergência dos parasitoides nas gerações F1 e F2

Eugenol e os óleos de *O. basilicum*, *E. citriodora*, *Z. officinale*, *S. sclarea*, *R. officinalis*, *C. winterianus*, não permitiram emergência de indivíduos de *T. pretiosum* na geração F1. D-limoneno foi considerado como inócua (CT I) e *A. muricata*, *A. indica* receberam classificação II (moderadamente prejudicial). Dos tratamentos que permitiram o desenvolvimento da geração F2, apenas o óleo *A. indica* afetou a emergência de indivíduos nessa geração (CT II) (Tabela 3).

Tabela 3. Percentual de emergência de *Trichogramma pretiosum* Riley (Hymenoptera: Trichogrammatidae) em ovos de *Anagasta kuehniella* Zeller (Lepidoptera: Pyralidae), tratados com óleos e compostos isolados das gerações F1 e F2, redução da taxa de emergência (E%) e classe tóxica (CT).

Tratamentos	Geração F1			Geração F2		
	Emer.	E(%)	CT	Emer.	E(%)	CT
Controle	62,7±3,7 a	-	-	94,1±21,7 a	-	-
D-limoneno	52,7±6,8 a	15,9	I	76,7±21,4 a	18,5	I
Eugenol	-	-	-	-	-	-
<i>Ocimum basilicum</i>	-	-	-	-	-	-
<i>Eucalyptus citriodora</i>	-	-	-	-	-	-
<i>Zingiber officinale</i>	-	-	-	-	-	-
<i>Annona muricata</i>	18,1±2,8 b	71,1	II	82,5±15,0 a	12,3	I
<i>Salvia sclarea</i>	-	-	-	-	-	-
<i>Rosmarinus officinalis</i>	-	-	-	-	-	-
<i>Cymbopogon winterianus</i>	-	-	-	-	-	-
<i>Azadirachta indica</i>	34,0±9,8 b	45,8	II	43,1±18,4 b	54,2	II

Médias seguidas da mesma letra maiúscula por coluna não diferem pelo teste de Scott-Knott ($P < 0,05$). TC = classe tóxica (Sterk et al., 1999): I = inócuo; II=levemente prejudicial; III=moderadamente nocivo; IV = nocivo. ± Erro padrão (n=12).

4.3.2 Toxicidade de óleos e compostos isolados sobre *Trichogramma pretiosum* em diferentes fases de desenvolvimento

4.3.2.1 Emergência das gerações F1 e F2

O impacto na emergência de *T. pretiosum* diferiu entre os óleos e compostos isolados testados.

Na geração F1, na fase de ovo, eugenol, *E. citriodora*, *Z. officinale* e *C. winterianus*, foram classificados como classe tóxica IV, considerados como prejudiciais a esse agente de controle biológico. Nessa fase, esses óleos e o composto isolado testados não proporcionaram a emergência de nenhum indivíduo do parasitoide. Por terem sido considerados prejudiciais, nenhum registro foi feito para as fases de larva e pupa. Por outro lado, na fase de ovo, *O. canum*, *S. sclarea* e *R. officinalis*, apresentaram as maiores taxas de emergência, as quais foram semelhantes ao controle, sendo classificadas como CT I (inócuos). Já, d-limoneno, *A. muricata* e *A. indica*, diferiram estatisticamente do controle e foram classificados como levemente prejudiciais (CT II) (Tabela 4).

Dos produtos que proporcionaram desenvolvimento na fase de ovo, a emergência na fase de larva foi menor que no controle, sendo enquadrados nas classes levemente prejudicial (CT II) (*O. basilicum*, *S. sclarea* e *R. officinalis*) e CT III (*A. muricata* e *A. indica*). No entanto, d-limoneno, na fase de larva, não permitiu emergência do parasitoide. Na fase de pupa foram observadas emergências em *R. officinalis*, *A. indica*, *A. muricata* e *O. basilicum*. No primeiro foi observado uma emergência semelhante ao controle e classificado como inócuo (CT I); o segundo foi considerado levemente prejudicial (CT II); já o terceiro e quarto foi observado as menores taxas de emergência, classificando-os como moderadamente prejudiciais (CT III)

Tabela 4. Percentual de emergência e classe tóxica (CT) de diferentes estágios imaturos de F1 e F2 de *Trichogramma pretiosum* (Hymenoptera: Trichogrammatidae) em ovos de *Anagasta kuehniella* (Lepidoptera: Pyralidae).

Tratamentos	Geração F1					
	Ovo	CT	Larva	CT	Pupa	CT
Controle	93,2±13,2 a	-	66,3±11,7 a	-	68,3±2,8 a	-
D-limoneno	22,9±9,2 b	II	0,0±0,0 e	IV	0,0±0,0 c	IV
Eugenol	0,0±0,0 c	IV	0,0±0,0 e	IV	0,0±0,0 c	IV
<i>Ocimum basilicum</i>	67,2±12,3 a	I	16,8±7,6 c	II	6,7±2,0 b	III
<i>Eucalyptus citriodora</i>	0,0±0,0 c	IV	0,0±0,0 e	IV	0,0±0,0 c	IV
<i>Zingiber officinale</i>	0,0±0,0 c	IV	0,0±0,0 e	IV	0,0±0,0 c	IV
<i>Annona muricata</i>	23,5±7,2 b	II	8,0±4,2 d	III	20,1±5,1 b	III
<i>Salvia sclarea</i>	68,0±8,4 a	I	20,4±5,3 c	II	0,0±0,0 c	IV
<i>Rosmarinus officinalis</i>	66,1±4,6 a	I	35,7±5,3 b	II	49,1±8,3 a	I
<i>Cymbopogon winterianus</i>	0,0±0,0 c	IV	0,0±0,0 e	IV	0,0±0,0 c	IV
<i>Azadirachta indica</i>	19,4±11,3 b	II	25,0±10,3 c	III	16,7±0,7 b	II
p-valor	<0,05		<0,05		<0,05 <0,05	0.33733
Tratamentos	Geração F2					
	Ovo	CT	Larva	CT	Pupa	CT
Controle	62,7±3,7 a	-	94,7±9,9 a	-	77,8±0,0 a	-
D-limoneno	71,8±2,8 a	I	-	-	-	-
Eugenol	-	-	-	-	-	-
<i>Ocimum basilicum</i>	52,8±6,8 a	I	67,5±15,3 a	II	-	-
<i>Eucalyptus citriodora</i>	-	-	-	-	-	-
<i>Zingiber officinale</i>	-	-	-	-	-	-
<i>Annona muricata</i>	82,3±6,2 a	I	86,0±27,1 a	I	70,0±0,0 a	I
<i>Salvia sclarea</i>	54,9±11,6 a	I	55,2±6,1 a	II	-	-
<i>Rosmarinus officinalis</i>	69,4±2,4 a	I	52,6±8,7 a	II	67,7±20,6 a	I
<i>Cymbopogon winterianus</i>	-	-	-	-	-	-
<i>Azadirachta indica</i>	45,8±10,5 a	II	90,4±10,0 a	I	76,2±0,0 a	I
p-valor	0,3373		0,4961		0,5455	

Médias seguidas da mesma letra minúscula na coluna não diferem pelo teste de Student–Newman–Keuls ($p < 0,05$). Classe tóxica (Sterk et al. 1999): TC1 = inócuo; TC2 = levemente prejudicial; TC3 = moderadamente nocivo; TC4 = prejudicial. \pm Erro padrão (n = 12)

4.3.2.2 Longevidade das fêmeas de *Trichogramma pretiosum* na geração F1 e F2

Na geração F1, fêmeas provenientes dos tratamentos da fase de ovo, apresentaram uma longevidade que variou de 3,3 a 6,4 dias, porém não houve diferença estatística. Fêmeas provenientes dos tratamentos na fase de larva, tiveram uma longevidade entre 3,5 e 6,7 dias, também não diferindo do controle. No entanto, as fêmeas provenientes dos tratamentos na fase de pupa apresentaram uma maior

variação na longevidade, de 1,0 a 6,5 dias, sendo que no tratamento com d-limoneno, *O. basilicum* e *A. indica*, a taxa de longevidade foi estatisticamente inferior ao do controle e dos tratamentos com *A. muricata* e *R. officinalis* (Tabela 5).

Na geração F2, não houve diferença estatística entre os tratamentos, portanto, os óleos e compostos isolados testados não influenciaram na longevidade de *T. pretiosum* nessa geração.

Tabela 5. Longevidade (dias) de fêmeas de *Trichogramma pretiosum* (Hymenoptera: Trichogrammatidae) expostas a óleos e compostos isolados em diferentes estágios imaturos.

Tratamentos	Geração F1			Geração F2		
	Ovo	Larva	Pupa	Ovo	Larva	Pupa
Controle	5,9±1,0 a	5,5±0,9 a	5,0±0,9 a	6,3±1,7 a	5,3±1,7 a	4,0±0,0 a
D-limoneno	5,8±0,4 a	-	1,0±0,0 b	2,0±0,0 a	-	-
Eugenol	-	-	-	-	-	-
<i>Ocimum basilicum</i>	4,6±0,8 a	6,7±1,9 a	2,0±0,0 b	2,3±0,3 a	2,0±0,0 a	-
<i>Eucalyptus citriodora</i>	-	-	-	-	-	-
<i>Zingiber officinale</i>	-	-	-	-	-	-
<i>Annona muricata</i>	3,3±0,6 a	3,5±0,5 a	6,5±1,0 a	3,5±0,2 a	5,7±1,1 a	1,0±0,0 a
<i>Salvia sclarea</i>	6,4±0,6 a	4,8±0,7 a	-	3,3±0,7 a	4,7±0,2 a	-
<i>Rosmarinus officinalis</i>	5,4±0,5 a	4,9±0,8 a	5,6±0,6 a	1,7±0,3 a	2,3±0,3 a	1,7±0,3 a
<i>Cymbopogon winterianus</i>	-	-	-	-	-	-
<i>Azadirachta indica</i>	4,0±0,4 a	4,3±1,2 a	2,0±0,0 b	1,5±0,0 a	3,0±0,0 a	2,0±0,0 a
p-valor	0.71445	0.77252	0.03290	0.50141	0.57082	0.51078

Médias seguidas pela mesma letra minúscula na coluna diferem pelo teste de Student Newman-Keuls ($p < 0,05$). ± Erro padrão (n = 12).

4.3.2.3 Parasitismo de fêmeas das gerações F1 e F2

Na geração F1 as taxas de parasitismo não diferiram estatisticamente entre os tratamentos. Entretanto, com base na classe tóxica, na fase de ovo, os tratamentos com *A. muricata*, *S. sclarea*, *R. officinalis* e *A. indica* foram considerados inócuos às fêmeas de *T. pretiosum*. Já os tratamentos com d-limoneno e *O. basilicum* demonstraram pouca interferência no parasitismo, os quais foram considerados como levemente prejudiciais. Na fase larval, o comportamento quanto a classe tóxica foi semelhante ao observado na fase de ovo. Na fase de pupa, apenas o tratamento com *A. indica* foi considerado inócuo (CT I). Os tratamentos com *A. muricata* e *R. officinalis* enquadraram-se na classe tóxica II (levemente prejudiciais às fêmeas). D-limoneno e

O. basilicum apresentaram as maiores interferências no parasitismo, classificados como prejudiciais (CT IV) às fêmeas (Tabela 6).

Na geração F2 não houve diferença nas fases de desenvolvimento de ovo e larva. Em relação as classes tóxicas, na fase de ovo, os tratamentos com *O. basilicum*, *A. muricata* e *A. indica*, foram considerados inócuos ao parasitismo das fêmeas. Na fase de larva os tratamentos *A. muricata* e *S. sclarea* foram classificados como CT IV (prejudicial ao parasitismo das fêmeas). Na última fase (pupa), o óleo *A. muricata* foi considerado prejudicial e o óleo de *R. officinalis* como levemente prejudicial às fêmeas do parasitoide (Tabela 6).

Tabela 6. Parasitismo de *Anagasta kuehniella* (Lepidoptera: Pyralidae) parasitados por fêmeas da F1 e F2 de *Trichogramma pretiosum* (Hymenoptera: Trichogrammatidae) tratados em diferentes estádios imaturos e classe tóxica (TC).

Tratamentos	Geração F1					
	Ovo	CT	Larva	CT	Pupa	CT
Controle	18,2±4,0 a	-	15,3±3,5 a	-	18,0±0,0 a	-
D-limoneno	6,4±4,0 a	II	-	-	0,0±0,0 a	IV
Eugenol	-	-	-	-	-	-
<i>Ocimum basilicum</i>	11,29±4,1 a	II	9,0±2,3 a	II	0,0±0,0 a	IV
<i>Eucalyptus citriodora</i>	-	-	-	-	-	-
<i>Zingiber officinale</i>	-	-	-	-	-	-
<i>Annona muricata</i>	19,3±4,4 a	I	21,3±4,2 a	I	6,5±3,7 a	II
<i>Salvia sclarea</i>	25,8±4,3 a	I	21,3±5,0 a	I	-	-
<i>Rosmarinus officinalis</i>	14,0±5,6 a	I	21,0±5,0 a	I	9,4±3,5 a	II
<i>Cymbopogon winterianus</i>	-	-	-	-	-	-
<i>Azadirachta indica</i>	27,5±1,4 a	I	9,0±4,6 a	II	21,0±0,0 a	I
p-valor	0.88885		0.58158		0.30679	
Tratamentos	Geração F2					
	Ovo	CT	Larva	CT	Pupa	CT
Controle	17,0±3,0 a	-	17,3±3,1 a	-	20±2,8 a	-
D-limoneno	10,0±2,7 a	II	-	-	-	-
Eugenol	-	-	-	-	-	-
<i>Ocimum basilicum</i>	25,0±7,0 a	I	10,0±0,6 a	II	-	-
<i>Eucalyptus citriodora</i>	-	-	-	-	-	-
<i>Zingiber officinale</i>	-	-	-	-	-	-
<i>Annona muricata</i>	14,7±2,5 a	I	0,0±0,0 a	IV	0,0±0,0 b	IV
<i>Salvia sclarea</i>	2,6±0,6 a	III	0,0±0,0 a	IV	-	-
<i>Rosmarinus officinalis</i>	0,0±0,0 a	IV	6,2±0,9 a	II	12,8±1,0 b	II
<i>Cymbopogon winterianus</i>	-	-	-	-	-	-
<i>Azadirachta indica</i>	24,0±4,9 a	I	25,0±4,9 a	I	18,0±4,9 a	I
p-valor	0.057913		0.20916		0.00916	

Médias seguidas da mesma letra maiúscula por coluna ou minúscula por linha não diferem pelo teste de Student–Newman–Keuls ($p < 0,05$). classe tóxica (Stern et al. 1999): TC1 = inócuo; TC2 = levemente prejudicial; TC3 = moderadamente nocivo; TC4 = prejudicial. ± Erro padrão (n = 12)

4.3.2.4 Razão sexual nas gerações F1 e F2

A razão sexual das gerações F1 e F2, de *T. pretiosum*, não apresentou redução nos estágios de ovo, larva e pupa, quando os ovos de *A. kuehniella* foram imersos em diferentes compostos isolados e óleos (Tabela 7).

Tabela 7. Razão sexual das gerações F1 e F2 de *Trichogramma pretiosum* (Hymenoptera: Trichogrammatidae) em diferentes estágios imaturos proveniente de ovos de *Anagasta kuehniella* (Lepidoptera: Pyralidae).

Tratamentos	Geração F1			Geração F2		
	Ovo	Larva	Pupa	Ovo	Larva	Pupa
Controle	0,7±0,1 a	0,7±0,1 a	0,7±0,0 a	0,7±0,1 a	0,7±0,1 a	0,7±0,0 a
D-limoneno	0,7±0,0 a	-	-	0,7±0,0 a	-	-
Eugenol	-	-	-	-	-	-
<i>Ocimum basilicum</i>	0,6±0,1 a	0,7±0,0 a	0,6±0,1 a	0,6±0,1 a	0,6±0,0 a	
<i>Eucalyptus citriodora</i>	-	-	-	-	-	-
<i>Zingiber officinale</i>	-	-	-	-	-	-
<i>Annona muricata</i>	0,6±0,1 a	0,5±0,1 a	0,6±0,1 a	0,6±0,1 a	0,7±0,1 a	0,7±0,0 a
<i>Salvia sclarea</i>	0,6±0,1 a	0,5±0,1 a	-	0,5±0,4 a	0,6±0,1 a	-
<i>Rosmarinus officinalis</i>	0,7±0,0 a	0,5±0,1 a	0,6±0,1 a	0,6±0,1 a	0,6±0,1 a	0,6±0,1 a
<i>Cymbopogon winterianus</i>	-	-	-	-	-	-
<i>Azadirachta indica</i>	0,7±0,1 a	0,8±0,1 a	0,8±0,0 a	0,5±0,0 a	0,1±0,0 a	0,6±0,0 a
p-valor	0.48635	0.75641	0.78253	0.91321	0.72652	0.87631

Médias seguidas da mesma letra minúscula não diferem pelo teste de Student–Newman–Keuls ($p < 0,05$). ± Erro padrão (n = 12)

4.4 DISCUSSÃO

4.4.1 Toxicidade de óleos e compostos isolados sobre o parasitismo de *Trichogramma pretiosum*

A redução na longevidade das fêmeas de *T. pretiosum*, na geração parental, provavelmente se devem aos terpenóides presentes nesses óleos e compostos isolados. Estas substâncias podem inibir/reduzir o nível de acetilcolinesterase, colinesterase, octopamina, tiramina e Ca^{2+} (PALACIOS et al., 2009; LÓPEZ; PASCUAL-VILLALOBOS, 2010), ou ter ação em outros locais, como o complexo de monooxigenases do citocromo P450 (CUI et al., 2016). A não interferência dos óleos e compostos isolados na razão sexual de *T. pretiosum* no tratamento controle, d-limoneno, *A. muricata* e *A. indica*, sugere que o contato destes com os ovos de *A. kuehniella* não alterou a capacidade de busca, seleção e aceitação do hospedeiro pelas fêmeas de *T. pretiosum*. Mudanças na proporção sexual estão diretamente associadas a deformações, redução da qualidade dos recursos nutricionais do hospedeiro e morte embrionária em ovos de insetos por produtos tóxicos (CORREIA et al., 2013; PARREIRA et al., 2019).

A inibição do parasitismo de *T. pretiosum* em ovos de *A. kuehniella*, na geração

parental, pelo composto isolado eugenol e os óleos de *O. basilicum*, *E. citriodora*, *Z. officinale*, *S. sclarea*, *R. officinalis* e *C. winterianus* e a redução deste parâmetro (classe III, 80–99%) por *A. muricata* e *A. indica* ocorreu possivelmente pelos efeitos repelentes que os mesmos possuem. Compostos bioativos de *Z. officinale* como gingerol, gingerona e zingibereno são voláteis com ação repelente e detectados por antenas ou tarsos de insetos (BALACHANDRAN et al., 2006; CAMPBELL et al., 2011). O efeito repelente do eugenol foi avaliado contra *Anopheles braziliensis* Chagas, 1907 (Diptera: Culicidae), evidenciando o potencial desse composto na redução do número de picadas de *A. braziliensis* (PAULA et al., 2004). O óleo de *E. citriodora* atua como repelente de diversos insetos, como por exemplo *Acanthoscelides obtectus* (Say) e *Zabrotes subfasciatus* (Boh.) (Coleoptera: Bruchidae) (PROCÓPIO et al., 2015). Somente d-limoneno e *A. indica* permitiram parasitismo, nas gerações parental, F1 e F2, possivelmente porque esses compostos permitiram a busca, seleção e aceitação do hospedeiro.

No que se refere ao número de parasitoides emergidos, nas gerações F1 e F2, nos tratamentos com eugenol e os óleos de *O. basilicum*, *E. citriodora*, *Z. officinale*, *S. sclarea*, *R. officinalis*, *C. winterianus*, não foi observado à emergência de nenhum descendente de *T. pretiosum*. A ação da interferência desses produtos na busca, aceitação e seleção do hospedeiro fica evidenciado nesse parâmetro, assim como nos anteriores e como já relatado em outros estudos (PAULA et al., 2004; PASCUAL-VILLALOBOS, 2010; PROCÓPIO et al., 2015; CUI et al., 2016). Os tratamentos com d-limoneno, *A. muricata* e *A. indica*, permitiram à emergência de indivíduos, comprovando que esses possuem uma menor ação maléfica na busca, seleção e aceitação do hospedeiro, uma vez que foram classificados como inócuos ou levemente prejudiciais.

A inibição da emergência de espécimes na geração F1 de *T. pretiosum* pelo eugenol e os óleos de *O. basilicum*, *E. citriodora*, *Z. officinale*, *S. sclarea*, *R. officinalis*, *C. winterianus* pode ser explicada pelo efeito letal destes compostos sobre estágios imaturos de insetos (PARREIRA et al., 2018). Compostos presentes nesses óleos podem ter se difundido pelo córion do ovo e interrompido o desenvolvimento embrionário e estágios imaturos de *T. pretiosum* (PARREIRA et al., 2018), ou atuado como repelente a fêmeas de *T. pretiosum*, impedindo o parasitismo.

4.4.2 Toxicidade de óleos e compostos isolados sobre *Trichogramma pretiosum* em diferentes fases de desenvolvimento

A inibição na emergência da geração F1 de *T. pretiosum* com eugenol, *E. citriodora*, *Z. officinale* e *C. winterianus* em todas as fases de desenvolvimento, acrescido de d-limoneno na fase de larva e pupa e de *S. sclarea* na fase de pupa, demonstrou os efeitos colaterais desses óleos e compostos em imaturos de *T. pretiosum*. Alguns compostos desses óleos podem penetrar no corion do hospedeiro, agindo sobre o sistema nervoso, inibindo a enzima acetilcolinesterase e causando movimentos involuntários, como convulsões, seguidas de paralisia e morte (AGARWAL et al. 2001; GONZÁLEZ et al. 2013). Além disso, compostos como citronellal de *E. citriodora*, citronellal, geraniol e citronellol para *C. winterianus*, linalol para *S. sclarea* e a mistura de desidrozingerona e zingerona para *Z. officinale* (AGARWAL et al., 2001; DAMASCENA et al., 2023) podem atuar como reguladores de crescimento de insetos explicando a redução da emergência na geração F1 de *T. pretiosum* (ZANUNCIO et al. 2016; FEDER et al., 2019). Os compostos de *Z. officinale* por exemplo (dehydrozingerone, dehydroshogaol e zingerone) aumentaram a duração de cada estágio de larva e pupa de *Ceraeochrysa claveri* Navás (Neuroptera: Chrysopidae) (SCUDELER et al., 2016), impedindo a muda e causando anomalias morfológicas e mortalidade, bem como como a ninfa de *Nezara viridula* Linneus (Hemiptera: Pentatomidae), particularmente durante a muda (GONZÁLEZ et al., 2011).

A menor taxa de longevidade das fêmeas de *T. pretiosum* foi causada pelo óleo de *A. indica*, *O. basilicum* e d-limoneno na fase de pupa. Muitos compostos presentes em óleos podem alterar as características morfológicas e fisiológicas, como redução no tamanho de parasitoides e predadores, afetando conseqüentemente a sobrevivência desses indivíduos (AHMAD et al., 2003; CHARLESTON et al., 2005), além de causar deformidades ou anormalidades no intestino adulto (SINGH et al., 2008), o que poderia ter comprometido a longevidade do *T. pretiosum*. Portanto, é importante que a aplicação de óleos não seja realizada simultaneamente a liberação da vespa parasitoide, pois a longevidade desta pode ser reduzida consideravelmente, comprometendo a eficiência no manejo.

A menor taxa de parasitismo de fêmeas da geração F1 de *T. pretiosum* na fase de ovo e pupa por d-limoneno e *O. basilicum* e na fase de larva por *O. basilicum* e *A.*

indica e na geração F2 na fase de larva por *A. muricata* e *S. sclarea* e na fase de pupa por *A. muricata* decorreu dos efeitos subletais nos estágios imaturos deste parasitoide. Esses óleos já possuem relatos por apresentarem ações ovicidas e larvicidas (GONZÁLEZ ARMIJOS et al., 2019; UMAGILYAGE et al., 2017). Além disso, para *Z. officinale*, a baixa taxa de parasitismo de *Trichogramma galloi* após o contato com o óleo ocorreu devido aos compostos como gingeróis, dehidroshogaol e alquenonas fenólicas de *Z. officinale* que perturbam o metabolismo da membrana epitelial afetando a produção dependente de ecdisona nas ações de Cyt-P450 e monooxigenases (CUI et al. 2016; PARREIRA et al., 2018). O óleo de *A. muricata* foi relatado afetando a sobrevivência e emergência do parasitoide de ovos *Cleruchoidea noackae* Lin. e Huber (Hymenoptera: Mymaridae) (HAAS et al., 2018).

A razão sexual nas gerações F1 e F2, dos descendentes provenientes das fases de ovo, larva e pupa, tratados com os diferentes compostos foram semelhantes. Variações na razão sexual podem ocorrer em detrimento das características físico-químicas do hospedeiro, de fatores abióticos, ou da bactéria *Wolbachia* nos parasitoides *Trichogramma* (HEIMPEL; BOER, 2008). Encontrar valores de razão sexual acima de 0,5 nas gerações é importante para conservar o parasitoide *T. pretiosum* em programas de controle biológico (VIANNA et al., 2009; PARREIRA et al., 2018).

Mesmo diante da viabilidade econômica que alguns óleos e compostos isolados possuem para pequenos produtores em cultivos orgânicos (ISMAN et al., 2011; MKENDA et al., 2015), sua utilização, mesmo que considerados como produtos naturais, podem não ser compatíveis com os agentes de controle biológico, por não apresentarem seletividade (SILVA; BUENO, 2015), assim como evidenciado neste trabalho para o parasitoide *T. pretiosum*. Além disso, muitos óleos e compostos isolados de acordo com a dosagem utilizada podem resultar em efeitos fitotóxicos nas culturas de interesse, portanto além da seletividade é importante avaliar tais efeitos sobre plantas (DAYAN et al. 2015).

4.5 CONCLUSÃO

Os óleos e compostos isolados testados não são seletivos a *T. pretiosum*. pois afetam algum parâmetro biológico do parasitoide. Portanto, ao serem utilizados em

programas de manejo integrado de pragas, não devem ser aplicados no mesmo dia da liberação do parasitoide para que sua ação no controle biológico de pragas não seja reduzida.

4.6 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AQARWAL, M.; WALIA, S.; DHINQRA, S.; KHAMBAY, B. Insect growth inhibition, antifeedant and antifungal activity of compounds isolated/ derived from *Zingiber officinale* Roscoe (ginger) rhizomes. **Pest Management Science**, v. 57, n. 1, p. 289–300, 2001.

BALACHANDRAN, S.; KENTISH, S. E.; MAWSON, R. The effects of both preparation method and season on the supercritical extraction of ginger. **Separation and Purification Technology**, v. 48, n. 2, p. 94-105, 2006.

BARUA, A., MCDONALD-HOWARD, K. L., MC DONNELL, R. J., RAE, R., WILLIAMS, C. D. Toxicity of essential oils to slug parasitic and entomopathogenic nematodes. **Journal of Pest Science**, v. 93, n. 4, p. 1411-1419, 2020.

CAMPBELL, C.; GRIES, R.; KHASKIN, G.; GRIES, G. Organosulphur constituents in garlic oil elicit antennal and behavioural responses from the yellow fever mosquito. **Journal of Applied Entomology**, v. 135, n. 5, p. 374-381, 2011.

CAMPOS, E. V.; DE OLIVEIRA, J. L.; PASCOLI, M.; DE LIMA, R.; FRACETO, L. F. Neem oil and crop protection: from now to the future. **Frontiers in plant science**, v. 7, 1494, 2016

CORREIA, A. A.; WANDERLEY-TEIXEIRA, V.; TEIXEIRA, Á. A.; OLIVEIRA, J. V.; GONÇALVES, G. G.; CAVALCANTI, M. G.; ALVES, L. C. Microscopic analysis of *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae) embryonic development before and after treatment with azadirachtin, lufenuron, and deltamethrin. **Journal of Economic Entomology**, v. 106, n. 2, p. 747-755, 2013.

CRUZ, R. A. D. L.; ZANUNCIO, J. C.; LACERDA, M. C.; WILCKEN, C. F.; FERNANDES, F. L.; TAVARES, W. D. S.; SEDIYAMA, C. S. Side-effects of pesticides on the generalist endoparasitoid *Palmistichus elaeisis* (Hymenoptera: Eulophidae). **Scientific Reports**, v. 7, n. 1, p. 1-8, 2017.

CUI, S.; WANG, L.; MA, L.; GENG, X. P450-mediated detoxification of botanicals in insects. *Phytoparasitica*, v. 44, n. 5, p. 585-599, 2016.

DAMASCENA, A. P.; JUNIOR, L. M. D. A.; TAMASHIRO, L. A. G.; VICENTE, D. N.; MENINI, L.; PRATISSOLI, D. Efficiency of essential oils and pure compounds in the management of *Plutella xylostella*, *Spodoptera eridania* and *Diaphania hyalinata*. **Biochemical Systematics and Ecology**, v. 106, n. 1, p. 104549, 2023.

DAYAN, F. E.; OWENS, D. K.; WATSON, S. B.; ASOLKAR, R. N.; BODDY, L. G. Sarmentine, a natural herbicide from *Piper* species with multiple herbicide mechanisms of action. **Front Plant Science**, v. 6, n. 222, p. 1-8, 2015.

DE LIMA SOUZA, J. R. C.; VILLANOVA, J. C. O.; DE SOUZA, T. D. S.; MAXIMINO, R. C.; MENINI, L. Vegetable fixed oils obtained from soursop agro-industrial waste: Extraction, characterization and preliminary evaluation of the functionality as pharmaceutical ingredients. **Environmental Technology & Innovation**, v. 21, p. 1-12, 2021.

DOS SANTOS, A. T. B.; JUNIOR, J. S. Z.; PARREIRA, L. A.; DE ABREU, K. M. P.; DE OLIVEIRA BERNARDES, C.; DE CARVALHO, J. R.; MENINI, L. Chemical identification and insecticidal effect of *Tephrosia vogelii* essential oil against *Cerosipha forbesi* in strawberry crop. **Crop Protection**, v. 139, p. 1-6, 2021.

FEDER, D., GONZALEZ, M. S., MELLO, C. B., SANTOS, M. G., ROCHA, L., KELECOM, A., FOLLY, E. Exploring the Insecticide and Acaricide Potential of Development Regulators obtained from Restinga vegetation from Brazil. **Anais da Academia Brasileira de Ciências**, v. 91, n. 1, p. 2-18. 2019.

GERWICK, B. C.; SPARKS, T. C. Natural products for pest control: an analysis of their role, value and future. **Pest Management Science**, v. 70, n. 1, p. 1169-1185, 2014.

GONZÁLEZ ARMIJOS, M. J.; VITERI JUMBO, L.; D'ANTONINO FARONI, L. R.; OLIVEIRA, E. E.; FLORES, A. F.; HADDI, K. Fumigant toxicity of eugenol and its negative effects on biological development of *Callosobruchus maculatus* L. **Revista de Ciencias Agrícolas**, v. 36, n. 1, p. 5-15, 2019.

GONZÁLEZ, J. O. W.; LAUMANN, R. A.; DA SILVEIRA, S.; MORAES, M. C. B.; BORGES, M.; FERRERO, A. A. Lethal and sublethal effects of four essential oils

on the egg parasitoids *Trissolcus basalus*. **Chemosphere**, v. 92, n. 5, p. 608-615, 2013.

HAAS, J.; BARBOSA, L. R.; POTRICH, M.; LOZANO, E. R.; VISMARA, E. S.; BAUNGRATZ, A. R.; MAZARO, S. M. Toxicity assessment of plant extracts to *Cleruchoides noackae* Lin and Huber (Hymenoptera: Mymaridae). **Agroforestry Systems**, v. 93, n. 4, p. 1297– 1305, 2018.

HEIMPEL, G. E.; BOER, J. G. Sex determination in the hymenoptera. **Annual Review Entomology**, v. 53, n. 1, p. 53:209–230, 2008. .

ISMAN, M. B.; MIRESMAILLI, S.; & CHIAL, C. Commercial opportunities for pesticides based on plant essential oils in agriculture, industry and consumer products. **Phytochemistry reviews**, v. 10, n. 2, p. 197-204, 2011.

KHAN, M. A.; KHAN, H.; RUBERSON, J. R. Lethal and behavioral effects of selected novel pesticides on adults of *Trichogramma pretiosum* (Hymenoptera: Trichogrammatidae). **Pest Management Science**, v. 71, p. 1640–1648, 2015

LÓPEZ, M. D.; PASCUAL-VILLALOBOS, M. J. Mode of inhibition of acetylcholinesterase by monoterpenoids and implications for pest control. **Industrial Crops and Products**, v.31. n. 2, p. 284-288, 2010.

LUIZ, A. L.; PERLATTI, B.; MARQUES, F. A.; RODRIGUES-FILHO, E.; COSTA, E. N.; RIBEIRO, Z. A.; FORIM, M. R. Efficacy of botanical extracts from Brazilian savannah against *Diabrotica speciosa* and associated bacteria. **Ecological research**, v. 32, n. 3, p. 435-444. 2017.

MIRESMAILLI, S.; ISMAN, M. B. Botanical insecticides inspired by plant–herbivore chemical interactions. **Trends Plant Science**, v. 18, p. 29-35, 2014.

MKENDA, P.; MWANAUTA, R.; STEVENSON, P. C.; NDAKIDEMI, P.; MTEI, K.; BELMAIN, S. R. Extracts from field margin weeds provide economically viable and environmentally benign pest control compared to synthetic pesticides. **PLoS ONE**, v. 10, n. 11, e01435302015, 2015.

NDAKIDEMI, B.; MTEI, K.; NDAKIDEMI, P. A. Impacts of synthetic and botanical pesticides on beneficial insects. **Agricultural Sciences**, v. 7, n. 6, p. 364, 2016.

PALACIOS, S. M.; BERTONI, A.; ROSSI, Y.; SANTANDER, R.; URZÚA, A. Insecticidal activity of essential oils from native medicinal plants of Central Argentina against the house fly, *Musca domestica* (L.). **Parasitology Research**, v. 106, n. 1, p. 207-212, 2009.

PARRA, J.R.P. 1997. **Técnicas 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. 324 p.

PARREIRA, D. S.; ALCÁNTARA-DE LA CRUZ, R.; DIMATÉ, F. A. R.; BATISTA, L. D.; RIBEIRO, R. C.; FERREIRA, G. A. R.; ZANUNCIO, J. C. Bioactivity of ten essential oils on the biological parameters of *Trichogramma pretiosum* (Hymenoptera: Trichogrammatidae) adults. **Industrial Crops and Products**, v. 127, n. 1, p. 11-15 2019.

PARREIRA, D. S.; ALCÁNTARA-DE LA CRUZ, R.; LEITE, G. L. D.; DE SOUZA RAMALHO, F.; ZANUNCIO, J. C.; SERRÃO, J. E. Quantifying the harmful potential of ten essential oils on immature *Trichogramma pretiosum* stages. **Chemosphere**, v. 199, n. 1, p. 670-675, 2018.

PARREIRA, D. S.; ALCÁNTARA-DE LA CRUZ, R.; ZANUNCIO, J. C.; LEMES, P. G.; DA SILVA ROLIM, G.; BARBOSA, L. R.; SERRÃO, J. E. Essential oils cause detrimental effects on biological parameters of *Trichogramma galloi* immatures. **Journal of Pest Science**, v. 91, n. 2, p. 887-895, 2018.

PAULA, J. P.; FARAGO, P. V.; CHECCHIA, L. E.; HIROSE, K. M.; RIBAS, J. L. Atividade repelente do óleo essencial de *Ocimum selloi* Benth.(variedade eugenol) contra o *Anopheles braziliensis* Chagas. **Acta farmaceutica bonaerense**, v. 23, n. 1, p. 376-378, 2004.

PLATA-RUEDA, A.; MARTÍNEZ, L. C.; SANTOS, M. H. D.; FERNANDES, F. L.; WILCKEN, C. F.; SOARES, M. A.; ZANUNCIO, J. C. Insecticidal activity of garlic essential oil and their constituents against the mealworm beetle, *Tenebrio molitor* Linnaeus (Coleoptera: Tenebrionidae). **Scientific reports**, v. 7, n. 1, p. 1-11, 2017.

PRATISSOLI, D.; PIN DALVI, L.; POLANCZYK, R. A.; SANTOS ANDRADE, G.; MATHIAS HOLTZ, A.; OTES NICOLINE, H. Características biológicas de *Trichogramma exiguum* em ovos de *Anagasta kuehniella* e *Sitotroga*

cerealella. **Idesia**, v. 28, n. 1, p. 39-42, 2010.

PREETHA, G.; STANLEY, J.; SURESH, S.; SAMIYAPPAN, R. Avaliação de risco de inseticidas usados em arroz em miridbug, *Cyrtorhinus lividipennis* Reuter, o importante predador da cigarrinha marrom, *Nilaparvata lugens* (Stål). **Quimiosfera**, v. 80, n. 1, p. 498-503, 2010.

PROCOPIO, S. D. O.; VENDRAMIM, J. D.; JUNIOR, J. I. R.; DOS SANTOS, J. B. *subfasciatus* (Boh.)(Coleoptera: bruchidae)/effect of powders on *Acanthoscelides obtectus* (Say) and *Zabrotes subfasciatus* (boh.)(Coleoptera: bruchidae). **Ceres**, v. 50, n. 1, p 289, 2015.

SCUDELER, E. L.; GARCIA, A. S. G.; PADOVANI, C. R.; PINHEIRO, P. F. F.; SANTOS, D. C. Are the biopesticide neem oil and the predator *Ceraeochrysa claveri* (Navás, 1911) compatible? **Journal of Entomology and Zoology Studies**, v. 4, n. 2, p. 340-346, 2016.

SILVA, D. M.; BUENO, A. F. Organic products selectivity for *Trichogramma pretiosum* (Hymenoptera: Trichogrammatidae). **Arquivos do Instituto Biológico**, v. 82, n. 1, p. 1–8, 2015.

STERK, G.; HASSAN, S. A.; BAILLOD, M.; BAKKER, F.; BIGLER, F.; BLÜMEL, S.; VOGT, H. Results of the seventh joint pesticide testing programme carried out by the IOBC/WPRS-working group 'pesticides and beneficial organisms'. **Biological Control**, v. 44, n. 1, p. 99–117, 1999.

UMAGILIYAGE, A. L.; BECERRA-MORA, N.; KOHLI, P.; FISHER, D. J.; CHOUDHARY, R. Antimicrobial efficacy of liposomes containing d-limonene and its effect on the storage life of blueberries. **Postharvest Biology and Technology**, v. 128, n. 1, p. 130-137, 2017.

VIANNA, U. R.; PRATISSOLI, D.; ZANUNCIO, J. C.; LIMA, E. R.; BRUNNER, J.; PEREIRA, F. F.; & SERRÃO, J. E. Insecticide toxicity to *Trichogramma pretiosum* (Hymenoptera: Trichogrammatidae) females and effect on descendant generation. **Ecotoxicology**, v. 18, n. 2, p. 180-186, 2009.

ZANUNCIO, J. C.; MOURÃO, S. A.; MARTÍNEZ, L. C.; WILCKEN, C. F.; RAMALHO, F. S.; PLATA-RUEDA, A.; SERRÃO, J. E. Toxic effects of the neem oil

(*Azadirachta indica*) formulation on the stink bug predator, *Podisus nigrispinus* (Heteroptera: Pentatomidae). **Scientific reports**, v. 6, n. 1, p. 1-8, 2016.

5 CAPÍTULO V

Novo isolado nucleopolyhedrovirus no manejo de *Spodoptera eridania*

RESUMO

Spodoptera eridania é considerada como praga polífaga. Estudos de métodos alternativos de manejo desse inseto é necessário visando ampliar as opções já existentes e devido a carência de inseticidas registrados e eficientes. Um agente destaque no manejo de pragas é o emprego de vírus. Dentre os grupos de vírus, os baculovírus (Família Baculoviridae) são os mais estudados e empregados para o controle de pragas agrícolas. O objetivo desse estudo foi identificar isolado de vírus presente em lagartas de *S. eridania* sintomáticas. A amostra de vírus foi extraída e realizada a purificação dos corpos de oclusão (OBs). O DNA viral foi extraído utilizando o Kit PureLink Viral RNA/DNA Mini Kit (ThermoFisher) de acordo com o manual do fabricante e os primers prl8-1e prl8-1B foram utilizados para amplificação do fragmento do gene. Amplicons de amostras positivas foram purificados e enviados para sequenciamento e comparadas utilizando o algoritmo Basic Local Alignment Search Tool (BLASTN). O isolado foi identificado apresentando alta similaridade genética com o isolado “*Spodoptera eridania* nucleopolyhedrovirus isolate CNPSo-165”, caracterizando-se como novidade no cenário e pode apresentar-se como promissor, agregando as táticas disponíveis para o manejo integrado de *S. eridania*.

Palavras-chave: Baculovírus. Manejo integrado de pragas. Identificação de vírus.

New nucleopolyhedrovirus isolate in the management of *Spodoptera eridania*

ABSTRACT

Spodoptera eridania is considered a polyphagous pest. Studies of alternative methods of handling this insect are necessary in order to expand the existing options and due to the lack of registered and efficient insecticides. A prominent agent in pest management is the use of viruses. Among the groups of viruses, the baculoviruses (Family Baculoviridae) are the most studied and used to control agricultural pests. The aim of this study was to identify a virus isolate present in symptomatic *S. eridania* caterpillars. The virus sample was extracted and OBs purification was performed. Viral DNA was extracted using the PureLink Viral RNA/DNA Mini Kit (ThermoFisher) according to the manufacturer's manual, and prl8-1 and prl8-1B primers were used to amplify the gene fragment. Amplicons from positive samples were purified and sent for sequencing and compared using the Basic Local Alignment Search Tool (BLASTN) algorithm. The isolate was identified showing high genetic similarity with the isolate “*Spodoptera eridania* nucleopolyhedrovirus isolate CNPSo-165”, characterizing itself as a novelty in the scenario and can be presented as promising, adding the tactics available for the integrated management of *S. eridania*.

Keywords: Baculovirus. Integrated pest management. Virus identification.

5.1 INTRODUÇÃO

Spodoptera eridania é uma praga nativa amplamente distribuída nas regiões tropicais das Américas (POGUE, 2002). O manejo dessa praga é realizado por meio de inseticidas sintéticos e na maioria das vezes são executados de forma incorreta, ocasionados pelo uso indiscriminado desses produtos e sua ineficiência, além dos impactos ambientais causados pelo seu uso (FAVETTI et al., 2015).

Métodos que utilizam agentes de biocontrole, como vírus de insetos, são opções importantes para complementar ou mesmo substituir pesticidas em um programa de manejo integrado de pragas. A utilização de Baculovirus, considerado como vírus entomopatogênico, tem recebido atenção especial como um agente potencial de controle biológico (SOSA-GOMEZ et al., 2020).

Dentre os grupos de vírus, os baculovírus (Família Baculoviridae) são os mais estudados e empregados para o manejo de pragas agrícolas. Quando utilizados no campo, os baculovírus podem ser introduzidos nas táticas de manejo de pragas, pois existem diversos tipos de vírus atacando insetos entre lepidópteros, coleópteros e dípteros (SOSA-GOMEZ et al., 2020). A infecção viral inicia-se quando o hospedeiro se alimenta de substratos contaminados com os corpos de oclusão (OBs). Dois fenótipos virais são produzidos durante o ciclo completo da infecção. O vírus derivado da oclusão (ODV), responsável pela infecção primária, é liberado no intestino médio do inseto após a dissolução dos OBs e infecta as células do epitélio do intestino médio. Em seguida, a célula infectada produz o vírus *budded* (BV), que é responsável pela infecção secundária e espalha a doença viral do intestino médio por todo o corpo do inseto (JEHLE et al., 2006). No final da infecção, as larvas apresentam um tegumento enfraquecido e melanizado e uma anatomia interna, que foi amplamente liquefeita (SLACK; ARIF, 2006).

Diante do exposto, o objetivo deste estudo foi identificar o isolado do vírus presente em larvas mortas com sintomas de infecção por baculovírus e avaliar a eficácia do isolado no manejo de *S. eridania*.

5.2 MATERIAL E MÉTODOS

5.2.1 Obtenção, purificação dos corpos de oclusão (OBs) e caracterização do isolado

Larvas mortas de *S. eridania* com sintomas de infecção por baculovírus (lagartas flácidas, penduradas nas plantas em formato de V invertido) foram coletadas em áreas de cultivo de tomateiro na cidade de Santa Maria de Jetibá (Estado do Espírito Santo, Brasil) e enviadas ao laboratório de entomologia do Núcleo de Desenvolvimento Científico e Tecnológico em Manejo Fitossanitário de Pragas e Doenças (NUDEMAFI) e mantidas a -20 °C até a purificação dos OBs.

Os cadáveres foram macerados, em almofariz de porcelana, com solução tampão SDS a 1% (Dodecil Sulfato de Sódio). O líquido proveniente da maceração foi filtrado em tecido tipo *voile*, para remover os tecidos gordurosos e as partes mais grosseiras das lagartas. A suspensão viral filtrada foi centrifugada três vezes, em solução tampão SDS 1%, a 6.000 rpm por 20 minutos. O *pellet* proveniente da última centrifugação foi ressuspenso em água destilada esterilizada, com auxílio de agitador vórtex, e armazenado a -20 °C (HASHIMOTO et al., 2000). Foi retirado 50 µl do pellet ressuspenso e colocado no centro da “câmara de Neubauer” e então visualizado em microscópio de luz a presença de cristais de baculovírus.

O DNA total do purificado foi extraído utilizando o Kit PureLink Viral RNA/DNA Mini Kit (ThermoFisher) de acordo com o manual do fabricante.

O DNA extraído foi utilizado como molde para PCR utilizando os primers prl8-1 (CAGGAAACAGCTATGACCCAYGGHGARATGAC) e prl8-1B (TAATACGACTCACTATAGGGCAYGGHGARATGAC) desenhados por Langi et al. (2004), que amplificam um fragmento do gene *late expression fator 8* (LEF-8).

Amplicons de amostras positivas foram purificados e enviados para sequenciamento e comparadas utilizando o algoritmo Basic Local Alignment Search Tool (BLASTN).

5.2.1 Manutenção e multiplicação de *Spodoptera eridania*

As lagartas recém-emergidas de *S. eridania* foram acondicionadas em potes plásticos (20 cm x 40 cm x 12 cm altura) com tampa possuindo uma abertura, fechada

com tecido microtuler. Com o crescimento das lagartas e a perda de hábito gregário que acaba no segundo instar, estas lagartas foram repicadas em novos potes até atingir um stand final de 100 lagartas por pote. As lagartas foram alimentadas com dieta artificial adaptada (GREENE; LEPPLA; DICKERSON, 1976), constituída por 125 g de feijão, 62,4 g de levedo de cerveja, 100 g de gérmen de trigo, 100 g de proteína de soja, 50 g de caseína, 35 g de ágar, 5 g de nipagin, 6 g de ácido ascórbico, 3 g de ácido sórbico, 6 mL de formol em 40% e 10 g de solução vitamínica (niacinamida, pantotenato de cálcio, tiamina, riboflavina, piridoxina, ácido fólico, biotina e vitamina B12), suficiente para a alimentação de 24 horas. Quando as lagartas atingiam a fase de pre-pupa, foram individualizadas em potes (10 cm de diâmetro x 7 cm de altura) com tampas perfuradas e tampadas com tecido microtuler, forradas com ¼ de folha de papel formato A4. Estes potes receberam 1 cm³ de dieta descrita acima e 7 lagartas, que permaneceram no recipiente até a fase de pupa. Estas foram coletadas e acondicionadas em placas de plástico tipo Gerbox® (6 cm de diâmetro x 1,5 cm de altura) até a emergência dos adultos, que foram destinados a uma gaiola de acrílico (80 cm x 80 cm x 70 cm), permanecendo nesta condição por 48 horas, e posteriormente transferidos para gaiolas de PVC (20 cm de diâmetro x 25 cm de altura) revestidos internamente com folha de papel branco. A extremidade superior fechada com tecido do tipo “voil” e a inferior fechada com uma placa quadrada de isopor (25 cm de lado x 3 cm de espessura), contendo solução de mel em 10% (m/v) como substrato alimentar, por meio de algodão embebido de solução em frasco de vidro (5 mL). As folhas de papel, contendo as posturas foram recortadas e as massas de ovos acondicionadas em placas de plástico tipo Gerbox® (6 cm de diâmetro x 1,5 cm de altura), mantidas em condições controladas (25 ± 1 °C, UR de 70 ± 10% e fotofase de 12h), até a emergência das lagartas.

5.2.3 Patogenicidade do isolado a *Spodoptera eridania*

Foram individualizadas 50 lagartas de segundo instar de *S. eridania* e deixadas sem alimento por quatro horas. Posteriormente, as lagartas foram alimentadas com dieta artificial impregnada com 20 µl de suspensão de poliedros na concentração de 1x10⁸ poliedros/ml. As concentrações foram determinadas, previamente, por meio de contagem em câmara de Neubauer. As lagartas que consumiram completamente os discos de dieta artificial dentro de um período de 48 horas foram transferidas para

recipientes com dieta artificial isenta de patógeno. No tratamento controle os discos de dietas foram tratados somente com água estéril. A mortalidade foi registrada após 8 dias.

6.2.4 Especificidade do isolado

Foram individualizadas 10 lagartas de terceiro instar de *Spodoptera frugiperda*, *Diaphania hyalinata* e *Plutella xylostella*. Lagartas de *S. frugiperda* foram alimentadas com dieta artificial impregnada com 20 µl de suspensão de poliedros na concentração de 1x10⁸ poliedros/ml. *D. hyalinata* e *P. xylostella* foram alimentadas com discos de folhas de abóbora e couve, respectivamente. As lagartas de *S. frugiperda* que consumiram completamente os discos de dieta artificial dentro de um período de 48 horas foram transferidas para recipientes com dieta artificial isenta de patógeno e as lagartas de *D. hyalinata* e *P. xylostella* foram transferidas para recipientes contendo discos de folhas de abóbora e couve, respectivamente. A mortalidade foi avaliada após 8 dias.

5.3 RESULTADOS

5.3.1 PCR e sequenciamento

O isolado de baculovírus coletado de *S. eridania* apresentou 97,57% de similaridade com o isolado de *Spodoptera eridania* “nucleopolyhedrovirus isolate CNPSo-165” (GenBank MT040195) (RODRIGUES et al., 2020).

5.3.2 Patogenicidade do isolado a *Spodoptera eridania*

O isolado de *S. eridania* “nucleopolyhedrovirus isolate Se04”, matou 100% das lagartas, mostrando-se eficiente no manejo dessa praga (tabela 1).

Tabela 1. Mortalidade de lagartas de *Spodoptera eridania* alimentadas com dieta artificial impregnada com 20 µl de suspensão de poliedros na concentração de 1x10⁸ poliedros/ml

Tratamentos	Mortalidade
Testemunha	0,0±0,0 a
Nucleopolyhedrovirus isolate Se04	100,0±0,0 b
p-valor	<0,05

*Médias seguidas pela mesma letra não diferem entre si ao nível de 5% de probabilidade pelo teste de Tukey.

5.3.1 Especificidade do isolado

O isolado de *S. eridania* “nucleopolyhedrovirus isolate Se04”, não matou lagartas de *S. frugiperda*, *D. hyalinata* e *P. xylostella*, apresentando-se como específico de *S. eridania* (tabela 2).

Tabela 2. Mortalidade de lagartas de *Spodoptera frugiperda*, *Diaphania hyalinata* e *Plutella xylostella* alimentadas com dieta artificial impregnada com 20 µl de suspensão de poliedros na concentração de 1x10⁸ poliedros/ml do isolado de *S. eridania* “nucleopolyhedrovirus isolate Se04”

Tratamentos	Mortalidade
<i>Spodoptera frugiperda</i>	0,0±0,0 a
<i>Diaphania hyalinata</i>	0,0±0,0 a
<i>Plutella xylostella</i>	0,0±0,0 a
p-valor	>0,05

*Médias seguidas pela mesma letra não diferem entre si ao nível de 5% de probabilidade pelo teste de Tukey.

5.4 DISCUSSÃO

Spodoptera eridania “nucleopolyhedrovirus isolate Se04” foi capaz de matar larvas de *S. eridania*, porém não matou larvas de *S. frugiperda*. O isolado SperNPV-CNPSO-165 também não se apresentou patogênico a larvas de *S. frugiperda*, porém

foi patogênico a *S. albula* (RODRIGUES et al., 2020), possivelmente devido a similaridade genética entre essas espécies (LE RU et al., 2018).

De forma geral, a gama de hospedeiros do baculovírus pode variar de acordo com a espécie viral isolada, e em alguns casos, um isolado pode ser infeccioso para mais de 20 hospedeiros, por exemplo, AcMNPV (SALEM; CHENG; CHENG, 2012), e outros são específicos e apresentam-se como infecciosos apenas em um único hospedeiro (WANG et al., 2008).

Portanto, a especificidade de baculovírus varia de acordo com o isolado (CLEM E PASSARELLI, 2013). Entretanto, ao apresentar especificidade, como no caso do isolado identificado nesse estudo, torna com maior potencial de ser utilizado no controle biológico de insetos-praga de culturas florestais e agrícolas, por apresentarem maior segurança para os seres humanos e outros animais e uma alternativa viável aos inseticidas químicos (SUN; PENG, 2007).

5.5 CONCLUSÃO

Neste trabalho foi identificado um novo isolado de baculovírus *Spodoptera eridania* “nucleopolyhedrovirus isolate Se04”, sendo este letal para larvas de *S. eridania* e incapaz de matar *S. frugiperda*, *D. hyalinata* e *P. xylostella* na concentração de 1×10^8 poliedros/ml.

5.6 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

CLEM, R.J.; PASSARELLI, A. L. Baculoviruses: sophisticated pathogens of insects. **PLoS Pathology**, v. 9, n. 11, p. e1003729, 2013.

EFROM, C. F. S.; BORTOLI, L. C.; BERTIN, A.; SPECHT, A.; BOTTON, M. **Bioecologia e controle de *Spodoptera eridania* (Lepidoptera: Noctuidae) em videira no Rio Grande do Sul**. Bento Gonçalves: Embrapa Uva e Vinho Comunicado Técnico, 150, 2013. 7 p.

FAVETTI, B. M.; BUTNARIU, A. G.; FOERSTER, L. A. Biology and reproductive capacity of *Spodoptera eridania* (Cramer) (Lepidoptera, Noctuidae) in different soybean cultivars. **Revista Brasileira de Entomologia**, v. 59, n. 1, p. 89-95, 2015.

GREENE, G. L.; LEPLA, N.C.; DICKERSON, W.A. Velvetbean caterpillar: a rearing procedure and artificial medium. **Journal Economic Entomology**, n. 69, p. 487-497, 1976.

JEHLE, J. A.; SLACK, J.; ARIF, B. M. The baculovirus occlusion-derived virus: virion structure and function. **Advances in virus research**, v. 69, n. 1, p. 99-165, 2006.

JESUS, F. G.; SOUSA, P. V.; MACHADO, R. B.; PEREIRA, A. I. A.; ALVES, G. C. S. Desenvolvimento de *Spodoptera eridania* (Cramer) (Lepidoptera: Noctuidae) em diferentes hospedeiros. **Arquivos do Instituto Biológico**, v.80, n. 4, p. 430-435, 2013.

LANGE, M.; WANG, H.; HU, Z.; WANG, Y.; HAUSCHILD, R. Molecular identification and phylogenetic analysis of baculoviruses from Lepidoptera. **Virology**, v. 346, n. 1, p. 180-193, 2006.

LANGE, M.; WANG, H.; ZHIHONG, H.; JEHLER, J. A. Towards a molecular identification and classification system of lepidopteran-specific baculoviruses. **Virology**, v. 325, n. 1, p. 36-47, 2004.

LE RU, B.; BARBUT, J.; CAPDEVIELLE-DULAC, C.; GOFTISHU, M.; & KERGOAT, G. J. Re-establishment of *Spodoptera teferii* Laporte in Rougeot (Lepidoptera: Noctuidae, Noctuinae), with an updated molecular phylogeny for the genus *Spodoptera* Guenée. **Annual Society Entomology**, v 54, n. (6), p. 497-510, 2018

MONTEZANO, D. G.; SPECHT, A.; SOSA-GÓMEZ, D. R.; ROQUE-SPECHT, V. F.; DE BARROS, N. M. Fases imaturas de *Spodoptera eridania* (Lepidoptera: Noctuidae): parâmetros de desenvolvimento e plantas hospedeiras. **Journal of Insect Science**, v. 14, n. 1, pp. 1-11, 2014.

RODRIGUES, D. T.; PETERSON, L.; DE OLIVEIRA, L. B.; SOSA-GÓMEZ, D. R.; RIBEIRO, B. M.; & ARDISSON-ARAÚJO, D. M. Characterization of a novel alphabaculovirus isolated from the Southern armyworm, *Spodoptera eridania* (Cramer, 1782)(Lepidoptera: Noctuidae) and the evolution of odv-e66, a bacterium-acquired baculoviral chondroitinase gene. **Genomics**, v. 112, n. 6, p. 3903-3914, 2020.

SALEM, T. Z.; CHENG, X. H.; CHENG, X. W. (2012). AcMNPV enhances infection by ThorNPV in Sf21 cells and SeMNPV in Hi5 cells. **Archives of virology**, v. 157, n. 10, p. 1875-1885, 2012.

SANTOS, K. B.; MENEGUIM, A. M.; NEVES, P. M. O. J. Biologia de *Spodoptera eridania* (Cramer) (Lepidoptera: Noctuidae) em diferentes hospedeiros. **Neotropical Entomology**, v. 34, n. 6, p. 903-910, 2005

SANTOS, K.B.; MENEGUIM, A. M.; SANTOS, W. J.; NEVES, P. M.; SANTOS, R.B. Caracterização dos danos de *Spodoptera eridania* (Cramer) e *Spodoptera cosmioides* (Walker) (Lepidoptera: Noctuidae) a estruturas de algodoeiro. **Neotropical Entomology**, v. 39, n. 4, p. 626-631, 2010.

SOSA-GÓMEZ, D. R.; MORGADO, F. S.; CORRÊA, R. F. T.; SILVA, L. A.; ARDISSON-ARAÚJO, D. M. P.; RODRIGUES, B. M. P.; RIBEIRO, B. M. Entomopathogenic viruses in the neotropics: current status and recently discovered species. **Neotropical entomology**, v. 49, n. 3, p. 315-331, 2020.

SUN, X.L.; PENG, H.Y. Recent advances in biological control of pest insects by using viruses in China. **Virologica Sinica**, v. 22, n. 2, p. 158–162, 2007.

WANG, L.; SALEM, T. Z.; LYNN, D. E.; CHENG, X. W. Slow cell infection, inefficient primary infection and inability to replicate in the fat body determine the host range of *Thysanoplusia orichalcea* nucleopolyhedrovirus. **Journal of general virology**, v. 89, n. 6, p. 1402-1410, 2008.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

O uso de óleos essenciais, fixos, compostos isolados, nematoides entomopatogênicos (NEPs) e o novo isolado de vírus (*S. eridania* “nucleopolyhedrovirus isolate Se04”) são eficientes no manejo de *S. eridania*, com potencial uso em programas de manejo integrado dessa praga.

O composto isolado d-limoneno em associação com agentes encapsulantes (goma guar e maltodextrina) é potencial para ser utilizado no manejo de *S. eridania*, visto que esses encapsulantes melhoram a eficiência do composto resultando em maior efetividade no manejo.

Entretanto, atenção deve ser dada na escolha e utilização dos óleos e compostos isolados, uma vez que estes podem ser tóxicos aos NEPs testados (*H. amazonensis* e *S. rarum*) e também ao parasitoide de ovos (*T. pretiosum*) pela classificação toxicológica proposta pela IOBC.

Diante do potencial dos NEPs e do parasitoide *T. pretiosum* no controle biológico de pragas, é recomendável verificar a seletividade dos óleos sobre tais organismos, a fim de detectar quais óleos são incompatíveis com os organismos benéficos e não poderão ser recomendados no manejo integrado de pragas.