

# Toxicidade do óleo essencial e da nanoemulsão de *Pogostemon cablin* Benth. (Lamiaceae) para *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith, 1797) (Lepidoptera: Noctuidae)

## ***TOXICITY OF THE ESSENTIAL OIL AND NANOEMULSION FROM Pogostemon cablin BENTH. (LAMIACEAE) FOR Spodoptera frugiperda (J.E. SMITH, 1797) (LEPIDOPTERA:NOCTUIDAE)***

Isabela Caroline Luft\*, DeJane Santos Alves†,  
Katiane Pompermayer‡, Andressa Soares Scolari§, Daniel Henrique Mendes de Souza¶,  
Lucas Bragança Carvalho<sup>||</sup>, Hudson Wallace Pereira de Carvalho<sup>||</sup>

### RESUMO

*Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith, 1797) (Lepidoptera: Noctuidae) é praga chave em vários sistemas de cultivos agrícolas. Os métodos usados para seu controle têm levado a seleção de populações resistentes. Dado o exposto, é necessária a busca por novas técnicas para o controle de *S. frugiperda*, e os inseticidas botânicos em nanosistemas têm mostrado-se promissores. Este trabalho teve como objetivo avaliar a toxicidade do óleo essencial (OE) *P. cablin*, em sua forma natural e nanoemulsionado, para *S. frugiperda*. O bioensaio foi realizado com delineamento experimental inteiramente casualizado, com cinquenta repetições por tratamento, a parcela experimental foi formada por uma lagarta, mantida individualizada. Os controles foram constituídos por dieta acrescida de água, solução aquosa de Tween 80 a 1% e os emulsificantes da nanoemulsão. Constatou-se que OE de *P. cablin* nanoemulsionado causou mortalidade em *S. frugiperda* em uma concentração mais baixa (0,625 mg do OE/mL de dieta) do que a requerida para o OE em sua forma convencional (1 mg do OE/mL de dieta). Assim, conclui-se que o OE de *P. cablin* nanoemulsionado apresenta a vantagem de requerir menor concentração do produto para causar mortalidade no inseto, o que pode viabilizar seu uso em programas de manejo de pragas.

**Palavras-chave:** inseticidas botânicos, nanoformulações, produtos naturais, metabólitos secundários

### ABSTRACT

*Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith, 1797) (Lepidoptera: Noctuidae) is a key pest in several cropping systems. The methods used for its control have led to the selection of resistant populations. Thus, it is necessary to search for new techniques for the *S. frugiperda* control, in this sense, botanical insecticides in nanosystems have shown promise. This way, the present work aimed to evaluate the toxicity of *P. cablin* essential oil (EO), in this natural and nanoemulsified form, against *S. frugiperda*. The bioassay was carried out with a completely randomized experimental design, with fifty replications per treatment, the

\* Agronomia, Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Santa Helena, Paraná, Brasil; [isabela.luft@outlook.com](mailto:isabela.luft@outlook.com)

† Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Campus Santa Helena; [dejanealves@utfpr.edu.br](mailto:dejanealves@utfpr.edu.br)

‡ Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Santa Helena, Paraná, Brasil; [katianepompermayer@gmail.com](mailto:katianepompermayer@gmail.com)

§ Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Santa Helena, Paraná, Brasil; [ANDRESSA-SCOLARI@outlook.com](mailto:ANDRESSA-SCOLARI@outlook.com)

¶ Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Santa Helena, Paraná, Brasil; [danielhenriqueutfpr@gmail.com](mailto:danielhenriqueutfpr@gmail.com)

° Universidade Estadual Paulista, Sorocaba, São Paulo, Brasil; [lucasufpa@hotmail.com](mailto:lucasufpa@hotmail.com)

|| Centro de Energia Nuclear na Agricultura, Piracicaba, São Paulo, Brasil; [hudson@cena.usp.br](mailto:hudson@cena.usp.br)

experimental plot was formed by a caterpillar, kept individualize. The negative controls consisted of diet added water, Tween 80 1% aqueous solution and nanoemulsion emulsifiers. The form nanoemulsified of *P. cablin* EO to cause mortality in *S. frugiperda* at a concentration lower (0.625 mg of EO/mL of diet) than that required for EO in its natural form (0.625 mg of OE/mL of diet). Thereby, it is concluded that the nanoemulsified *P. cablin* EO has the advantage of requiring a lower concentration of the product to cause insect mortality, which can make its use in pest management programs feasible.

**Keywords:** botanical insecticides, nanoformulations, natural products, secondary metabolites

## 1 INTRODUÇÃO

*Spodoptera frugiperda* (J.E. SMITH, 1797) (Lepidoptera: Noctuidae), também conhecida como lagarta-do-cartucho ou lagarta-militar, é considerada praga chave em vários sistemas de cultivos agrícolas. Trata-se de um inseto polífago, que utiliza como alimento mais de 353 espécies de plantas (MONTEZANO et al., 2018). Embora *S. frugiperda* seja um inseto nativo das Américas (UNIVERSITY OF FLORIDA, 2018), sua presença vem sendo detectada em outros continentes (KERGOAT et al., 2021).

Entre as técnicas mais utilizadas para o controle de *S. frugiperda* está o uso de inseticidas químicos sintéticos e plantas geneticamente modificadas. Entretanto, existem relatos da seleção de populações de *S. frugiperda* resistentes a essas técnicas de controle (YU, 2006; YU, 2007; ZHU et al., 2015).

Metabólitos secundários de plantas vem sendo alvo de estudos, trazendo resultados promissores ao que se refere o controle desta praga (PHAMBALA et al., 2020; RIOBA; STEVENSON, 2020; ZAVALA-SÁNCHEZ et al., 2019). Entretanto, entre os fatores limitantes para a comercialização de inseticidas botânicos pode-se destacar a baixa estabilidade e necessidade de grande quantidade de ingrediente ativo para atingir o inseto alvo (ISMAN, 2020).

Para contornar os supracitados problemas, as nanoformulações vêm se mostrando efetivas (MOSSA, 2016). A nanotecnologia é uma excelente ferramenta para resolver problemas na agricultura. Trata-se de uma ciência interdisciplinar que trabalha com partículas na escala nanométrica. Como resultado de uma escala tão pequena podem ser verificadas novas propriedades na matéria, pois, à medida que os níveis de energia mudam tem-se como resultado mudanças nas propriedades físico-químicas, se comparadas às formulações convencionais do mesmo material (GATOO et al., 2014; PATTAN; KAUL, 2014). Estudos estimam que o ganho médio em eficácia de agroquímicos em nanossistemas, em relação aos produtos convencionais, é de cerca de 20-30% (KAH et al., 2018).

Dessa forma, o presente trabalho teve como objetivo avaliar a toxicidade do óleo essencial (OE), em sua forma convencional, e da nanoemulsão do OE de *P. cablin* para *S. frugiperda* em ensaio de ingestão, sob condições de laboratório.

## 2 MÉTODO

### 2.1 Criação de *S. frugiperda*

A criação de *S. frugiperda* foi mantida no Laboratório de Biologia e Ecologia de Invertebrados (LABIN) da Universidade Tecnológica Federal do Paraná, campus Santa Helena. Os adultos foram alimentados com solução aquosa de mel a 10% e as lagartas com dieta artificial (PARRA, 2001). Para a realização dos

bioensaios, os insetos foram oriundos da segunda postura da criação. A criação de manutenção de *S. frugiperda* e os ensaios foram mantidos em sala climatizada (temperatura:  $25 \pm 2^\circ\text{C}$ , umidade relativa:  $70 \pm 10\%$ , fotofase: 12 h).

## 2.2 Obtenção e caracterização da nanoemulsão

Para a obtenção da nanoemulsão a fase 1 foi injetada na fase 2, sob agitação em aparelho UltraTurrax® T10 basic. A fase 1 consistiu do emulsificante A (0,25 g), OE de *P. cablin* (0,25 g) e água destilada (2,0 mL), ao passo que a fase 2, foi formada pelo emulsificante B (0,25 g) e água destilada (2,0 mL). Os emulsificantes A e B não terão os nomes revelados nesse trabalho, pois o estudo encontra-se em andamento e os dados serão publicados. A caracterização quanto à: distribuição média de tamanho; índice de polidispersidade (PDI) e potencial Zeta ( $\zeta$ ), foi conduzida em aparelho Zetasizer Nano ZS, Malvern Instruments,

## 2.3 Ensaio com *S. frugiperda*

O OE de *P. cablin*, em sua forma convencional, foi empregado nas concentrações de 0,5; 0,7; 1; 1,5 e 2 mg do OE/mL de dieta. Enquanto que, para o OE nanoemulsificado as concentrações foram de 0,5; 0,625; 0,8; 1 e 1,25 mg do OE/mL de dieta. As diferentes concentrações do OE e da nanoformulação foram solubilizadas em solução aquosa de Tween 80 a 1% (20 mL) e adicionados a dieta artificial (200 mL) (PARRA, 2001). Posteriormente, pedaços de dieta de mesmo tamanho (1,5 cm de diâmetro x 1,3 cm de altura) foram transferidos para tubos de vidro (2,5 cm de diâmetro x 8,0 cm de altura), no qual foi inoculada uma lagarta desegundo instar (48 h de idade, alimentada previamente com dieta artificial) de *S. frugiperda*, em cada tubo de vidro. Os tubos de vidro foram tampados com algodão hidrofílico.

O bioensaio foi realizado com delineamento experimental inteiramente casualizado, com cinquenta repetições por tratamento, cada uma formada por um tubo contendo uma lagarta. Os controles negativos foram constituídos por dieta acrescida de água, solução aquosa de Tween 80 a 1% e os emulsificantes da nanoemulsão. A cada 24 h, durante 168 h, foi avaliada a sobrevivência dos insetos. Foi considerado morto o inseto que não respondeu ao toque de um pincel de cerdas finas (tamanho 000). As análises foram conduzidas em microscópio estereoscópio.

Para a análise estatística, os dados foram submetidos à análise de sobrevivência usando o estimador não-paramétrico de Kaplan-Meier; foi estimado o tempo letal mediano ( $TL_{50}$ ) para cada tratamento. As curvas foram comparadas, entre si, pelo teste de log-rank. As análises foram realizadas empregando-se o software R® (R DEVELOPMENT CORE TEAM, 2021).

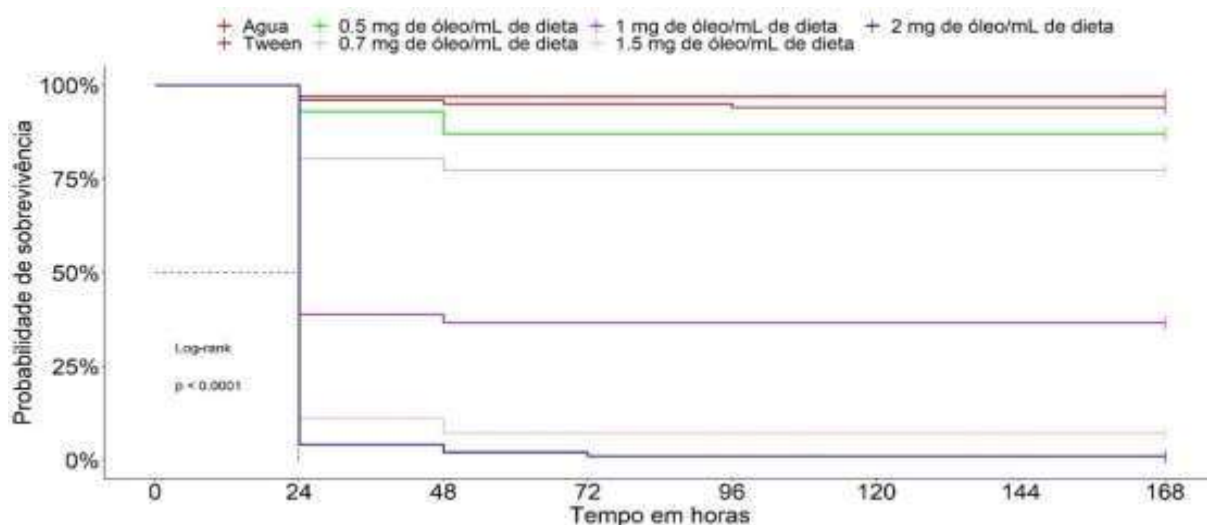
## 3 RESULTADOS

A nanoemulsão do OE de *P. cablin* apresentou tamanho médio de partícula de  $177,5 \pm 2,13$  nm; PDI de  $0,50 \pm 0,002$  e  $\zeta$  de  $-21,2 \pm 0,02$  mV, mostrando assim boas características para um nanosistema.

O OE de *P. cablin*, em sua forma convencional ( $\chi^2 = 450$ ; gl = 6;  $p < 0,0001$ ) e em nanoemulsão ( $\chi^2 = 207$ ; gl = 7;  $p < 0,0001$ ), apresentou efeito letal para as lagartas de *S. frugiperda*; maiores taxas de toxicidade foram detectadas de acordo com o aumento da concentração do OE. As lagartas alimentadas com o OE, em sua forma convencional, nas concentrações de 1; 1,5 e 2 mg do OE/mL de dieta, apresentaram  $TL_{50} \leq 24$  h; sendo observado diferença estatística em relação aos controles negativos: dieta acrescida de água e de solução aquosa de Tween 80 a 1% ( $p < 0,001$ ). Ao passo que para o OE nanoemulsionado foi possível constatar

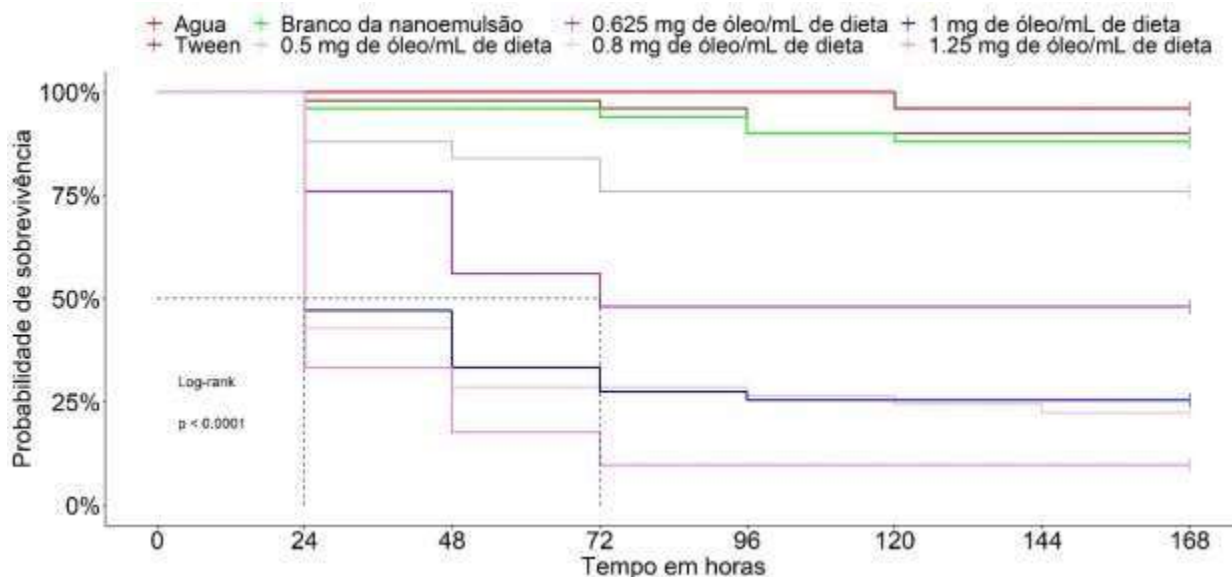
efeito tóxico em concentrações mais baixas. Para a concentração de 0,8 mg do OE/mL de dieta o  $TL_{50}$  foi  $\leq 24$  h, enquanto que para o OE em sua forma convencional, em concentrações menores que 1 mg do OE/mL de dieta não foi encontrada toxicidade. Ressalta-se que para os insetos alimentados com o OE em nanoemulsão (0,625 mg do OE/mL), o  $TL_{50}$  foi de apenas 72 h.

**Figura 1. Análise de sobrevivência de lagartas de *Spodoptera frugiperda* alimentadas com dieta artificial contendo diferentes concentrações do óleo essencial de *Pogostemon cablin*, em sua forma convencional.**



Fonte: Autoria própria (2021).

**Figura 2. Análise de sobrevivência de lagartas de *Spodoptera frugiperda* alimentadas com dieta artificial contendo diferentes concentrações da nanoemulsão do óleo essencial de *Pogostemon cablin*.**



Fonte: Autoria própria (2021).



## 4 CONCLUSÃO

Para o OE de *P. cablin* taxas de mortalidade, maiores do que 50%, foram constatadas em concentrações acima de 1 mg do OE/mL de dieta; enquanto que para o OE nanoemulsionado concentrações maiores do que 0,625 do OE/mL de dieta foram suficientes para causarem taxas de mortalidade acima de 50%. Dessa forma, o OE em nanosistema apresenta potencial para ser empregado para o controle de *S. frugiperda*.

## AGRADECIMENTOS

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), Fundação Araucária (FA), Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP, #2018/23608-8) e ao Prof. Dr. Leonardo Fernandes Fraceto por ceder o uso do equipamento Zetasizer Nano ZS.

## REFERÊNCIAS

- GATOO, Manzoor Ahmad; NASEEM, Sufia; ARFAT, Mir Yasir; MAHMOOD DAR, Ayaz; QASIM, Khusro; ZUBAIR, Swaleha. Physicochemical properties of nanomaterials: Implication in associated toxic manifestations. **BioMed Research International**, v. 2014, p. 1-8, 2014.
- ISMAN, Murray B. Botanical insecticides in the twenty-first century-fulfilling their promise? **Annual Review of Entomology**, v. 65, p. 233–249, 2020.
- KAH, Melanie; KOOKANA, Rai Singh; GOGOS, Alexander; BUCHELI, Thomas Daniel. A critical evaluation of nanopesticides and nanofertilizers against their conventional analogues. **Nature Nanotechnology**, v. 13, n. 8, p. 677–684, 2018.
- KERGOAT, Gael J. et al. A novel reference dated phylogeny for the genus *Spodoptera Guenée* (Lepidoptera: Noctuidae: Noctuinae): new insights into the evolution of a pest-rich genus. **Molecular Phylogenetics and Evolution**, v. 161, n. March, 2021.
- MONTEZANO, Débora G.; SPECHT, Alexandre; SOSA-GÓMEZ, Daniel Ricardo; ROQUE-SPECHT, Vânia F.; SOUSA-SILVA, José Carlos; PAULA-MORAES, Silvana V.; PETERSON, Julie A.; HUNT, Thomas E. Host Plants of *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae) in the Americas. **African Entomology**, v. 26, n. 2, p. 286–300, 2018.
- MOSSA, Abdel Tawab H. Green Pesticides: Essential oils as biopesticides in insect-pest management. **Journal of Environmental Science and Technology**, v. 9, n. 5, p. 354–378, 2016.
- PARRA, José Roberto Postalli. **Técnicas de criação de insetos para programas de controle biológico**. 3. ed. Piracicaba: FEALQ, 2001.
- PATTAN, Gurulingappa; KAUL, Gautam. Health hazards associated with nanomaterials. **Toxicology and Industrial Health**, v. 30, n. 6, p. 499–519, 2014.
- PHAMBALA, Kelita; TEMBO, Yolice; KASAMBALA, Trust; KABAMBE, Vernon H.; STEVENSON, Philip C.; BELMAIN, Steven R. Bioactivity of common pesticidal plants on fall Armyworm Larvae (*Spodoptera frugiperda*). **Plants**, v. 9, n. 1, p. 1–10, 2020.
- R DEVELOPMENT CORE TEAM. R: The R Project for Statistical Computing. Disponível em: <<https://www.r-project.org/>>. Acesso em: 25 ago, 2021.
- RIOBA, Naomi B.; STEVENSON, Philip C. Opportunities and scope for botanical extracts and products for the management of fall armyworm (*Spodoptera frugiperda*) for smallholders in Africa. **Plants**, v. 9, n. 2, p. 1–17, 2020.
- UNIVERSITY OF FLORIDA. Fall armyworm, *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith). Disponível em: <[http://entnemdept.ufl.edu/creatures/field/fall\\_armyworm.htm](http://entnemdept.ufl.edu/creatures/field/fall_armyworm.htm)>. Acesso em: 25 ago, 2021.
- YU, Simon J. Insensitivity of acetylcholinesterase in a field strain of the fall armyworm, *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith). **Pesticide Biochemistry and Physiology**, v. 84, n. 2, p. 135–142, 2006.
- YU, Simon J.; MCCORD, Elzie Jr. Lack of cross-resistance to indoxacarb in insecticide-resistant *Spodoptera*



*frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae) and *Plutella xylostella* (Lepidoptera: Yponomeutidae) **Pest Management Science**, v. 63, n. 1, p. 63–67, 2007.

ZAVALA-SÁNCHEZ, Miguel Ángel; RODRÍGUEZ-CHÁVEZ, José Luis; FIGUEROA-BRITO, Rodolfo; QUINTANA-LÓPEZ, Cinthia Magali; BAH, Mamadou Moustapha; CAMPOS-GUILLÉN, Juan; BUSTOS-MARTÍNEZ, Jaime Amadeu; ZAMORA-AVELLA, Daniel; RAMOS-LÓPEZ, Miguel Angel. Bioactivity of 1-octacosanol from *Senna crotalarioides* (Fabaceae: Caesalpinioideae) to Control *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae). **Florida Entomologist**, v. 102, n. 4, p. 731–737, 2019.

ZHU, Yu. Cheng.; BLANCO, Carlos A.; PORTILLA, Maribel; ADAMCZYK, John; LUTTRELL, Randall; HUANG, Fangneng. Evidence of multiple/cross resistance to Bt and organophosphate insecticides in Puerto Rico population of the fall armyworm, *Spodoptera frugiperda*. **Pesticide Biochemistry and Physiology**, v. 122, p. 15–21, 2015.