

UNIVERSIDADE TECNOLÓGICA FEDERAL DO PARANÁ

KATIANE POMPERMAYER

**PROSPECÇÃO DE SUBSTÂNCIAS ORGÂNICAS E DE FORMULAÇÕES DO
ÓLEO ESSENCIAL DE *Pogostemon cablin* Benth. (LAMIACEAE) PARA O
CONTROLE DE *Spodoptera frugiperda* (J.E. SMITH, 1797) (LEPIDOPTERA:
NOCTUIDAE)**

SANTA HELENA

2023

KATIANE POMPERMAYER

**PROSPECÇÃO DE SUBSTÂNCIAS ORGÂNICAS E DE FORMULAÇÕES DO
ÓLEO ESSENCIAL DE *Pogostemon cablin* Benth. (LAMIACEAE) PARA O
CONTROLE DE *Spodoptera frugiperda* (J.E. SMITH, 1797) (LEPIDOPTERA:
NOCTUIDAE)**

**PROSPECTION OF ORGANIC SUBSTANCES AND ESSENTIAL OILS
FORMULATIONS FROM *Pogostemon cablin* BENTH. (LAMIACEAE) FOR THE
Spodoptera frugiperda (J.E. SMITH, 1797) (LEPIDOPTERA: NOCTUIDAE)
CONTROL**

Dissertação apresentada ao Programa Pós-Graduação em Recursos Naturais e Sustentabilidade da Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Campus Santa Helena, como requisito parcial à obtenção do título de mestra.

Orientadora: Profa. Dra. Dejane Santos Alves

SANTA HELENA

2023



[4.0 Internacional](https://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/4.0/)

Esta licença permite remixe, adaptação e criação a partir do trabalho, para fins não comerciais, desde que sejam atribuídos créditos ao(s) autor(es) e que licenciem as novas criações sob termos idênticos. Conteúdos elaborados por terceiros, citados e referenciados nesta obra não são cobertos pela licença.

KATIANE POMPERMAYER

**PROSPECÇÃO DE SUBSTÂNCIAS ORGÂNICAS E DE FORMULAÇÕES DO ÓLEO ESSENCIAL DE
POGOSTEMON CABLIN BENTH. (LAMIACEAE) PARA O CONTROLE DE SPODOPTERA FRUGIPERDA
(J.E. SMITH) (LEPIDOPTERA: NOCTUIDAE)**

Trabalho de pesquisa de mestrado apresentado como requisito para obtenção do título de Mestre Em Recursos Naturais E Sustentabilidade da Universidade Tecnológica Federal do Paraná (UTFPR). Área de concentração: Recursos Naturais E Sustentabilidade.

Data de aprovação: 05 de Maio de 2023

Dra. Dejjane Santos Alves, Doutorado - Universidade Tecnológica Federal do Paraná

Dr. Daian Guilherme Pinto De Oliveira, Doutorado - Universidade Tecnológica Federal do Paraná

Dr. Denilson Ferreira De Oliveira, Doutorado - Universidade Federal de Lavras (UFLA)

Dr. Rosângela Cristina Marucci, Doutorado - Universidade Federal de Lavras (UFLA)

Documento gerado pelo Sistema Acadêmico da UTFPR a partir dos dados da Ata de Defesa em 05/05/2023.

Dedico este trabalho à minha família, em especial
aos meus filhos pelos momentos de ausência.

AGRADECIMENTOS

Primeiramente agradeço a Deus por me permitir concluir mais essa etapa da minha carreira acadêmica. Foi dele que extrai as forças nos momentos mais difíceis desse processo, discernimento para as tomadas de decisões que para uma aluna, pesquisadora, mãe, filha e gestora de uma família nem sempre são fáceis.

Agradeço à minha família, em especial a minha mãe, Dona Leni M. Pompermayer, que além de avó foi também mãe dos filhos nos meus momentos de ausência. Obrigada Mãezinha!

Agradeço aos meus filhos, Lucas e Milena, por compreenderem minha ausência, meus dias de estresse em função da sobrecarga da pesquisa, disciplinas, e ainda os compromissos pessoais e profissionais que não puderam ser deixados de lado durante esse processo.

Agradeço imensamente à minha orientadora Profa. Dra. DeJane Santos Alves, por acreditar no meu potencial me orientar e, me encorajar durante toda essa trajetória. Obrigada Profa., pela parceria de sempre e por me ajudar a deixar meu Lattes bem grandão!

Aos meus amigos e colegas de trabalho, em especial: Isabela C. Luft, Andressa Scolari, Bárbara C. Lopes (Baby), Daniel H. M. Souza (Menino de ouro) e Sandra G. Besen, pelas incansáveis horas dedicadas a pesquisa, sem vocês esse trabalho não existiria. Foram muitos momentos de alegria, risos, mas também tivemos momentos de dúvidas, desentendimentos e tristeza, contudo sempre nos apoiamos, e esse é o espírito que prevaleceu nessa trajetória. Foi um imenso prazer ter vocês comigo nesse período e espero poder contribuir com os trabalhos de vocês daqui para frente. Que o GPEA, NOSSO grupo de Pesquisa em Entomologia Aplicada, que nasceu em 2018 nos primeiros trabalhos de pesquisa que realizamos aqui no campus, siga firme, colhendo excelentes resultados que resultaram em diversas premiações.

Também agradeço, aos professores: Dr. Daian Guilherme Pinto de Oliveira, Dr. Denilson Ferreira De Oliveira, Dr. Khalid Haddi e Dra. Rosangela Cristina Marucci que estiveram compondo as bancas de qualificação e defesa desse trabalho, pelas contribuições e sugestões compartilhadas. A cada banca uma grande aula, um momento de muito aprendizado. Obrigado professores por todas as contribuições que lapidaram esse trabalho.

Agradeço ao Prof. Dr. Denilson Ferreira De Oliveira também, e estendo os agradecimentos ao seu grupo de pesquisa, pela parceria de pesquisa.

Enfim, a todos os que em algum momento contribuíram para a realização desta pesquisa.

Gratidão a UTFPR campus Santa Helena, por oportunizar um ensino público e de qualidade.

Agradeço ao apoio financeiro da Coordenação de Aperfeiçoamento e Pessoal de Nível Superior (CAPES) pela Bolsa de apoio a pesquisa.

O homem é parte da natureza e a sua guerra
contra a natureza é, inevitavelmente,
uma guerra contra si mesmo
(RACHEL CARSON, 1962).

RESUMO

A lagarta-do-cartucho *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith, 1797) (Lepidoptera: Noctuidae) é um inseto com potencial altamente destrutivo para as lavouras, e que nos últimos anos tem assumido ampla distribuição geográfica, o que justifica a busca por novas moléculas para o seu controle. Nesse estudo foram empregadas três abordagens visando à busca por novas táticas para o manejo desse inseto: i) avaliou-se a toxicidade de 5 substâncias orgânicas sintéticas, previamente selecionadas por meio de triagem computacional por se complexarem ao receptor de ecdisona; ii) foi determinado o efeito subletal do óleo essencial (OE) de *Pogostemon cablin* (Blanco) Benth (Lamiaceae) sobre o ciclo de vida de *S. frugiperda* em ensaio de ingestão alimentar; iii) estudou-se a toxicidade de uma nanoemulsão do OE de *P. cablin* e de um complexo de inclusão de β -ciclodextrina (β -CD) com o OE de *P. cablin* em ensaio de ingestão alimentar. Das substâncias selecionadas por se complexar ao receptor nuclear de ecdisona, a substância ZINC15969575 causou redução significativa na massa dos insetos e alterações nos parâmetros morfométricos, tais como: redução do comprimento do corpo, comprimento e largura da cápsula cefálica. Dessa abordagem, pode-se concluir que a substância ZINC15969575 pode ser usada como modelo para a síntese de novas moléculas a serem empregadas para o controle de *S. frugiperda*. O OE de *P. cablin* apresentou-se altamente tóxico para lagartas de *S. frugiperda* ($CL_{50} = 0,42 \pm 0,014$; $CL_{90} = 0,79 \pm 0,049$ μg de OE/mL de dieta). Destaca-se que esse OE foi mais tóxico do que o controle positivo, óleo de neem. Ademais, ao se analisar o efeito de doses subletais ($CL_{50} = 0,42 \pm 0,014$; $CL_{25} = 0,30 \pm 0,0143$ μg de OE/mL de dieta) sobre o ciclo de vida do inseto verificou-se: aumento do período larval, redução da massa das pupas, redução da taxa de emergência dos adultos e redução na fecundidade das fêmeas acasaladas. No que se refere as formulações do OE não foi constatada diferença significativa para a toxicidade do OE nanoemulsionado e em sua forma natural. Todavia, destaca-se redução da toxicidade do OE quando complexado a β -CD. É possível que a β -CD tenha impedido a liberação dos compostos presentes no OE com atividade inseticida. Novos ensaios com vistas a avaliar o potencial da nanoemulsão do OE de *P. cablin* em condições de semi-campo e campo devem ser conduzidos.

Palavras-chave: química computacional; inseticidas botânicos; nanotecnologia; β -ciclodextrina.

ABSTRACT

The fall armyworm *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith, 1797) (Lepidoptera: Noctuidae) is an insect with highly destructive potential for crops, which in recent years has assumed a wide geographic distribution, which justifies the search for new molecules to your control. In this study, three approaches were employed in order to search for new tactics for the management of this insect: i) the toxicity of 5 synthetic organic substances, previously selected through computational screening because they complexed with the ecdysone receptor, were evaluated; ii) the sublethal effect of the essential oil (EO) of *Pogostemon cablin* (Blanco) Benth (Lamiaceae) on the life cycle of *S. frugiperda* in a food intake assay was determined; iii) the toxicity of a nanoemulsion of *P. cablin* EO and of an inclusion complex of β -cyclodextrin (β -CD) with *P. cablin* EO in a food intake assay was studied. Of the substances selected for complexing with the nuclear ecdysone receptor, the substance ZINC15969575 obtained a significant reduction in the mass of insects and changes in morphometric parameters, such as: reduction in body length, length and width of the head capsule. From this approach, it can be concluded that the substance ZINC15969575 can be used as a model for the synthesis of new molecules to be used for the control of *S. frugiperda*. *P. cablin* EO was highly toxic to *S. frugiperda* caterpillars ($LC_{50} = 0.42 \pm 0.014$; $LC_{90} = 0.79 \pm 0.049$ $\mu\text{g de OE/mL de dieta}$). It is noteworthy that this EO was more toxic than the positive control, neem oil. Furthermore, when analyzing the effect of sublethal doses ($LC_{50} = 0.42 \pm 0.014$; $LC_{25} = 0.30 \pm 0.0143$ $\mu\text{g de OE/mL de dieta}$) on the life cycle of the insect, it was verified: increase in the larval period, reduction in the mass of the pupae, reduction in the emergence rate of adults and reduction in the fecundity of mated females. With regard to the EO formulations, no significant difference was found for the toxicity of the nanoemulsified EO and its natural form. However, there is a reduction in the toxicity of EO when complexed with β -CD. It is possible that β -CD prevented the release of compounds present in the EO with insecticidal activity. New tests with a view to evaluating the potential of the *P. cablin* EO nanoemulsion under semi-field and field conditions should be conducted.

Keywords: computational chemistry; botanical insecticides; nanotechnology; β -cyclodextrin.

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

CDs	Ciclodextrinas
CIMMYT	<i>International Maize and Wheat Improvement Center</i>
DLS	Espalhamento de Luz Dinâmico
EcR	Receptor de ecdisona
GPEA	Grupo de Pesquisa em Entomologia Aplicada
IGRs	<i>Growth Regulator Insecticides</i>
MAPA	Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento
NE	Nanoemulsões
OEs	Óleos essenciais
PDI	Índice de Polidispersidade
20E	20-hidroxiecdisona
β-CD	β-ciclodextrina

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO.....	14
2	OBJETIVO GERAL.....	17
2.1	Objetivos específicos.....	17
3	REFERENCIAL TEÓRICO.....	18
3.1	A lagarta-do-cartucho.....	18
3.2	Prospecção de substâncias para o controle de insetos.....	19
3.2.1	Seleção virtual de substâncias com atividade inseticida.....	19
3.2.1.1	<u>Receptor de Ecdisona (EcR).....</u>	<u>20</u>
3.2.2	Inseticidas botânicos.....	21
3.2.3	Formulações de inseticidas botânicos.....	23
3.2.3.1	<u>Nanoformulações de inseticidas botânicos.....</u>	<u>23</u>
3.2.3.2	<u>Complexo de inclusão com β-ciclodextrina (β- CD).....</u>	<u>25</u>
3.2.4	Planta selecionada para esse estudo.....	27
3.2.4.1	<u><i>Pogostemon cablin</i>.....</u>	<u>27</u>
	REFERÊNCIAS.....	29

CAPÍTULO 1 - Efeito subletal de substâncias orgânicas selecionadas por triagem virtual sobre *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae)

1	INTRODUÇÃO.....	41
2	MATERIAL E MÉTODOS.....	42
2.1	Obtenção das substâncias selecionadas por se ligarem ao EcR....	42
2.1	Criação de <i>S. frugiperda</i>	43
2.3	Toxicidade por via de ingestão sem chance de escolha de substâncias orgânicas selecionadas computacionalmente por se complexarem ao EcR.....	43
2.4	Efeito subletal por via de ingestão sem chance de escolha de substâncias orgânicas selecionadas computacionalmente por se complexarem ao EcR.....	44
2.5	Análises estatísticas.....	45
3	RESULTADOS.....	45

3.1	Toxicidade por via de ingestão sem chance de escolha de substâncias orgânicas selecionadas computacionalmente por se complexarem ao EcR	45
3.2	Efeito subletal por via de ingestão sem chance de escolha de substâncias orgânicas selecionadas computacionalmente por se complexarem ao EcR.....	48
4	DISCUSSÃO.....	52
5	CONCLUSÃO.....	54
	REFERÊNCIAS.....	55
	APÊNDICE A - Lagartas de <i>Spodoptera frugiperda</i> alimentadas com dieta artificial contendo os controles negativos: água (T1); solução aquosa de teween 80 a 1% (T2); substância ZINC15969575 (T3: 150 µg/mL de dieta), e ZINC15969575 (T4: 300 µg/mL de dieta).....	58

CAPÍTULO 2 - Óleo essencial de *Pogostemon cablin* Benth. (Lamiaceae): formulações e efeito de concentrações subletais sobre o ciclo de vida de *Spodoptera frugiperda* J. E. Smith) (Lepidoptera: Noctuidae)

1	INTRODUÇÃO.....	64
2	MATERIAL E MÉTODOS.....	65
2.1	Obtenção do OE de <i>P. cablin</i>	65
2.2	Obtenção e caracterização da nanoemulsão do OE de <i>P. cablin</i>	65
2.3	Obtenção do complexo de inclusão de β-ciclodextrina com OE de <i>P. cablin</i>	67
2.4	Criação de <i>S. frugiperda</i>	67
2.5	Determinação da resposta tempo-concentração-mortalidade do OE de <i>P. cablin</i> em ensaio de ingestão sem chance de escolha.....	68
2.6	Efeito de concentrações subletais sobre o ciclo de vida de <i>S. frugiperda</i> em ensaio de ingestão sem chance de escolha.....	68
2.7	Toxicidade de formulações do OE de <i>P. cablin</i> para <i>S. frugiperda</i> em ensaio de ingestão sem chance de escolha.....	69
2.8	Análise estatística.....	70
3	RESULTADOS.....	70
3.1	Caracterização da NE 02.....	70
3.2	Determinação da resposta tempo-concentração-mortalidade do OE de <i>P. cablin</i> em ensaio de ingestão sem chance de escolha.....	72
3.3	Efeito de concentrações subletais sobre o ciclo de vida de <i>S. frugiperda</i> em ensaio de ingestão sem chance de escolha.....	75

3.4	Toxicidade de formulações do OE de <i>P. cablin</i> para <i>S. frugiperda</i>	83
4	DISCUSSÃO.....	85
5	CONCLUSÃO.....	88
	REFERÊNCIAS.....	89

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 tem cerca de 350 espécies de plantas utilizadas como hospedeiras (BOREGAS et al., 2013; MONTEZANO et al., 2018). Dada sua alta capacidade de dispersão e adaptação, tornou-se um obstáculo que ameaça à segurança alimentar e nutricional de milhares de famílias (PRASANNA et al., 2022), afetando diversas culturas de importância econômica. Pode-se mencionar a importância desse inseto nas seguintes culturas: milho *Zea mays* L. (Poaceae), sorgo *Sorghum bicolor* L. Moench (Poaceae), algodão *Gossypium herbaceum* L. (Malvaceae), cana-de-açúcar *Saccharum officinarum* L. (Poaceae) e soja *Glycine max* (L.) Merrill (Fabaceae) (BOREGAS et al., 2013; TRIBONI et al., 2019; KANDEL & POUDEL, 2020).

Entre as principais táticas empregadas para controlar este lepidóptero praga na atualidade, destaca-se a aplicação de inseticidas químicos sintéticos e o uso de plantas geneticamente modificadas. Ainda assim, são inúmeros os relatos de seleção de populações de insetos resistentes a esses métodos de controle (FIGUEIREDO; PENTEADO-DIAS; CRUZ, 2005; FIGUEIREDO; DIAS; CRUZ, 2006; BOREGAS et al., 2013; OVERTON et al., 2021).

Outro fator relacionado ao uso indiscriminado dos inseticidas químicos sintéticos é o efeito letal e subletal em inimigos naturais de *S. frugiperda* (BUENO et al., 2017; CARVALHO et al., 2019), o que dá fundamento à necessidade de pesquisas por novas substâncias que possam ser utilizadas no controle de *S. frugiperda* no contexto de uma agricultura sustentável.

Uma abordagem que pode ser empregada na busca por novas substâncias que atuem no controle de pragas é a seleção virtual de substâncias com atividade inseticida. Esse método vem mostrando resultados favoráveis no que diz respeito ao planejamento de novas moléculas (PANDEY et al., 2019; SOUZA et al., 2020). Uma vez estabelecido o alvo, é possível realizar simulações virtuais com milhões de substâncias e assim, selecionar as que possuem afinidade com o receptor alvo, para então avaliar o potencial de controle contra o inseto-praga em testes in vivo (LYNE, 2002; KLEBE, 2006). Tal condição não seria possível se não fosse o uso da seleção virtual, devido ao alto custo dos ensaios biológicos, o que demonstra a efetividade

desse método quando comparado aos métodos convencionais. Para o sucesso deste método, é fundamental o entendimento das propriedades responsáveis pelas interações entre o composto a ser avaliado e o sistema biológico (KLEBE, 2006).

Também visando à seleção de substâncias com atividade contra insetos, há de se considerar os metabólitos secundários de plantas. São diversos os trabalhos que validam a atividade inseticida de óleos essenciais (OEs) e/ou extratos de plantas para a lagarta-do-cartucho (ALVES et al., 2016, 2020; ROSETTI et al., 2023). A utilização de produtos botânicos para o controle de insetos tem uma tendência a minimizar os riscos para organismos não-alvo (LAMPURI et al., 2020; BRICARELLO et al., 2021; STENGER et al., 2021).

Existem inseticidas botânicos comercializados pelo mundo, como o piretro, oriundo das flores secas de crisantemum *Tanacetum cinerariifolium* Sch. Bip. (Asteraceae), o qual constitui um importante exemplo (ISMAN, 2019). Outro produto comercial é o óleo de neem *Azadirachta indica* A. Juss (Meliaceae), seu principal constituinte bioativo, a azadiractina, é reportada por apresentar atividade inseticida e efeitos subletais para diversas pragas de importância agrícola (ASCHER, 1993; BRUCE et al., 2004; ALBARIMAN et al., 2020).

Partindo desse pressuposto, em um estudo recente conduzido pelo Grupo de Pesquisa em Entomologia Aplicada (GPEA) da UTFPR-SH, foi constatada a toxicidade do OE de *Pogostemon cablin* Benth. (Lamiaceae), conhecida popularmente como patchouli, e de seu composto majoritário, patchoulol, para lagartas de 2º instar de *S. frugiperda* (SOUZA, 2022). A atividade inseticida de *P. cablin* também foi reportada para outros insetos da Ordem Lepidoptera e do gênero *Spodoptera*, entretanto esses são os primeiros estudos com *S. frugiperda* (MACHIAL et al., 2010; HUANG et al., 2014; MURCIA-MESEGUER et al., 2018). Tais constatações encorajaram o grupo de pesquisa a dar sequência aos estudos dos efeitos letais e subletais de *P. cablin* nesse trabalho.

Muito embora sejam inúmeros os relatos da toxicidade de OEs para *S. frugiperda*, o uso de substâncias oriundas do metabolismo secundário das plantas ainda é limitado, sendo o óleo de neem o único inseticida botânico com registro junto ao Ministério da Agricultura e Pecuária e Abastecimento para o controle de *S. frugiperda* (MAPA) (BRASIL, 2023). Entre os fatores limitantes para a comercialização destes inseticidas, pode-se destacar a baixa estabilidade e necessidade de grande

quantidade de ingrediente ativo para atingir o inseto-alvo, além da dificuldade de registro de novos produtos de origem botânica (ISMAN, 2006, 2019).

Para mitigar essa problemática, enfatiza-se a necessidade do estudo e aplicação de novas formulações capazes que contornar esses fatores limitantes. Como alternativa é possível mencionar a síntese de complexos de inclusão que são capazes de proteger e transportar substâncias de baixa estabilidade. Um bom exemplo de veículo de transporte são as ciclodextrinas (CDs), que são oligossacarídeos cíclicos que possuem uma cavidade hidrofóbica capaz de alojar diversos tipos de substratos. A interação receptor-substrato é denominada complexo de inclusão, e a formação de complexos com CDs são largamente reportados na literatura pela capacidade de proteger o substrato contra degradação pela oxidação, luz e calor, além de promover a liberação controlada dos ingredientes ativos (VENTURI et al., 2008; WADHWA et al., 2017; CAMPOS et al., 2018).

Outra possibilidade que tem sido muito discutida é a aplicação da nanotecnologia, que é uma ciência interdisciplinar que trabalha com partículas na escala nanométrica (RESCH; FARINA, 2015). A nanotecnologia se mostra efetiva para contornar os problemas relacionados a baixa estabilidade e a quantidade de ingrediente ativo dos inseticidas botânicos (MOSSA, 2016). Em outras palavras, uma vez nanoformulados, os compostos ativos poderão ter maior estabilidade no ambiente, liberação controlada, maior solubilidade em água, entre outras propriedades, alavancando a atividade inseticida em condições adversas (KAH et al., 2019; ABDELAAL et al., 2021; CHAUDHARI et al., 2021; PEREIRA et al., 2022). Logo, a nanotecnologia pode ser uma ferramenta importante para a resolução de vários problemas recorrentes no desenvolvimento de novos inseticidas (USMAN et al., 2020).

2 OBJETIVO GERAL

Avaliar a toxicidade de substâncias orgânicas, selecionadas previamente por triagem computacional, e de formulações do OE de *P. cablin* sobre *S. frugiperda*.

2.1 Objetivos específicos

- Avaliar a bioatividade de 05 (cinco) substâncias orgânicas sintéticas em ensaio de ingestão, previamente selecionadas por meio de triagem computacional por se complexarem ao receptor nuclear da ecdisona, para *S. frugiperda*, em condições de laboratório;
- Determinar o efeito letal, em ensaio de ingestão, do OE de *P. cablin* para *S. frugiperda*;
- Desenvolver uma nanoemulsão do OE de *P. cablin*;
- Determinar a toxicidade do OE de *P. cablin* na forma de nanoemulsão e de complexo com a β -ciclodextrina para *S. frugiperda*;
- Avaliar o efeito de concentrações subletais do OE de *P. cablin* sobre o ciclo de vida de *S. frugiperda*

3 REFERENCIAL TEÓRICO

3.1 A lagarta-do-cartucho

A lagarta-do-cartucho *S. frugiperda* possui ampla distribuição geográfica e é considerada uma das principais pragas agrícolas no continente americano. Trata-se de um inseto polífono mastigador da família Noctuidae que no estágio larval alimenta-se principalmente de folhas e brotos tenros (HE et al., 2020). Sua alta capacidade de ambientação permite usar como hospedeiras cerca de 350 espécies de plantas (BOREGAS et al., 2013; MONTEZANO et al., 2018).

Embora tenha sua origem no continente americano, a lagarta do cartucho tem se espalhado rapidamente em diversos continentes. A saber, em 2016, foram registrados os primeiros surtos de *S. frugiperda* na África Ocidental e Central (GOERGEN et al., 2016); em 2018 na Ásia (SHYLESHA et al., 2018; JING et al., 2020; EPPO, 2020); em países da Oceania em 2020 (PIGGOTT et al., 2021); e ainda, em 2020, foi relatada a sua presença na Europa, pela primeira vez na Ilha de Tenerife (Ilhas Canárias, Espanha), e posteriormente, em 2021, sua presença foi reportada pelo Serviço Fitossanitário Regional das Canárias, em todas as ilhas do arquipélago, tendo sua distribuição restrita a espécies de milho (EPPO, 2021).

Embora a lagarta-do-cartucho ainda não tenha causado danos econômicos na Europa, a sua alta capacidade de dispersão causa preocupações sobre os potenciais impactos de populações transitórias que possam invadir novas áreas e se estabelecerem em novos hospedeiros (GILIOLI et al., 2022).

Entre as culturas de importância econômica que são danificadas por *S. frugiperda*, o milho aparece em destaque, conforme aponta a *International Maize and Wheat Improvement Center* (CIMMYT, 2020). Além disso, esse inseto causa danos em culturas, tais como: sorgo, algodão e cana-de-açúcar (BOREGAS et al., 2013; KANDEL; POUDEL, 2020). Sua ocorrência também vem sendo frequentemente reportada em plântulas de soja, com maior ocorrência no Cerrado brasileiro, estando geralmente associada à baixa pluviosidade (TRIBONI et al., 2019).

No que diz respeito à biologia de *S. frugiperda*, trata-se de um inseto holometábolo que passa pelas fases de ovo, larva, pupa e adulto. O ciclo de vida pode variar entre 4 e 12 semanas conforme as condições ambientais (PLESSIS et al., 2020). Em regiões com clima mais ameno esse ciclo tende a ser mais longo, enquanto em regiões com predominância de clima tropical, como é o caso do Brasil, esse ciclo

tende a ser mais curto, o que permite que o inseto tenha diversas gerações ao longo do ano, possibilitando o seu ataque em todas as fases de desenvolvimento da planta.

Os métodos comumente utilizados para o controle de *S. frugiperda* consistem na aplicação de inseticidas químicos sintéticos, e no uso de plantas geneticamente modificadas que expressam os genes de *Bacillus thuringiensis* (Bt). Contudo, são inúmeros os relatos de perdas na produtividade, mesmo com a aplicação de tais métodos (FIGUEIREDO et al., 2005, 2006; BOREGAS et al., 2013; OVERTON et al., 2021). Estudos revelam que as perdas de rendimento causadas pelo ataque de *S. frugiperda* em culturas de milho, em áreas cuja forma de manejo é desconhecida, giram em torno de 34%. Em regiões nas quais são empregadas plantas geneticamente modificadas e aplicação de inseticidas, essa perda de rendimento cai para 11%. De forma similar a observada para o milho, no cultivo do sorgo, milho doce *Zea mays* subsp. *Saccharata* Sturtev. (Poaceae), capim-bermudas *Cynodon dactylon* (L.) Pers. (Poaceae) e do arroz *Oryza sativa* L. (Poaceae) observam-se perdas médias de 26, 24, 13 e 5%, respectivamente (OVERTON et al., 2021).

Além disso, na base de dados do site *Arthropod Pesticide Resistance Database* (2023) é possível verificar 194 casos de resistência de *S. frugiperda*, em várias partes do mundo, resultante do uso indiscriminado de inseticidas químicos sintéticos, tais como: organofosforados (ZHU et al., 2015), piretroides (GARCIA-LÉON; IMELDA et al., 2012; GUTIÉRREZ-MORENO, 2018; ZHAO et al., 2020; DAN-DAN ZHANG, 2021; APRD, 2023) e ainda grupo de inseticidas mais recentes como as diamidas (GUTIÉRREZ-MORENO, 2018; OKUMA et al., 2022). Ressalta-se também, a seleção de populações de insetos resistentes a plantas geneticamente modificadas, o que parece, em grande parte, decorrente do fato de vários produtores não adotarem a área de refúgio agrícola para retardar a seleção de populações resistentes (MORAES et al., 2015; GICHERE et al., 2022; PRASANNA et al., 2022).

Outro ponto a ser considerado é o efeito nocivo dos inseticidas químicos sintéticos, comumente empregados para o controle de *S. frugiperda*, sobre os inimigos naturais e polinizadores (BUENO et al., 2017; CARVALHO et al., 2019), o que justifica a necessidade da busca por novas substâncias que atuem no controle desse inseto-praga, mas que sejam atóxicas para organismos não-alvo.

3.2 Prospecção de substâncias para o controle de insetos

3.2.1 Seleção virtual de substâncias com atividade inseticida

Tendo em vista o grande número de substâncias conhecidas e o elevado custo das etapas para selecionar compostos com atividade biológica desejada, a pré-seleção dos mesmos, antes da execução dos ensaios biológicos, é uma alternativa para o desenvolvimento de novos produtos que visam ao controle de pragas (WALTERS & MURCKO, 2002). Com o avanço tecnológico e computacional, a ciência prevê um aumento da eficiência na descoberta de novos compostos bioativos. Nesse contexto, a triagem virtual, que tem suas raízes na química computacional e na biologia estrutural, está contribuindo positivamente para o planejamento de novas moléculas, de maneira a selecionar novas substâncias (PANDEY et al., 2019; SOUZA et al., 2020).

Entre as vantagens da aplicação da triagem virtual está a economia de recursos, uma vez que estes são realizados apenas no computador. Ou seja, sem a utilização de qualquer material químico e/ou biológico. Além disso, parâmetros como solubilidade, agregação, ou qualquer outra propriedade química ou biológica do composto, que possam inviabilizar o ensaio, não precisam ser considerados neste primeiro momento (KLEBE, 2006).

Todavia, para que se obtenha sucesso em uma triagem virtual, é imprescindível o conhecimento das propriedades responsáveis pelas interações entre o composto a ser avaliado e o sistema biológico, tais como: os critérios espaciais e energéticos responsáveis pela interação entre ligante e receptor que estão sob investigação (KLEBE, 2006). Uma vez identificada a afinidade entre as moléculas, faz-se necessária a validação experimental dos resultados por meio de ensaios biológicos (FENG et al., 2005). Assim, no que se refere à busca por novas substâncias com atividade inseticida, a química computacional se mostra promissora, e uma vez estabelecido o alvo é possível realizar simulações virtuais e selecionar as substâncias com potencial para o controle da praga.

3.2.1.1 Receptor de ecdisona (EcR)

Sabe-se que o crescimento de insetos difere, por exemplo, daquele observado para mamíferos, pois para que ocorra o aumento do tamanho é necessário realizar um processo denominado ecdise ou muda, que se trata do desprendimento da cutícula atual, para ser substituída por uma nova cutícula de tamanho maior (ZITNAN; ADAMS, 2012). O processo de ecdise nos insetos é mediado por hormônios denominados ecdisteroides, sendo o mais importante o composto orgânico

denominado 20-hidroxiecdisona (20E). A ação de 20E é desencadeada pela sua complexação ao receptor nuclear que é composto pelo receptor de ecdisona (EcR) e um ultraespiráculo (USP) (HARADA et al., 2011; HILL et al., 2013). O sítio de ligação do ecdisteroide se encontra no domínio de ancoramento do ligante da proteína EcR, que só formará um complexo efetivo com o ecdisteroide se estiver dimerizada com a proteína USP (HILL et al., 2013).

Consequentemente, o desequilíbrio na formação do complexo com o ecdisteroide pode resultar na muda precoce ou inibição da muda, prejudicando o desenvolvimento, crescimento e/ou promovendo a morte do inseto. Considerando isso, inseticidas reguladores de crescimento de insetos, os *Insect Growth Regulator Insecticides* (IGRs), denotam uma boa alternativa no mercado de agroquímicos, pois atuam em sistemas bioquímicos específicos, exclusivos de artrópodes, e, consequentemente, tendem a ser mais seletivos para espécies não-alvo (ROSELL et al., 2008; SALGADO, 2013).

Diante disso, um dos objetivos desse estudo foi avaliar a toxicidade de cinco substâncias que foram selecionadas por meio de triagem virtual por se ligarem ao EcR de *Chloridea virescens* (Fabricius, 1777) (Lepidoptera: Noctuidae), contra *S. frugiperda* em ensaios de ingestão alimentar.

3.2.2 Inseticidas botânicos

A atividade inseticida de produtos botânicos vem sendo frequentemente reportada na literatura, tais estudos estão em parte associados ao fato desses compostos terem uma tendência se serem menos tóxicos para organismos não-alvo (LAMPURI et al., 2020; BRICARELLO et al., 2021; STENGER et al., 2021). Além disso, acredita-se que tais produtos possam contribuir para uma agricultura mais sustentável, pois: tendem a retardar a seleção de populações de insetos resistentes; evitam a ressurgência e erupção de pragas; não causam contaminação ambiental e serem menos propensos a causarem problemas para a saúde humana (MOREIRA; ROQUE; LAGO, 2006).

A utilização de inseticidas botânicos para o controle de pragas é reportada desde os tempos mais remotos, a saber: Índia (2.000 a.C.), Egito (época dos faraós) e China (por volta de 1.200 a.C.). Em meados do século XVI, os europeus faziam o uso de diversas plantas para o controle de pragas. Entretanto, após a 2ª Guerra Mundial, os inseticidas botânicos perderam espaço para os inseticidas

organossintéticos, pois estes demonstraram maior eficiência nas mais diversas aplicações (MOREIRA et al., 2006).

Entre os inseticidas botânicos mais amplamente utilizados está o piretro, oriundo das flores secas de crisântemo *Tanacetum cinerariifolium* Sch. Bip. (Asteraceae), e alguns autores ainda consideram uma importante ferramenta de controle de insetos no mundo (YANKOVA & MARKOVA, 2019; HATEGEKIMANA & ERLER, 2022; ANTOLÍNEZ et al., 2023). A sua produção mundial foi dominada pela África central no século XX, entretanto a instabilidade política abriu espaço para empresários na Austrália, os quais passaram a liderar essa produção, tornando-se dominadora da maior área de cultivo de piretro do mundo (ISMAN, 2019).

Um outro exemplo da utilização de inseticida botânico é o óleo de neem *A. indica*, que teve o seu desenvolvimento comercial nos Estados Unidos e na Alemanha, muito embora seja uma planta originária da Índia (ISMAN; GRIENEISEN, 2014). Estudos do seu principal constituinte bioativo, a azadiractina, reportam além da atividade inseticida, efeitos subletais, tais como: atividade antialimentar, interferência no potencial reprodutivo, efeito ovicida, repelente, efeitos reguladores de crescimento, entre outros (SIMON ASCHER, 1993; BRUCE et al., 2004; ALBARIMAN et al., 2020).

São inúmeros os trabalhos que comprovam a atividade inseticida de óleos e/ou extratos de plantas para a lagarta-do-cartucho. Alves et al. (2016, 2020) constataram que a fração solúvel em diclorometano, proveniente do extrato metanólico das cascas do caule de *Duguetia lanceolata* St. Hil. (Annonaceae) apresentaram toxicidade para *S. frugiperda*. A atividade inseticida do OE de capim-limão *Cymbopogon flexuosus* (Nees ex Steud.) Stapf (Poaceae) também foi reportada, bem como do seu composto majoritário citral (OLIVEIRA et al., 2018). A toxicidade do extrato vegetal de *Nicotiana tabacum* Lineu (Solanaceae) e *Lippia javanica* (Burm., F.) Spreng (Verbenaceae) foi comprovada em ensaios de contato e ingestão, e ainda nesse estudo, constatou-se o efeito antialimentar dos extratos de *Cymbopogon citratus* (DC. ex Nees) Stapf. (Poaceae) e *A. indica* (PHAMBALA et al., 2020). O efeito inseticida dos OEs de *Vanillosmopsis arborea* Baker (Asteraceae) e *Lippia microphylla* Cham (Verbenaceae) sobre *S. frugiperda* também foi relatado por Alves et al. (2022), em ensaios de aplicação tópica na região protorácica dos insetos.

Embora existam muitos trabalhos voltados ao estudo da atividade inseticida de produtos botânicos, no Brasil a utilização de substâncias oriundas do metabolismo das plantas ainda é muito limitada, sendo o óleo de neem o único inseticida botânico

para o controle de *S. frugiperda* registrado junto ao Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA) (BRASIL, 2023).

Um dos fatores que podem explicar o fato dos esforços científicos na busca por inseticidas botânicos não refletirem no número de produtos comerciais disponíveis é a dificuldade de registro de novos produtos de origem botânica. Em alguns países, tais como: Estados Unidos e Austrália, alguns extratos e óleos de plantas apresentam facilidades para a tramitação do registro de inseticidas botânicos. A nível mundial, quem lidera o *ranking* de registro de produtos botânicos é a Korea (38), seguida pela China (16), Estados Unidos (13) e Índia (11) (ISMAN, 2006, 2019).

Ressalta-se ainda, que recentemente grandes empresas como a Bayer, portadoras no monopólio de inseticidas sintéticos, tem despertado o interesse na busca por inseticidas botânicos. O Requiem[®], produto comercializado pela Bayer Crop Science na América do Norte, foi desenvolvido com terpenoides de *Chenopodium ambrosoides* L. (Amaranthaceae) para o controle de insetos-pragas. O ingrediente ativo desse produto é uma combinação de três monoterpenos sintetizados que combinados se assemelham aos principais constituintes do OE dessa planta (ISMAN, 2019).

Embora a demanda por inseticidas botânicos tenha crescido significativamente pelo mundo, existem outros fatores que limitam a comercialização desses produtos, entre eles, a baixa estabilidade das formulações durante o processo de armazenamento e transporte, fotodegradação em campo e a grande necessidade de ingrediente ativo para atingir o inseto-alvo (ISMAN, 2016). Para tanto, considera-se a importância de novas formulações que possam ser usadas para contornar essa problemática (MOSSA, 2016; WADHWA et al., 2017).

3.2.3 Formulações de inseticidas botânicos

3.2.3.1 Nanoformulações de inseticidas botânicos

A nanotecnologia é uma ciência interdisciplinar que trabalha com partículas na escala nanométrica. Vale lembrar que um nanômetro equivale a 10^{-9} m, ou seja, um bilionésimo de metro. Em escala tão pequena, não é incomum se observar algumas modificações de propriedades da matéria (RESCH; FARINA, 2015).

A tecnologia em nanoescala vem atraindo olhares nos últimos anos. Investimentos em nanociência estão presentes em todas as áreas de conhecimento e movimentam bilhões de dólares pelos órgãos e agências de fomento à pesquisa e

desenvolvimento em todo o mundo (FERREIRA et al., 2009). Esse sucesso se deve sobretudo à capacidade de melhorar o desempenho de vários produtos, se comparado com a mesma estrutura, mas com tamanhos de partículas maiores. Tais modificações ocorrem conforme mudam os níveis de energia (GATOO et al., 2014; PATTAN; KAUL, 2014; SALEM et al., 2023).

Assim, a nanotecnologia se apresenta como uma excelente ferramenta para resolver problemas da agricultura (USMAN et al., 2020). Na produção agrícola é possível aplicar a nanotecnologia no processo de produção de insumos para o tratamento de sementes, como pesticidas e fertilizantes; no monitoramento e microgestão de produção em larga escala com a aplicação de nanosensores e nanobiossensores com vistas à identificação de doenças e resíduos de pesticidas; em nanodispositivos para a manipulação genética das plantas; e ainda na gestão da pós-colheita, para o processamento de alimentos, atuando nas propriedades nutricionais, em novas funcionalidades da embalagem e agregando mais valor ao alimento (MARTINS, 2010; RESCH & FARINA, 2015).

Dentre as várias áreas de interesse da nanotecnologia, encontra-se o desenvolvimento de nanoformulações. Como exemplo de nanoformulações é possível citar as nanocápsulas e as nanoemulsões. As nanocápsulas são compostas por um invólucro polimérico disposto ao redor do núcleo que contém o composto ativo. Esse invólucro polimérico confere proteção contra o oxigênio, a água e a luz, permitindo assim, uma liberação de forma controlada da substância ativa e prevenindo o contato com outros componentes em uma mistura (ASSIS et al., 2012; USMAN et al., 2020).

As nanoemulsões, consistem em uma dispersão fina composta por uma fase oleosa e uma fase aquosa, com tamanho de partículas em escala nanométrica, e a elas também é atribuída a característica de maior estabilidade dos compostos voláteis frente as condições adversas, e a liberação controlada dos princípios ativos (GUTIÉRREZ et al., 2008; ASSIS et al., 2012; DIAS et al., 2014).

No que se refere aos agroquímicos em nanosistemas, os estudos evidenciam que os mesmos demonstram eficácia de cerca de 20-30% superior, quando comparados ao mesmo material em microescala (KAH et al., 2018; KAH; TUFENKJI; WHITE, 2019). Desse modo, espera-se que com a aplicação da nanotecnologia no desenvolvimento de inseticidas seja possível melhorar a estabilidade e liberação dos ingredientes ativos, além minimizar os possíveis efeitos tóxicos sobre os inimigos

naturais dos insetos-pragas (RAMPELOTTI-FERREIRA et al., 2017; PREETHA et al., 2018; IKAWATI et al., 2020).

Logo, a nanotecnologia se mostra como potencial ferramenta para mitigar os problemas que permeiam a utilização dos produtos botânicos, visto que uma vez nanoformulados esses produtos podem apresentar maior estabilidade, liberação controlada e, é comum que seja necessária menor quantidade do ingrediente ativo para atingir o alvo (KAH et al., 2019; ABDELAAL et al., 2021; CHAUDHARI et al., 2021; PEREIRA et al., 2022). Para exemplificar, é possível citar os trabalhos de Ikawati et al. (2020, 2021) que comprovaram que nanopartículas carregadas com o OE de cravo *Syzygium aromaticum* (L.) Merr. & L.M.Perry (Myrtaceae), tóxico para *Cryptolestes ferrugineus* (Stephens, 1831) (Coleoptera: Laemophloeidae) e *Tribolium castaneum* (Herbst, 1797) (Coleoptera: Tenebrionidae), mantiveram os componentes do óleo intactos por mais tempo quando submetidas a aquecimento e tratamento com luz UV, quando comparadas ao OE em sua forma natural. Além disso, a formação das nanopartículas permitiu a liberação controlada dos ingredientes ativos no ambiente. Resultados semelhantes foram observados para as nanoemulsões feitas com os OEs de manjericão *Basilicum ocimum* L. (Lamiaceae), tomilho *Cuminum cyminum* L. (Apiaceae), camomila *Matricaria chamomilla* L. (Asteraceae) e manjerona *Origanum marjorana* L. (Lamiaceae), que causaram maiores taxas de mortalidade do pulgão do feijão-fradinho *Aphis craccivora* (CLKoch, 1854) (Hemiptera: Aphididae), quando comparadas com os seus OEs (ABDELAAL et al., 2021).

Nessa perspectiva, estudo recente conduzido pelo grupo de pesquisa em Entomologia Aplicada (GPEA), constatou o potencial inseticida do OE de *P. cablin* contra a lagarta-do-cartucho. A concentração letal mediana (CL₅₀) foi estimada 0,9270 ± 0,0286 mg de OE/mL de dieta. O OE foi nanoemulsionado e observou-se que a nanoemulsão apresentou maior toxicidade para *S. frugiperda* do que o OE em sua forma natural (SOUZA, 2022). Esse resultado vem reafirmando os indícios apontados na literatura, e abre uma perspectiva positiva no uso da nanotecnologia.

3.2.3.2 Complexo de inclusão com β-ciclodextrina (β-CD)

As ciclodextrinas (CDs) são oligossacarídeos cíclicos compostos por seis ou mais unidades de glicose, que possuem uma cavidade hidrofóbica e a superfície hidrofílica. As CDs mais importantes, e que possuem ocorrência natural são aquelas denominadas como: α (alfa), β (beta), e γ (gama) CDs. As CDs são receptores

versáteis para uma diversidade de moléculas, tanto no estado sólido, líquido e gasoso, o que permite a formação de complexos de inclusão do tipo receptor-substrato (DE VENTURINI et al., 2008; WADHWA et al., 2017). Contudo, pela característica lipofílica da cavidade, apenas substâncias apolares de tamanho compatível podem formar complexos de inclusão com CDs (WADHWA et al., 2017).

Além das CDs de derivados poderem ser utilizados em encapsulamentos moleculares com vistas a aumentar as solubilidades em água (MARQUES, 2010), podem ser empregados para aumentar a estabilidade contra a degradação devido à oxidação, incidência de luz e calor. Além disso, as CDs e derivados também podem ser utilizados para contornar problemas como a volatilidade de algumas substâncias, tais como os componentes de OEs (WADHWA et al., 2017).

A formação de complexos de inclusão de CDs com OEs apresenta aplicações na indústria farmacêutica, alimentícia e de cosméticos, nas quais os sucessos dessas aplicações abrem perspectivas para a utilização nas mais diversas áreas da indústria (VENTURINI et al., 2008; MARQUES, 2010; WADHWA et al., 2017; CAMPOS et al., 2018). São exemplos de medicamentos comerciais que são formados por complexo de inclusão com CDs: dexametosona (Glymesason[®]); piroxicam (Cliclado[®] e Brexin[®]); nimesulida (Mesulid[®]/Nimedex[®]); omeprazol (Omebeta[®]); nitroglicerina (Nitropen[®]); cloronfenicol (Clorocil[®]); diclofenaco de sódio (Voltaren Ophtha[®]); ziprasidona (Zeldox[®]/Geodon[®]), entre outros (CUNHA-FILHO, SÁ-BARRETO, 2017).

Em se tratando da bioatividade contra artrópodes-pragas, os trabalhos desenvolvidos até o momento estão concentrados na proteção e manutenção da toxicidade dos compostos voláteis presentes nos OEs, visando principalmente a manutenção da atividade repelente (TAVARES et al., 2018; SILVA; RICCI-JÚNIOR, 2020). A repelência contra o carrapato *Ixodes scapularis* (Say, 1821) (Ixodida: Ixodidae), por exemplo, foi otimizada após a formação do complexo de β -CD com o OE de *Nepeta cataria* L. (Lamiaceae) (HOGENBOM; ISTANBOULI; FARAONE, 2021).

Pode-se mencionar ainda que o complexo de inclusão de β -CD com o OE de *Rosmarinus officinalis* L. (Lamiaceae) e de alguns de seus constituintes majoritários reduziu a taxa de liberação dessas substâncias. As toxicidades dos compostos foram maiores quando eles estavam em sua forma livre, entretanto o tempo médio de liberação das substâncias complexadas com β -CD foi bem maior, aumentando a atividade inseticida, em ensaio de fumigação (ABADA et al., 2023). De forma relativamente análoga, os compostos timol, carvacrol e eugenol foram complexados

β -CD e com cocrystalos à base de fenazina para serem submetidos a ensaio de repelência com o besouro *Lasioderma serricorne* (Fabricius, 1792) (Coleoptera: Anobiidae). Ao contrário do constatado para os complexos formados pelos cocrystalos, nenhum daqueles obtidos com β -CD tiveram efeito de repelência para *L. serricorne* (MENICUCCI et al., 2022).

Em um dos poucos exemplos em que foi avaliada a atividade larvicida contra *Aedes aegypti* (Lineu., Hasselquist, 1762) (Diptera: Culicidae), constatou-se que a toxicidade foi muito semelhante para a mistura binária dos OEs de *Illicium verum* Hook. (Schisandraceae) e *Trachyspermum ammi* (L.) Sprague (Apiaceae), em sua forma natural e complexados com a β -CD. Os valores de CL_{50} foram de 27,67 mg/L⁻¹ (25,33–29,91) e 23,93 mg/L⁻¹ (22,51 – 25,20), respectivamente, para a mistura binária em sua forma natural e complexada com β -CD (PANDIYAN; MATHEW; MUNUSAMY, 2019).

Pode-se mencionar que nanopartículas de quitosana, funcionalizadas com β -ciclodextrina e complexadas com carvacrol ou linalol foram mais tóxicas para o ácaro *Tetranychus urticae* (KOCH, 1836) (Acari: Tetranychidae) do que quando avaliadas em sua forma natural. As atividades acaricida, de repelência e oviposição foram menores nas primeiras horas; entretanto persistiu com o passar do tempo, demonstrando maior estabilidade dos compostos. Talvez as nanopartículas de quitosana tenham contribuído para esse resultado (CAMPOS et al., 2018).

3.2.4 Planta selecionada para esse estudo

3.2.4.1 *Pogostemon cablin*

A espécie *P. cablin* é conhecida popularmente como *patchouli*. Trata-se de uma planta nativa da Ásia tropical, amplamente cultivada na Índia, Malásia, Filipinas, Indonésia e Singapura (KUMARASWAMY; ANURADHA, 2010). O OE de *patchouli* é geralmente obtido das folhas secas, por hidrodestilação, sendo produzidas cerca de 1.200 toneladas métricas/ano na Indonésia, principal fornecedor desse material (SRIVASTAVA et al., 2022).

O OE de *patchouli* é uma mistura de vários sesquiterpenos, sendo o patchoulol ou patchouli o seu constituinte majoritário. Esse composto é o responsável pelo aroma tradicional do óleo, que devido às suas propriedades de fixação, possui grande importância na perfumaria e aromaterapia (JAIN; PATEL; DESAI, 2022). Além da aplicação do OE de *P. cablin* na indústria de cosméticos, é reportada a atividade anti-

inflamatória, e antimicrobiana contra cepas bacterianas e fúngicas (SRIVASTAVA et al., 2022).

A atividade inseticida e de repelência do OE de patchouli foi constatada contra o besouro-da-farinha *T. castaneum* (PRADEEP BAGADE et al., 2021). Além disso, a sua atividade acaricida foi reportada para *Tetranychus cinnabarinus* (Boisduval, 1867) (Acari: Tetranychidae) por Cheng et al. (2020). Conseqüentemente, ambos os resultados sugerem que o OE de patchouli possa contribuir para o controle das pragas.

No que se refere aos ensaios conduzidos com lepidópteros, O OE de *P. cablin* teve sua toxicidade confirmada para larvas de *Choristoneura rosaceana* (Harris, 1841) (Lepidoptera: Tortricidae) (MACHIAL et al., 2010), e seu constituinte principal, o álcool de patchouli, apresentou forte atividade antialimentar; larvicida, oral e de contato; atividade ovicida moderada; aumento significativo do período de desenvolvimento larval e pupal; e ainda influenciou negativamente na emergência e deformidade das mariposas de *Spodoptera litura* (Fabricius, 1775) (Lepidoptera: Noctuidae) e de *Spodoptera exigua* (Hübner, 1808) (Lepidoptera: Noctuidae) (HUANG et al., 2014).

REFERÊNCIAS

- ABADA, M. et al. Encapsulation of *Rosmarinus officinalis* essential oil and of its main components in cyclodextrin: application to the control of the date moth *Ectomyelois ceratoniae* (Pyralidae). **Pest Management Science**, v. 79, n. 7, p. 2433-2442, 2023.
- ABDELAAL, K. et al. Toxicity of essential oils nanoemulsion against *Aphis craccivora* and their inhibitory activity on insect enzymes. **Processes**, v. 9, n. 4, p. 624, 2021.
- ALBARIMAN, N. H. et al. Insecticidal and repellent activities of Southeast Asia plants towards insect pests: A review. **Asian Journal of Chemistry**, v. 32, n. 5, p. 1026–1032, 2020.
- ALVES, C.L.A et al. Insecticidal activity of essential oils on *Spodoptera frugiperda* and selectivity to *Euborellia annulipes*. **Brasilian Journal of Biology**, v. 84, n. 260522, 2022.
- ALVES, D. S. et al. Selection of annonaceae species for the control of *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae) and metabolic profiling of *Duguetia lanceolata* using nuclear magnetic resonance spectroscopy. **Journal of Economic Entomology**, v. 109, n. 2, p. 649–659, 2016.
- ALVES, D. S. et al. *Duguetia lanceolata* A. St.-Hil. Stem bark produces phenylpropanoids lethal to *Spodoptera frugiperda* (JE Smith) (Lepidoptera: Noctuidae). **Crop Protection**, v. 127, n. 104965, 2020.
- ANTOLÍNEZ, C. A. et al. Assessment of renewable compounds as biopesticides for Asian citrus psyllid, *Diaphorina citri* (Kuwayama) (Hemiptera: Psyllidae). **Journal of Pest Science**, v. 96, n. 2, p. 663–670, 2023.
- Arthropod Pesticide Resistance Database**. Michigan State University. Disponível em: <https://www.pesticideresistance.org/search.php> . Acesso em: 04 junho 2022.
- ASSIS, L. M. DE et al. Revisão: características de nanopartículas e potenciais aplicações em alimentos. **Brazilian Journal of Food Technology**, v. 15, n. 2, p. 99–109, 2012.
- BOREGAS, G. B. K. et al. Estádio de adaptação de *Spodoptera frugiperda* (J. E. Smith) (Lepidoptera: Noctuidae) em hospedeiros alternativos. **Fitossanidade**, v. 1, n. 1, p. 61–70, 2013.
- BRASIL. Ministério da Agricultura e Pecuária. **O programa de Bioensumos**. Disponível em: <https://www.gov.br/agricultura/pt-br/assuntos/inovacao/bioensumos/o-programa>. Acesso em: abril 2023.
- BRICARELLO, P. A. et al. Ovicidal, larvicidal and oviposition repelling action of a nanoemulsion of citronella essential oil (*Cymbopogon winterianus*) on *Cochliomyia hominivorax* (Diptera: Calliphoridae). **Journal of Asia-Pacific Entomology**, v. 24, n. 3, p. 724–730, 2021.

- BRUCE, Y. A. et al. The effect of neem (*Azadirachta indica* A. Juss) oil on oviposition, development and reproductive potentials of *Sesamia calamistis* Hampson (Lepidoptera: Noctuidae) and *Eldana saccharina* Walker (Lepidoptera: Pyralidae). **Agricultural and Forest Entomology**, v. 6, p. 223-232, 2004.
- BUENO, A. DE F. et al. Seletividade de agrotóxicos nos inimigos naturais: Desafios e restrições para a pesquisa e recomendações de campo. **Ciência Rural**, Universidade Federal de Santa Maria, 2017, n. 47. <https://doi.org/10.1111/jen.12880>.
- CAMPOS, E. V. R. et al. Chitosan nanoparticles functionalized with β -cyclodextrin: A promising carrier for botanical pesticides. **Scientific Reports**, v. 8, n. 1, 2018.
- CARVALHO, G. A. et al. Physiological and ecological selectivity of pesticides for natural enemies of insects. Em: SOUSA, B.; VÁZQUEZ, L. L.; MURUCCI, R. C. (Eds.). **Natural Enemies of Insect Pests in Neotropical Agroecosystems**. Cham: Springer International Publishing, 2019. p. 469–478.
- CHAUDHARI, A. K. et al. Essential oils and their bioactive compounds as eco-friendly novel green pesticides for management of storage insect pests: prospects and retrospects. **Environmental Science and Pollution Research**, v. 28, p. 18910–18940, 2021.
- CHENG, Z. H. et al. Effects of patchouli and wormwood oils on the bioassays and behaviors of *Tetranychus cinnabarinus* (Boisduval) (Acari: Tetranychidae). **International Journal of Pest Management**, v. 66, n. 3, p. 271–278, 2020.
- 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.
- CIMMYT. **International maize and wheat improvement center**. Science wins a round in the fight against fall armyworm. Annual Report 2020. Disponível em: <https://repository.cimmyt.org/bitstream/handle/10883/21564/63896.pdf?sequence=1&isAllowed=y> . Acesso em: 20 abril 2023.
- DAN-DAN ZHANG, Y. X. P. X. X. Y. Q. W. E K. W. Insecticide resistance monitoring for the invasive populations of fall armyworm, *Spodoptera frugiperda* in China. **Journal of Integrative Agriculture**, v. 20, p. 783–791, 2021.
- DIAS, D. DE O. et al. Optimization of Copaiba oil-based nanoemulsions obtained by different preparation methods. **Industrial Crops and Products**, v. 59, p. 154–162, 2014.
- EPPO. Global Database. **First report of *Spodoptera frugiperda* in the Canary Islands, Spain**. Disponível em: <https://gd.eppo.int/reporting/article-6992>. Acesso em: 20 abril 2023.
- FENG, B. Y. et al. High-throughput assays for promiscuous inhibitors. **Nature Chemical Biology**, v. 1, n. 3, p. 146–148, 2005.
- FERREIRA, H. S.; DO, M.; RANGEL, C. Nanotecnologia: aspectos gerais e potencial de aplicação em catálise. **Química nova**, v. 32, n. 7, 1860.

- FIGUEIREDO, M. L. C.; DIAS, A. M. P. M.; CRUZ, I. Associação entre inimigos naturais e *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith, 1797) (Lepidoptera: Noctuidae) na cultura do milho. **Revista Brasileira de Milho e Sorgo**, v. 5, n. 3, p. 340–350, 2006.
- FIGUEIREDO, M. L. C.; PENTEADO-DIAS, A. M.; CRUZ, I. Danos provocados por *Spodoptera frugiperda* na produção de matéria seca e nos rendimentos de grãos, na cultura do milho maria. **Embrapa**, p. 1–6, 2005.
- GARCIA-LÉON; IMELDA et al. Susceptibilidade de *Spodoptera frugiperda* (J. E. Smith) piretroides e carbamatos. **Agrociencia**, p. 279, 2012.
- GATOO, M. A. et al. Physicochemical properties of nanomaterials: Implication in associated toxic manifestations. **BioMed Research International**, v. 2014, n. 498420, 2014.
- GICHERE, S. N.; KHAKAME, K. S.; PATRICK, O. Susceptibility evaluation of fall Armyworm (*Spodoptera frugiperda*) infesting maize in Kenya against a range of insecticides. **Journal of Toxicology**, v. 2022, n. 80079998, 2022.
- GILIOLI, G. et al. Assessing the risk of establishment and transient populations of *Spodoptera frugiperda* in Europe. **Journal of Pest Science**, 2022.
- GOERGEN, G. et al. First report of outbreaks of the fall armyworm *Spodoptera frugiperda* (J E Smith) (Lepidoptera, Noctuidae), a new alien invasive pest in West and Central Africa. **Plos One**, v. 11, n. 10, p. 1–9, 2016.
- GUTIÉRREZ, J. M. et al. Nano-emulsions: New applications and optimization of their preparation. **Current Opinion in Colloid and Interface Science**, v. 13, n. 4, p. 245-251, 2008.
- GUTIÉRREZ-MORENO, R. et al. Field-Evolved Resistance of the Fall Armyworm (Lepidoptera: Noctuidae) to Synthetic Insecticides in Puerto Rico and Mexico. **Journal Economic Entomology**, v. 21. n. 112 (2), p. 792-802, 2019.
- HARADA, T. et al. Virtual screening for ligands of the insect molting hormone receptor. **Journal of Chemical Information and Modeling**, v. 51, n. 2, p. 296–305, 2011.
- HATEGEKIMANA, A.; ERLER, F. Laboratory and field evaluation of a pyrethrum-based product (Agrothrin®) for the protection of stored beans from *Acanthoscelides obtectus* (Say) (Coleoptera: Chrysomelidae) in Rwanda. **International Journal of Tropical Insect Science**, v. 42, n. 1, p. 471–478, 2022.
- HE, H. et al. Synthesis, characterization of two matrine derivatives and their cytotoxic effect on Sf9 cell of *Spodoptera frugiperda*. **Scientific Reports**, v. 10, n. 1, 2020.
- SOUZA, D. H. DE. **Toxicidade de óleos essenciais de lamiáceas e da nanoemulsão de *Pogostemon cablin* (Blanco) Benth (Lamiaceae) para *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith, 1797) (Lepidoptera: Noctuidae)**. Dissertação (Mestrado) – Programa de Pós-Graduação em Recursos Naturais e Sustentabilidade, Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Santa Helena, 2022.

HILL, R. J. et al. Ecdysone receptors: From the ashburner model to structural biology. **Annual Review of Entomology**, v. 58, p. 251-271, 2013.

HOGENBOM, J.; ISTANBOULI, M.; FARAONE, N. Novel β -cyclodextrin and catnip essential oil inclusion complex and its tick repellent properties. **Molecules**, v. 26, n. 23, 2021.

HUANG, S. H. et al. Insecticidal activity of pogostone against *Spodoptera litura* and *Spodoptera exigua* (Lepidoptera: Noctuidae). **Pest Management Science**, v. 70, n. 3, p. 510–516, 2014.

IKAWATI, S. et al. Thermostability, photostability, and toxicity of clove oil nanoparticles against *Cryptolestes ferrugineus* (Stephens) (Coleoptera: Laemophloeidae). **Biodiversitas Journal of Biological Diversity**, v. 21, n. 10, p. 4764–4771, 2020.

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

ISMAN, M. B. Botanical Insecticides in the Twenty-First Century-Fulfilling Their Promise? **Annual Review of Entomology**, v. 65, p. 233-249, 2019.

ISMAN, M. B.; GRIENEISEN, M. L. Botanical insecticide research: Many publications, limited useful data. **Trends in Plant Science**, v. 19, n. 3, p. 140-145, 2014.

JACOMINI, D. et al. Extrato de tabaco no controle do besouro cascudinho de aviário. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 51, n. 5, p. 680–683, 2016.

JAIN, P. L. B.; PATEL, S. R.; DESAI, M. A. Patchouli oil: an overview on extraction method, composition and biological activities. **Journal of Essential Oil Research**, v. 34, n. 1, 2022.

JING, D. P. et al. Initial detections and spread of invasive *Spodoptera frugiperda* in China and comparisons with other noctuid larvae in cornfields using molecular techniques. **Insect Science**, v. 27, n. 4, p. 780-790, 2020.

KAH, M. et al. A critical evaluation of nanopesticides and nanofertilizers against their conventional analogues. **Nature Nanotechnology**, v. 13, n. 8, p. 677–684, 2018.

KAH, M.; TUFENKJI, N.; WHITE, J. C. Nano-enabled strategies to enhance crop nutrition and protection. **Nature Nanotechnology**, v. 14, p. 532-540, 2019.

KANDEL, S.; POUDEL, R. Fall Armyworm (*Spodoptera Frugiperda*) in Maize: An Emerging Threat in Nepal and its Management. **International Journal of Applied Sciences and Biotechnology**, v. 8, n. 3, p. 305–309, 2020.

KLEBE, G. Virtual ligand screening: strategies, perspectives and limitations. **Drug Discovery Today**, v. 11, n. 13-14, p. 580-594, 2006.

KUMARASWAMY, M.; ANURADHA, M. Micropropagation of *Pogostemon cablin* Benth. through Direct Regeneration for Production of True to Type Plants **Plant Tissue Culture and Biotechnology**, v. 20, n. 1, 2010.

LAMPIRI, E. et al. Insecticidal effect of *Dittrichia viscosa* lyophilized epicuticular material against four major stored-product beetle species on wheat. **Crop Protection**, v. 132, 2020.

MACHIAL, C. M. et al. Evaluation of the toxicity of 17 essential oils against *Choristoneura rosaceana* (Lepidoptera: Tortricidae) and *Trichoplusia ni* (Lepidoptera: Noctuidae). **Pest Management Science**, v. 66, n. 10, p. 1116–1121, 2010.

MARQUES, H. M. C. A review on cyclodextrin encapsulation of essential oils and volatiles. **Flavour and Fragrance Journal**, 2010.

MARTINS, P. R. Nanotechnology as a new techno-scientific paradigm of the nature, foods and agri-food systems transformation. **Dialnet**, v. 2, n. 2, 2010.

MENICUCCI, F. et al. Effects of trapped-into-solids volatile organic compounds on paper biodeteriogens. **International Biodeterioration and Biodegradation**, v. 174, 2022.

MONTEZANO, D. G. et al. Host Plants of *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae) in the Americas. **African Journals**, v. 26, n. 2, 2018.

MORAES, A. R. A.; LOURENÇÃO, A. L.; PATERNIANI, M. E. A. G. Z. Resistência de híbridos de milho convencionais e isogênicos transgênicos a *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae). **Bragantia**, v. 74, n. 1, p. 50–57, 2015.

MOREIRA, I. C.; ROQUE, N. F.; LAGO, J. H. G. Diterpene adducts from branches of *Xylopiya emarginata*. **Biochemical Systematics and Ecology**, v. 34, n. 11, p. 833–837, 2006.

MOSSA, A. T. 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.

MURCIA-MESEGUER, A. et al. Insecticidal toxicity of thirteen commercial plant essential oils against *Spodoptera exigua* (Lepidoptera: Noctuidae). **Phytoparasitica**, v. 46, n. 2, p. 233–245, 2018.

OKUMA, D. M. et al. Large-Scale Monitoring of the Frequency of Ryanodine Receptor Target-Site Mutations Conferring Diamide Resistance in Brazilian Field Populations of Fall Armyworm, *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae). **Insects**, v. 13, n. 7, 2022.

OLIVEIRA, E. R. et al. Toxicity of *Cymbopogon flexuosus* essential oil and citral for *Spodoptera frugiperda*. **Ciencia e Agrotecnologia**, v. 42, n. 4, p. 408–419, 2018.

OVERTON, K. et al. Global crop impacts, yield losses and action thresholds for fall armyworm (*Spodoptera frugiperda*): A review. **Crop Protection**. Elsevier, 2021. Disponível em:

https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0261219421001113?casa_token=k

6O5plyK7FwAAAAA:ZCUzTy0URSei9hBI-jKuU1S-3wPcRblcN8xALceHIJ3JesOjiG-9Y5NMKybe0xCoSCLQTtmVzAw . Acesso em: 20 abril 2023.

PANDEY, S. C. et al. Evaluation of antileishmanial potential of computationally screened compounds targeting DEAD-box RNA helicase of *Leishmania donovani*. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 121, p. 480–487, 2019.

PANDIYAN, G. N.; MATHEW, N.; MUNUSAMY, S. Larvicidal activity of selected essential oil in synergized combinations against *Aedes aegypti*. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 174, p. 549–556, 2019.

PATTAN, G.; KAUL, G. Health hazards associated with nanomaterials. **Toxicology and Industrial Health**, v. 30, n. 6, p. 499–519, 2014.

PAUL D. LYNE. Structure-based virtual screening: an overview. **Drug Discovery Today**, v. 7, n. 20, p. 1047–1055, 2002.

PEREIRA, K. DE C. et al. Characterization of *Zanthoxylum rhoifolium* (Sapindales: Rutaceae) essential oil nanospheres and insecticidal effects to *Bemisia tabaci* (Sternorrhyncha: Aleyrodidae). **Plants**, v. 11, n. 9, 2022.

PHAMBALA, K. et al. Bioactivity of common pesticidal plants on fall Armyworm Larvae (*Spodoptera frugiperda*). **Plants**, v. 9, n. 1, p. 1–10, 2020.

PIGGOTT, M. P. et al. Corn-strain or rice-strain? Detection of fall armyworm, *Spodoptera frugiperda* (JE Smith) (Lepidoptera: Noctuidae), in northern Australia. **International Journal of Tropical Insect Science**, v. 41, n. 4, p. 2607–2615, 2021.

PLESSIS, H.; SCHLEMMER, M. L.; VAN DEN BERG, J. The effect of temperature on the development of *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae). **Insects**, v. 11, n. 4, 2020.

PRASANNA, B. M. et al. Host plant resistance for fall armyworm management in maize: relevance, status and prospects in Africa and Asia. Theoretical and Applied Genetics. **Theoretical and Applied Genetics**. Springer, v. 135, p. 3897-3916, 2022.

PREETHA, S. et al. Effect of neem oil based nanoemulsion on egg parasitoid, *Trichogramma chilonis* (Ishii) (Hymenoptera: Trichogrammatidae). **Journal of Biological Control**, v. 32, n. 2, p. 103–107, 2018.

RAMPELOTTI-FERREIRA, F. T. et al. Selectivity of plant extracts for *Trichogramma pretiosum* Riley (Hym.: Trichogrammatidae). **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 138, p. 78–82, 2017.

RESCH, S.; FARINA, M. C. Knowledge map in nanotechnology in the food and agriculture sector. **Revista de Administracao Mackenzie**, v. 16, n. 3, p. 51–75, 2015.

ROSELL, G. et al. Biorational insecticides in pest management. **Journal of Pesticide Science**, v. 33, n. 2, p. 103-121, 2008.

ROSETTI, M. K. et al. *Duguetia lanceolata* A. St.-Hil. (Annonaceae) Essential Oil: Toxicity against *Spodoptera frugiperda* (J. E. Smith) (Lepidoptera: Noctuidae) and

Selectivity for the Parasitoid *Trichogramma pretiosum* Riley (Hymenoptera: Trichogrammatidae). **Agriculture**, v. 13, n. 2, p. 488, 2023.

SALEM, S. S. et al. A Comprehensive Review of Nanomaterials: Types, Synthesis, Characterization, and Applications. **Biointerface Research in Applied Chemistry**, v. 13, n. 1, 2023.

SALGADO, V. L. **Insecticide Mode of Action Technical Training Manual**. Basf Corporation ed. 2013.

SHYLESHA, A. N. et al. Studies on new invasive pest *Spodoptera frugiperda* (J. E. Smith) (Lepidoptera: Noctuidae) and its natural enemies. **Journal of Biological Control**, v. 32, n. 3, p. 145–151, 2018.

SILVA, M. R. M.; RICCI-JÚNIOR, E. An approach to natural insect repellent formulations: from basic research to technological development. **Acta Tropica**. Elsevier. v. 2012, n. 10419, 2020. Disponível em: https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0001706X19311970?casa_token=i0IB4R5sM6UAAAAA:CgmVveq-_X8du5iU1UkwavNGSvx6FiHkhl2WYmujqLgUJlJSJ56goGdfBccPC-Npe0p9UYWPyo. Acesso em: 04 junho 2023.

SIMON ASCHER, K. R. Nonconventional insecticidal effects of pesticides available from the neem tree, *Azadirachta indica*. **Archives of Insect Biochemistry and Physiology**, v. 22, n. 3-4, p. 433-449, 1993.

SOUZA, D. C. M. et al. Synthesis, antileishmania and cytotoxic activity of hydrazones from natural aldehydes. **Química Nova**, v. 43, n. 1, p. 50–57, 2020.

SRIVASTAVA, S. et al. Chemical investigation and biological activities of Patchouli (*Pogostemon cablin* (Blanco) Benth) essential oil. **Industrial Crops and Products**, v. 188, 2022.

STENGER, L. D. et al. Toxicity of essential oil of *Eugenia uniflora* (L.) to *Thaumastocoris peregrinus* (Hemiptera: Thaumastocoridae) and selectivity to the parasitoid *Cleruchoides noackae* (Lin & Hubert) (Hymenoptera: Mymaridae). **Crop Protection**, v. 147, 2021.

TAVARES, M. et al. Trends in insect repellent formulations: A review. **International Journal of Pharmaceutics**. Elsevier, v. 539, n. 1-2, p. 190-209, 2018.

TRIBONI, Y. B. et al. Effect of seed treatment with insecticides on the control of *Spodoptera frugiperda* (J. E. Smith) (Lepidoptera: Noctuidae) in soybean. **Arquivos do Instituto Biológico**, v. 86, 2019.

USMAN, M. et al. Nanotechnology in agriculture: Current status, challenges and future opportunities. **Science of the Total Environment**. Elsevier, v. 721, n. 137778, 2020.

VENTURINI, C.G. et al. Propriedades e aplicações recentes das ciclodextrina **Química Nova**. v. 31, n. 2. p. 360-368, 2008.

WADHWA, G. et al. Essential oil–cyclodextrin complexes: an updated review. **Journal of Inclusion Phenomena and Macrocyclic Chemistry**. Springer link, v. 89, p. 39-58, 2017.

YANKOVA, V.; MARKOVA, D. Biological activity of the product piretro natura ec towards the pests in vegetable crops grown in greenhouses. **Kew Knowledge Journal of Science**, v. 8, n. 3, 2019.

ZHAO, Y. X. et al. Susceptibility of fall armyworm, *Spodoptera frugiperda* (J.E.Smith), to eight insecticides in China, with special reference to lambda-cyhalothrin. **Pesticide Biochemistry and Physiology**, v. 168, 2020.

ZITNAN, D.; ADAMS, M. E. Neuroendocrine Regulation of Ecdysis. **Insect Endocrinology**. Elsevier. p. 253–309, 2012.

CAPÍTULO 1

**EFEITO SUBLETAL DE SUBSTÂNCIAS ORGÂNICAS SELECIONADAS
POR TRIAGEM VIRTUAL SOBRE *Spodoptera frugiperda*
(LEPIDOPTERA: NOCTUIDAE)**

RESUMO

Entre os fatores que oneram os sistemas de cultivo estão os insetos-pragas, sendo a lagarta-do-cartucho *Spodoptera frugiperda* uma das mais importantes pragas da agricultura. Seu potencial destrutivo está relacionado com a alta capacidade de dispersão, uma vez que usa como hospedeira cerca de 350 espécies de plantas. Os métodos mais amplamente utilizados no controle desse inseto polífago são os inseticidas químicos sintéticos e as plantas que expressam a proteína Bt, contudo, são inúmeros os relatos de populações resistentes a tais métodos. Dado o exposto, esse trabalho teve como objetivo avaliar a atividade biológica, em ensaio de ingestão alimentar, de 5 (cinco) substâncias selecionadas, entre milhões de compostos, por meio de triagem computacional por se complexarem ao receptor nuclear de ecdisona (EcR). As substâncias foram testadas na concentração 150 µg de substância/mL de dieta e, foi observada a redução das massas das lagartas alimentadas com a dieta contendo as substâncias: ZINC709777, ZINC15969575 e ZINC12548185. Esses compostos foram submetidos a novos ensaios nas concentrações de 150 e 300 µg de substância/mL de dieta. A substância mais promissora foi a ZINC15969575, que embora não tenha causado mortalidade dos indivíduos no prazo de 264 h, reduziu a massa das lagartas em 60% na maior concentração, quando comparado aos controles negativos. Além da redução da massa, foram observadas alterações nos parâmetros morfométricos, tais como: comprimento do corpo e comprimento e largura da cápsula cefálica, indicativo de que essa substância interferiu no desenvolvimento de *S. frugiperda*, e pode servir como base para o desenvolvimento de novos produtos que possam atuar no controle da lagarta.

Palavras-chave: química computacional; ensaios *in silico*; inseticidas reguladores do crescimento.

ABSTRACT

Among the factors that encumber cropping systems are insect pests, with the fall armyworm *Spodoptera frugiperda* being one of the most important pests in agriculture. Its destructive potential is related to its high dispersion capacity, since it uses about 350 species of plants as hosts. The most widely used methods to control this polyphagous insect are synthetic chemical insecticides and plants that express the Bt protein, however, there are numerous reports of populations resistant to such methods. Given the above, this study aimed to evaluate the biological activity, in a food intake assay, of 5 (five) selected substances, among millions of compounds, through computational screening because they are complex with the ecdysone nuclear receptor (EcR). The substances were tested at a concentration of 150 μg of substance/mL of diet and a reduction in the weight of caterpillars fed with the diet containing the substances: ZINC709777, ZINC15969575 and ZINC12548185 was observed. These compounds were submitted to new tests at concentrations of 150 and 300 μg of substance/mL of diet. The most promising substance was ZINC15969575, which, although it did not cause mortality within 264 h, reduced the mass of caterpillars by 60% at the highest concentration, when compared to negative controls. In addition to the reduction in mass, changes were observed in morphometric parameters, such as: body length and length and width of the cephalic capsule, indicating that this substance interfered with the development of *S. frugiperda*, and can serve as a basis for the development of new products that can act in the control of the caterpillar.

Keywords: computational chemistry; in silico assays; growth-regulating insecticides.

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Substâncias selecionadas computacionalmente para ensaio biológico sobre <i>Spodoptera frugiperda</i>	43
Tabela 2 - Média das massas de lagartas (mg) de <i>Spodoptera frugiperda</i> alimentadas com dieta artificial contendo substâncias selecionadas computacionalmente por se complexarem ao receptor nuclear da ecdisona	48
Tabela 3 - Tempo letal mediano (TL50) (horas) e probabilidade de sobrevivência (% \pm EP) de lagartas de <i>Spodoptera frugiperda</i> alimentadas com dieta artificial contendo substâncias selecionadas computacionalmente por se complexarem ao receptor nuclear da ecdisona.....	49
Tabela 4 - Média \pm EP para massa, comprimento corporal e medidas morfométricas da cápsula cefálica de lagartas <i>Spodoptera frugiperda</i> alimentadas com dieta artificial contendo a substância ZINC15969575, selecionada computacionalmente por se complexar ao receptor nuclear da ecdisona.....	51
Tabela 5 - Massa de lagartas de <i>Spodoptera frugiperda</i> alimentadas com dieta artificial contendo substâncias selecionadas computacionalmente por se complexarem ao receptor de ecdisona.....	52

1 INTRODUÇÃO

Entre os fatores que limitam o potencial produtivo das culturas estão as pragas agrícolas, dentre as quais se destacam os insetos (LUTYTSKA et al., 2019). Para exemplificar é possível mencionar a lagarta-do-cartucho *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith, 1797) (Lepidoptera: Noctuidae), que em sua fase larval se alimenta de estruturas vegetativas e reprodutivas das plantas, ocasionando diversos prejuízos em muitas culturas de importância econômica (HE et al., 2020; PAREDES-SÁNCHEZ et al., 2021). Como exemplo de culturas afetadas por *S. frugiperda*, pode-se mencionar: milho *Zea mays* L. (Poaceae), sorgo *Sorghum bicolor* (L.) Moench (Poaceae), soja *Glycine max* (L.) Merrill (Fabaceae), algodão *Gossypium herbaceum* L. (Malvaceae) e a cana-de-açúcar *Saccharum officinarum* L. (Poaceae) (BOREGAS et al., 2013; KANDEL & POUDEL, 2020).

A utilização de inseticidas e de plantas geneticamente modificadas, que expressam a proteína Bt, são os métodos mais amplamente difundidos para mitigar as altas populações de *S. frugiperda* (OVERTON et al., 2021). No entanto, o uso indiscriminado de tais métodos, vem ocasionando na seleção de populações de insetos resistentes, como apontam os dados do site *Arthropod Pesticide Resistance Database* (2023). Além disso, muitas das substâncias comercializadas para o controle da lagarta não são seletivas, pois apresentam toxicidade para insetos inimigos naturais de *S. frugiperda* e polinizadores (BUENO et al., 2017; QUIROGA-MURCIA et al., 2017; CARVALHO et al., 2019).

Diversos são os grupos de inseticidas usados para o controle de *S. frugiperda*, entretanto, pode-se destacar que os reguladores do crescimento de insetos, *Insect Growth Regulators* (IGRs) se apresentam promissores, uma vez que os receptores da ecdisona produzidos por lepidópteros diferem dos receptores de ecdisona produzidos por insetos das demais ordens (HILL et al., 2013; SUAREZ-LOPEZ et al., 2022). Entre os princípios ativos do grupo dos IGRs para o controle de *S. frugiperda* é possível mencionar o tebufenozide (N-tert-butil-N'-(4-etilbenzoil)-3,5-dimetilbenzohidrazida) (ZHENGWEI et al., 2019), que é uma diacilhidrazina introduzida no mercado para controlar pragas de lepidópteros na década de 90 (DHADIALLA et al., 1998, 2005; AGROFIT, 2022). Destaca-se ainda, que a especificidade desses inseticidas para lepidópteros é devida à alta afinidade dessas substâncias por receptores da ecdisona (EcR) presentes em insetos desta ordem (DHADIALLA et al., 1998; HILL et al., 2013).

Tais receptores diferem dos EcR produzidos por insetos de outras ordens, o que justifica a baixa toxicidade para inimigos naturais e polinizadores (HILL et al., 2013).

Os IGRs mediam o equilíbrio da ecdisona e/ou hormônio juvenil, de modo que tais substâncias se ligam ao EcR, pertencente à família dos receptores nucleares, que estão envolvidos no processo de muda, metamorfose e processos reprodutivos (FIAZ et al., 2018; MARTÍNEZ et al., 2021; PINTO et al., 2019), promovendo a muda precoce e ocasionando a morte do inseto (GELBIC et al., 2011).

Dado o exposto, substâncias que possuam interação com o EcR compreendem uma excelente alternativa na busca por novos inseticidas, que pode ser feita através da triagem virtual por meio de métodos computacionais (BLEICHER et al., 2003; RODRIGUES et al., 2012; WALTERS & MURCKO, 2000). Entre as vantagens da aplicação da triagem virtual está a economia de recursos, uma vez que a realização dessa seleção é dada apenas pelo uso de computadores, sem a utilização de testes experimentais (KLEBE, 2006).

Para a aplicação de tal método é necessário o conhecimento das propriedades responsáveis pelas interações entre o composto a ser avaliado e o sistema biológico, tais como: os critérios espaciais e energéticos responsáveis pela interação entre ligante e receptor que estão sob investigação (KLEBE, 2006). Após a seleção das moléculas com mais afinidades pela proteína, busca-se a validação dos resultados computacionais por meio dos ensaios biológicos (FENG et al., 2005).

Como o EcR é essencial para a sobrevivência de *S. frugiperda*, o presente estudo teve como objetivo determinar o efeito letal e subletal substâncias químicas, previamente selecionadas por meio de triagem virtual sobre *S. frugiperda*.

2 MATERIAIS E MÉTODOS

2.1 Obtenção das substâncias selecionadas por se ligarem ao EcR

As substâncias foram obtidas por meio de parceria com o professor Dr. Denilson Ferreira de Oliveira, do Departamento de Química da Universidade Federal de Lavras (UFLA), Lavras, Minas Gerais (MG). As substâncias foram selecionadas dentre as milhões de estruturas químicas disponíveis no banco de dados Zinc15 (<https://zinc15.docking.org/>; IRWIN et al., 2012). Os compostos foram selecionados por meio de triagem computacional por se complexarem ao EcR de *Chloridea virescens* (Fabricius, 1777) (Lepidoptera: Noctuidae).

2.2 Criação de *S. frugiperda*

As lagartas foram alimentadas com dieta artificial constituída de: feijão (166,66 g); gérmen de trigo (79,20 g); levedo de cerveja (50,70 g); ácido sórbico (1,65 g); ácido ascórbico (5,10 g); nipagin (3,15 g); formaldeído (4,15 mL); 4,15 mL de solução inibidora (ácido propiônico 18 mL, ácido fosfórico 43 mL, água 540 mL); ágar (30 g); água destilada (750 mL) e caldo de feijão (750 mL) (Parra, 2001). Aos adultos foi ofertada solução aquosa de mel a 10%, mantidos em gaiola de tubo PVC com dimensões de 20 cm de diâmetro x 20 cm de altura, cobertos por tecido voil. A criação e os ensaios biológicos foram mantidos em sala climatizada com temperatura de $25\pm 2^{\circ}\text{C}$, fotoperíodo de 12 h e umidade de $70 \pm 10\%$.

2.3 Toxicidade por via de ingestão sem chance de escolha de substâncias orgânicas selecionadas computacionalmente por se complexarem ao EcR

Nesse experimento foram empregadas 5 (cinco) substâncias computacionalmente selecionadas por se ligarem ao receptor da ecdisona (Tabela 1).

Tabela 1. Substâncias selecionadas computacionalmente para ensaio biológico sobre *Spodoptera frugiperda*

Código	Nome
Zinc15	
ZINC15969575	((1'R,3'R,3a'S,6a'R)-3'-((1H-indol-3-yl)methyl)-2,4',6'-trioxo-5'-phenethyl-3',3a',4',5',6',6a'-hexahydro-2'H-spiro[indoline-3,1'-pyrrolo[3,4-c]pyrrol]-2'-ium)
ZINC709777	((3S,11R)-11-(4-oxo-4H-chromen-3-yl)-3-phenyl-2,3,4,10,11,11a-hexahydro-1H-dibenzo[b,e][1,4]diazepin-1-one)
ZINC12548185	3-((S)-2-oxo-1,2,3,4-tetrahydroquinolin-3-yl)-N-((R)-phenyl(2-(trifluoromethyl)-1H-benzo[d]imidazol-6-yl)methyl)propanamide)
ZINC2094409	((6S,12aS)-2-(2-(1H-indol-3-yl)ethyl)-6-phenethyl-2,3,12,12a-tetrahydropyrazino[1',2':1,6]pyrido[3,4-b]indole-1,4(6H,7H)-dione)
ZINC1320154	((6S,12aS)-2-(2-(1H-indol-3-yl)ethyl)-6-(3-bromophenyl)-2,3,12,12a-tetrahydropyrazino[1',2':1,6]pyrido[3,4-b]indole-1,4(6H,7H)-dione)

*<https://zinc15.docking.org/>

Fonte: Autoria própria (2023)

As substâncias tiveram a toxicidade avaliada para *S. frugiperda*, em ensaio de ingestão, na concentração de 150 µg de substância/mL de dieta. Para tanto, 15 mg das substâncias foram dissolvidas em solução aquosa de Tween 80 a 1% (10 mL) e incorporadas em dieta artificial (100 mL) (ALVES et al., 2016). Alíquotas da dieta (1,5 cm diâmetro x 1,0 cm altura) foram transferidas para tubos de vidro (2,5 cm diâmetro x 8,0 cm de altura), dentro dos quais foram colocadas lagartas de 48 h de idade, previamente alimentadas com dieta artificial. Os tubos de vidro foram vedados com algodão hidrofílico. Foram realizadas 50 repetições por tratamento, sendo considerada a parcela experimental uma lagarta, mantida individualizada em um tubo de vidro. Os controles negativos foram dieta acrescida de água e de solução aquosa de Tween 80 a 1%. Enquanto, os controles positivos foram: 20-hidroxicidisona (20E) e o inseticida tebufenozida (N-tert-butil-N'-(4-ethylbenzoyl)-3,5-dimethylbenzohydrazide). As avaliações de sobrevivência foram realizadas 24, 48, 72, 96 e 120, 144 e 168 h após o oferecimento aos insetos da dieta contendo os tratamentos, tendo sido considerado morto o inseto que não respondia ao toque do pincel. Após 168 h da oferta da dieta contendo os tratamentos, a massa fresca de cada lagarta foi mensurada com balança analítica (SHIMADZU/MARTE - MODELO AUW-220).

2.4 Efeito subletal por via de ingestão sem chance de escolha de substâncias orgânicas selecionadas computacionalmente por se complexarem ao EcR

Nesse ensaio, as substâncias empregadas foram: ZINC709777, ZINC15969575 e ZINC12548185, as quais foram selecionadas por causarem reduções nas massas de lagartas de *S. frugiperda* conforme constatado em ensaio descrito acima (subitem 2.3). As substâncias (15 e 30 mg) foram dissolvidas em solução aquosa de Tween 80 a 1% (10 mL) para serem incorporadas em dieta artificial (100 mL) (ALVES et al., 2016). Assim, as concentrações finais de cada substância foram de 150 e 300 µg de substância/mL de dieta. O ensaio foi conduzido conforme descrito previamente (subitem 2.3).

Os controles negativos foram: dieta acrescida de água e de solução aquosa de Tween 80 a 1%. As avaliações de sobrevivência foram realizadas 24, 48, 72, 96 e 120, 144, 168, 192, 216, 240 e 264 h após o oferecimento aos insetos da dieta contendo os tratamentos, sendo considerado morto o indivíduo que não respondesse

ao toque do pincel (Acrilex® 062). Após 264 h da oferta da dieta contendo os tratamentos, as massas das lagartas foram mensuradas com a utilização de balança analítica (SHIMADZU/MARTE - MODELO AUW-220). As lagartas tiveram também as variáveis morfométricas analisadas, tais como: comprimento da cápsula cefálica; largura da cápsula cefálica e comprimento do corpo. As medidas foram realizadas com um paquímetro digital KALA® (mm).

2.5 Análises estatísticas

Os dados relativos à sobrevivência dos insetos, ao longo do tempo, foram analisados por meio do estimador não paramétrico de Kaplan–Meier e submetidos ao teste de log-rank usando pacote survival (Therneau and Lumley 2018). As curvas de sobrevivência foram comparadas pelo teste de comparação múltipla de Pairwise. Foi estimado o tempo letal mediano (TL₅₀), ou seja, tempo necessário para causar 50% de mortalidade em cada tratamento (subitem 2.3, 2.4).

Os dados referentes às massas dos insetos e às variáveis morfométricas foram analisados pelo procedimento GLM empregando a distribuição com melhor ajuste (subitem 2.3, 2.4). A qualidade do ajuste foi verificada por meio do gráfico meio normal de probabilidades com envelope de simulação. Quando houve diferença significativa entre os tratamentos, comparações múltiplas (Tukey post hoc teste) foram realizadas utilizando a função glht do pacote multcomp (Package multcomp 2023). Nos casos em que não houve qualidade de ajuste ao modelo GLM, os dados foram analisados pelo teste não-paramétrico de Kruskal-Wallis. Todas as análises foram realizadas no software R® versão (R CORE TEAM 2022).

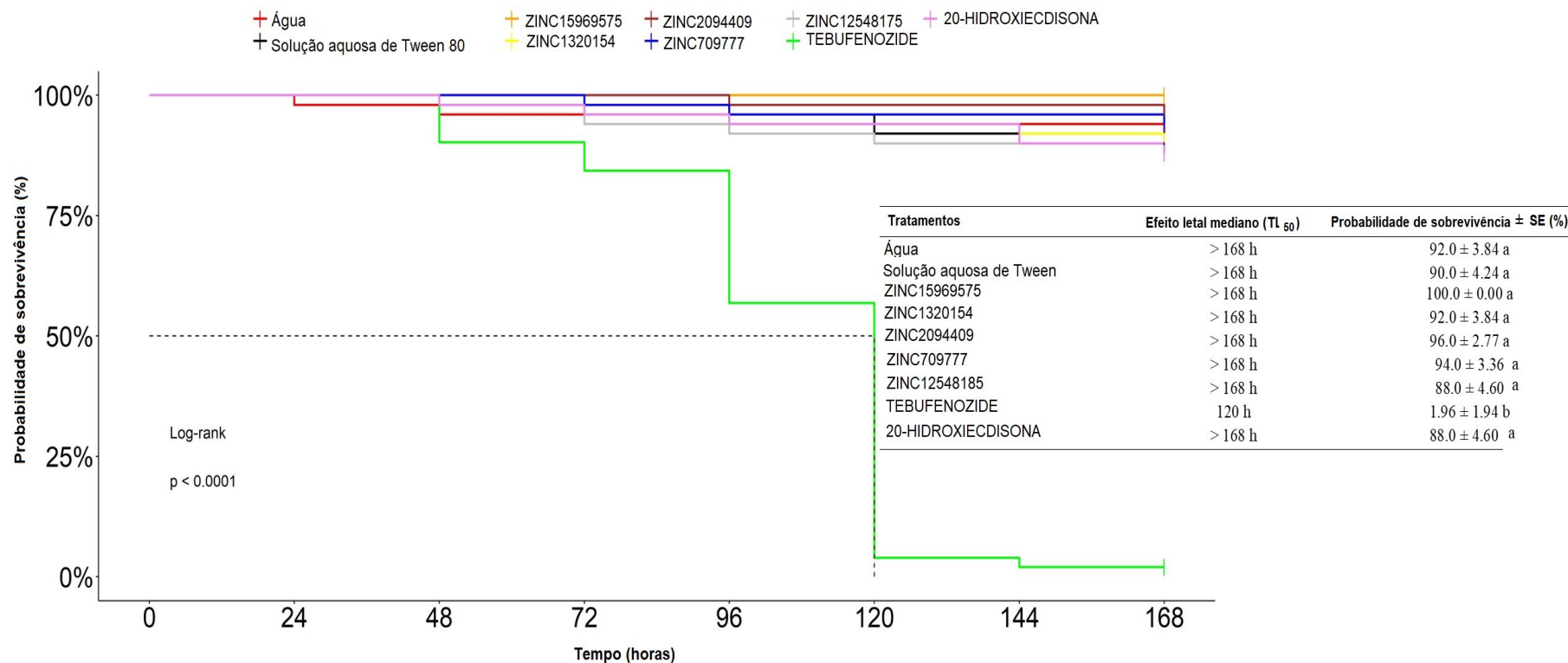
3 RESULTADOS

3.1 Toxicidade por via de ingestão sem chance de escolha de substâncias orgânicas selecionadas computacionalmente por se complexarem ao EcR

As substâncias selecionadas computacionalmente por se complexarem ao EcR não reduziram a sobrevivência das lagartas durante o período de avaliação do experimento (168 h). Apenas o padrão inibidor tebufenozide reduziu a probabilidade de sobrevivência dos insetos (1,9%), ao término do período de avaliação do

experimento, e causou TL₅₀ de 120 h, diferindo dos demais tratamentos ($X^2 = 350$; df = 8; $p \leq 0,001$) (Figura 1).

Figura 1 - Análise de sobrevivência de lagartas de *Spodoptera frugiperda* após ingestão de dieta contendo substâncias selecionadas por se complexarem ao receptor nuclear de ecdisona, na concentração de 150 µg de substância/mL de dieta. Os controles negativos foram água e solução aquosa de Tween 80 a 1%, e os controles positivos: 20-hidroxicdisona (20E) e tebufenozida.



*Médias seguidas pelas mesmas letras não diferem entre si de acordo com o método Pairwise.

Fonte: Autoria própria (2023)

Todavia, quando a variável analisada foi a massa das lagartas houve uma redução média de 42,8% para os insetos que receberam o tratamento com ZINC15969575, quando comparado com as lagartas alimentadas com os controles: dieta acrescida de água e de solução aquosa de Tween 80 a 1%. Embora os resultados não tenham sido tão pronunciados, as substâncias ZINC709777 e ZINC12548185 causaram redução média na massa dos insetos de 24,5 e 25,1%, respectivamente (Tabela 2).

Tabela 2. Média das massas de lagartas (mg) de *Spodoptera frugiperda* alimentadas com dieta artificial contendo substâncias selecionadas computacionalmente por se complexarem ao receptor nuclear da ecdisona

Tratamento	Massa da lagarta ± EP (mg)*
Água	39,31 ± 1,8994 a
Solução aquosa de Tween 80 a 1%	39,02 ± 2,0538 a
ZINC15969575***	22,37 ± 1,4344 c
ZINC1320154 ***	37,28 ± 2,1681 ab
ZINC2094409 ***	36,39 ± 1,7606 ab
ZINC709777 ***	29,55 ± 1,6296 bc
ZINC12548185 ***	29,35 ± 2,0428 bc
20-hidroxiecdisona (controle)	36,27 ± 2,1419 ab
Tebufenozide (controle)	**

F = 10,218; gl = 7; p ≤ 0,001

* As médias seguidas de letras distintas indicam diferenças significativas entre os tratamentos (GLM com distribuição normal seguida de teste post hoc de Tukey, p ≤ 0,001). ** Não foi possível avaliar este parâmetro devido à alta mortalidade observada neste tratamento. ***<https://zinc15.docking.org/>

Fonte: Aatoria própria (2023)

3.2 Efeito subletal por via de ingestão sem chance de escolha de substâncias orgânicas selecionadas computacionalmente por se complexarem ao EcR

As substâncias, mesmo empregadas em concentração duas vezes maior (300 µg de substância/mL da dieta), do que a usada no ensaio anterior (item 2.3), não acarretaram efeitos letais para os insetos no período de 264 h. As probabilidades de sobrevivência variaram entre 92 e 98% após 168 h do início do bioensaio (Tabela 3).

Tabela 3. Tempo letal mediano (TL₅₀) (horas) e probabilidade de sobrevivência (% ± EP) de lagartas de *Spodoptera frugiperda* alimentadas com dieta artificial contendo substâncias selecionadas computacionalmente por se complexarem ao receptor nuclear da ecdisona

Tratamentos	Tempo letal mediano (TL ₅₀) (horas)	Probabilidade de Sobrevivência (%) ± EP*
Água	> 216 h	98,0 ± 1,98 a
Solução aquosa de Tween 80	> 216 h	94,0 ± 3,36 a
ZINC709777 (150 µg de substância/mL de dieta)	> 216 h	94,0 ± 3,36 a
ZINC709777 (300 µg de substância/mL de dieta)	> 216 h	96,0 ± 2,77 a
$X^2 = 1.2; gl = 3; p = 0,7$		
Água	> 216 h	94,0 ± 3,36 a
Solução aquosa de Tween 80	> 216 h	94,0 ± 3,36 a
ZINC15969575 (150 µg de substância/mL de dieta)	> 216 h	96,0 ± 2,77 a
ZINC15969575 (300 µg de substância/mL de dieta)	> 216 h	98,0 ± 1,98 a
$X^2 = 1.3; gl = 3; p = 0,7$		
Água	> 216 h	92,0 ± 3,84 a
Solução aquosa de Tween 80	> 216 h	98,0 ± 1,98 a
ZINC12548185 (150 µg de substância/mL de dieta)	> 216 h	96,0 ± 2,77 a
ZINC12548185 (300 µg de substância/mL de dieta)	> 216 h	92,0 ± 3,84 a
$X^2 = 2,6; gl = 3; p = 0,4$		

* Média seguidas da mesma letra não diferem entre si pelo teste Pairwise.

Fonte: A autoria própria (2023)

As lagartas alimentadas com a substância ZINC15969575, a qual causou maior redução na massa das de lagartas no ensaio anterior (subitem 2.4) apresentou maior interferência no crescimento de *S. frugiperda* nesse ensaio. Foi observada redução na massa de 37,6 e 61,1% para as concentrações de 150 e 300 µg da substância/mL de dieta, respectivamente, quando comparadas aos controles negativos. O comprimento do corpo foi de 23,2 e 39,4 mm; largura da cápsula cefálica de 10,9 e 16,2 mm e comprimento da cápsula cefálica de 12,56 e 20,60 mm, respectivamente, para as concentrações de 150 e 300 µg da substância/mL de dieta; todas as medições

sendo estatisticamente inferiores às encontradas para os controles negativos (Tabela 4).

Tabela 4. Média \pm EP para massa, comprimento corporal e medidas morfométricas da cápsula cefálica de lagartas *Spodoptera frugiperda* alimentadas com dieta artificial contendo a substância ZINC15969575, selecionada computacionalmente por se complexar ao receptor nuclear da ecdisona

Tratamento	Massa da lagarta (mg) *	Comprimento Corporal (mm) **	Largura da cápsula cefálica (mm) ***	Comprimento da cápsula cefálica (mm) ***
Água (controle)	166,67 \pm 3,3287 a	19,74 \pm 0,2851 a	1,75 \pm 0,0399 a	2,03 \pm 0,0408 a
Solução aquosa de Tween 80 (controle)	157,21 \pm 5,7176 a	18,73 \pm 0,4485 a	1,71 \pm 0,0265 a	1,95 \pm 0,0255 a
ZINC15969575 (150 μ g da substância/mL de dieta)	100,98 \pm 6,1785 b	14,77 \pm 0,5041 b	1,54 \pm 0,0334 b	1,74 \pm 0,0387 b
ZINC15969575 (300 μ g da substância/mL da dieta)	63,02 \pm 3,4502 c	11,66 \pm 0,3862 c	1,45 \pm 0,0381 b	1,58 \pm 0,0396 b
	F=104,23; gl = 3; p \leq 0,001	X ² = 96,951; gl = 3; p \leq 0,001	X ² = 46,747; gl= 3; p \leq 0,001	X ² = 70,103; gl = 3; p \leq 0,001

* As médias seguidas de letras distintas indicam diferenças significativas entre os tratamentos (GLM com distribuição normal seguida de teste post hoc de Tukey, p \leq 0,001). ** Médias seguidas por letras distintas indicam diferenças significativas entre os tratamentos (GLM com distribuição Quase-Poisson seguida de teste post hoc de Tukey, p \leq 0,001). *** As médias seguidas por letras distintas indicam diferenças significativas entre os tratamentos pelo teste de Kruskal-Wallis.

Fonte: A autoria própria (2023)

A substância ZINC12548185 causou redução nas massas das lagartas, quando empregada na concentração de 300 µg/mL de dieta, enquanto a substância ZINC709777 forneceu valores estatisticamente iguais aos observados para as testemunhas (Tabela 5).

Tabela 5. Massa de lagartas de *Spodoptera frugiperda* alimentadas com dieta artificial contendo substâncias selecionadas computacionalmente por se complexarem ao receptor de ecdisona

Tratamento	Massa da lagarta (mg) ± SE
Água	162,08 ± 3,6398 a*
Solução aquosa de Tween	151,75 ± 2,3300 a
ZINC709777 (150 µg de substância/mL de dieta)	137,57 ± 3,5304 ab
ZINC709777 (300 µg de substância/mL de dieta)	129,12 ± 3,4878 ab
F = 5,7898; gl = 3; p ≤ 0,001	
Água	158,52 ± 5,3148 a **
Solução aquosa de Tween	151,22 ± 4,4111 a
ZINC12548185 (150 µg de substância/mL de dieta)	158,62 ± 4,1732 a
ZINC12548185 (300 µg de substância/mL de dieta)	135,62 ± 5,0352 b
X ² = 15.075; df = 3; p ≤ 0,001	

* As médias seguidas de letras distintas indicam diferenças significativas entre os tratamentos (GLM com distribuição gaussiana seguida de teste post hoc de Tukey, p ≤ 0,001). ** As médias seguidas de letras distintas indicam diferenças significativas entre os tratamentos pelo teste não paramétrico de Kruskal-Wallis.

Fonte: Autoria própria (2023)

4 DISCUSSÃO

Embora nesse estudo não tenha sido constatada a atividade letal para *S. frugiperda* das substâncias selecionadas por meio de triagem computacional, foi possível observar efeitos subletais para esse inseto, como redução significativa da massa e de parâmetros morfométricos após o consumo total da dieta ofertada (APENDICE A). O composto ZINC15969575 foi capaz de causar redução de 37,6% e 61,1% na massa das lagartas, após 264 h do início do ensaio, quando foi oferecida a

dieta nas concentrações de 150 e 300 µg de substância/mL de dieta. Além de promover a redução da massa, os parâmetros morfométricos: comprimento do corpo da lagarta e comprimento e largura da cápsula cefálica foram reduzidos em 37,6 e 61,1 %, 12,56 e 20,6 % e 10,9 e 16,2% respectivamente, quando comparada a média constatada para os controles negativos (Tabela 4).

A redução na largura da cápsula cefálica, constatada nesse estudo, é um resultado que merece atenção, haja vista que configura a interferência da substância no processo de desenvolvimento de *S. frugiperda*, pois essa dimensão serve como parâmetro para estabelecer a taxa de crescimento dos insetos (SANTOS et al., 2003). Ao se comparar os valores encontrados para os parâmetros morfométricos mensurados nos controles negativos (Tabela 4) desse trabalho, observa-se que estão de acordo com dados descritos na literatura. Sendo reportado que para lagartas de *S. frugiperda* de quinto instar, alimentadas com dieta semi-artificial, o padrão da largura da cápsula cefálica observado varia entre 1,86 e 2,17 mm e o padrão do comprimento varia entre 1,86 e 2,05 mm (GOPALAKRISHNAN; KALIA, 2022). Esses valores são superiores aos constatados para a substância ZINC15969575 (largura: 1,54 e 1,45 mm e comprimento: 1,74; 1,58 mm da cápsula cefálica).

Vale ainda ressaltar que a redução no tamanho e massa das lagartas, pode causar alterações no desenvolvimento, promovendo atraso na metamorfose, deformações morfológicas e redução da fertilidade e fecundidade (GELBIC; ADEL; HUSSEIN, 2011; PINTO et al., 2019; MAHMOUD et al., 2023). Essas análises se assemelham com os efeitos causados pelo IGRs, tebufenozida, em ensaios realizados com a broca-europeia-do-milho *Ostrinia nubilalis* (Hübner, 1796) (Lepidoptera: Pyralidae) (TRISYONO; CHIPPENDALE, 1997), e a mariposa *Cyndia pomonella* (Linnaeus, 1758) (Lepidoptera: Tortricidae) (SMAGGHE et al., 2004), em que uma vez submetidos aos tratamentos com o tebufenozida, os insetos apresentaram redução do crescimento, atraso no desenvolvimento e a redução da capacidade reprodutiva.

Dado o exposto, constatou-se que os compostos que foram selecionados previamente por triagem computacional, entre milhões de substâncias por se ligarem ao receptor nuclear de ecdisona de *C. virencens*, reduziram a massa e os padrões morfométricos das lagartas que se alimentaram da dieta contendo os tratamentos, logo, fica evidente que eles se ligam ao EcR de *S. frugiperda*.

Todavia, essa interação pode se dar de forma agonista ou antagonista do 20E. Os agonistas de 20E estão entre as principais classes dos inseticidas reguladores de crescimento de lepidópteros, pois exercem sua atividade se ligando ao sítio de ligação de 20E promovendo hiperecdisonismo (DHADIALLA et al., 2005, 2010). Como consequência disso, o inseto cessa a sua alimentação, resultando no atraso do desenvolvimento e uma muda precoce, levando o inseto a morte. Também é possível que ocorra o efeito antagonista da substância ao se ligarem ao sítio de ligação de 20E, nesse caso, essa ligação impede que o receptor de ecdisona cumpra sua função (ZOU et al., 2018). Ambos os efeitos resultam em um desequilíbrio do desenvolvimento do inseto, podendo levá-lo a morte.

De tal modo, os resultados obtidos nesse estudo podem ser devido ao efeito agonista ou antagonista nos receptores do 20E, porém, para se confirmar essa hipótese são necessários estudos mais avançados que avaliem a expressão dos genes envolvidos nesse processo (HU et al., 2018; ZOU et al., 2018). Logo, estudos com substâncias que possuem afinidade com a proteína ECR do receptor nuclear de ecdisona apresentam-se como um alvo promissor para identificar IGRs para o controle de pragas, pois esta é uma proteína chave nos processos de muda e reprodução de insetos (KLEBE, 2006; PINTO et al., 2019). Nesse sentido, a triagem virtual constitui uma importante ferramenta, pois possibilita realizar milhares de simulações em um curto período, sem dispor de nenhum material biológico, resultando em economia de recursos e tempo (KLEBE, 2006).

Além disso, uma vez confirmada a atividade biológica de substâncias selecionadas por triagem virtual, essas podem servir como um importante ponto de partida para obtenção de novos produtos que se liguem mais eficientemente à proteína EcR do receptor nuclear de ecdisona do inseto, podendo inclusive serem usados como inseticidas. Esse é um estudo inédito que pode servir como base para o desenvolvimento de novos produtos que possam atuar no controle de *S. frugiperda*.

5 CONCLUSÃO

A substância ZINC15969575, selecionada por meio de triagem computacional por se complexar ao EcR interferiu no desenvolvimento de *S. frugiperda*. Essa substância causou redução nas massas, redução do comprimento do corpo e do comprimento e largura da cápsula cefálica de *S. frugiperda*.

REFERÊNCIAS

- ALVES, D. S. et al. Selection of annonaceae species for the control of *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae) and metabolic profiling of *Duguetia lanceolata* using nuclear magnetic resonance spectroscopy. **Journal of Economic Entomology**, v. 109, n. 2, p. 649–659, 2016.
- BLEICHER, K. H. et al. Hit and lead generation: Beyond high-throughput screening. **Nature Reviews Drug Discovery**, v. 2, p. 369-378, 2003.
- BOREGAS, G. B. K. et al. Estádio de adaptação de *Spodoptera frugiperda* (J. E. Smith) (Lepidoptera: Noctuidae) em hospedeiros alternativos. **Fitossanidade**, v. 1, n. 1, p. 61–70, 2013.
- BUENO, A. DE F. et al. Seletividade de agrotóxicos nos inimigos naturais: Desafios e restrições para a pesquisa e recomendações de campo. **Ciência Rural**, Universidade Federal de Santa Maria, 2017, n. 47. <https://doi.org/10.1111/jen.12880>
- CARVALHO, G. A. et al. Physiological and Ecological Selectivity of Pesticides for Natural Enemies of Insects. Em: SOUSA, B.; VÁZQUEZ, L. L.; MURUCCI, R. C. (Eds.). **Natural Enemies of Insect Pests in Neotropical Agroecosystems**. Cham: Springer International Publishing, p. 469–478, 2019.
- DHADIALLA, T. S.; CARLSON, G. R.; LE, D. P. New insecticides with ecdysteroidal and juvenile hormone activity. **Annual Review of Entomology**, v. 43, p 545-569, 1998.
- DHADIALLA, T. S.; RETNAKARAN, A.; SMAGGHE, G. Insect Growth-and Development-Disrupting Insecticides. **Insect control: biological and synthetic agents. Universiteit Gent**, p. 121-181, 2010.
- FENG, B. Y. et al. High-throughput assays for promiscuous inhibitors. **Nature Chemical Biology**, v. 1, n. 3, p. 146–148, 2005.
- FIAZ, M. et al. Toxicological and morphological effects of tebufenozide on *Anticarsia gemmatalis* (Lepidoptera: Noctuidae) larvae. **Chemosphere**, v. 212, p. 337–345, 2018.
- GELBIC, I.; ADEL, M. M.; HUSSEIN, H. M. Effects of nonsteroidal ecdysone agonist RH-5992 and chitin biosynthesis inhibitor lufenuron on *Spodoptera littoralis* (Boisduval, 1833). **Central European Journal of Biology**, v. 6, n. 5, p. 861–869, 2011.
- GOPALAKRISHNAN, R.; KALIA, V. K. Biology and biometric characteristics of *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae) reared on different host plants with regard to diet. **Pest Management Science**, v. 78, n. 5, p. 2043–2051, 2022.
- HE, H. et al. Synthesis, characterization of two matrine derivatives and their cytotoxic effect on Sf9 cell of *Spodoptera frugiperda*. **Scientific Reports**, v. 10, n. 1, 2020.

HILL, R. J. et al. Ecdysone receptors: From the ashburner model to structural biology. **Annual Review of Entomology**, v. 58, p. 251-271, 2013.

HU, X. et al. Identification of novel agonists and antagonists of the ecdysone receptor by virtual screening. **Journal of Molecular Graphics and Modelling**, v. 81, p. 77–85, 2018.

IRWIN, J. J. et al. **ZINC**: A free tool to discover chemistry for biology. *Journal of Chemical Information and Modeling*. **American Chemical Society**, v. 52, n. 7, p. 1757-1768, 2012.

KANDEL, S.; POUDEL, R. Fall Armyworm (*Spodoptera frugiperda*) in maize: An emerging threat in nepal and its management. **International Journal of Applied Sciences and Biotechnology**, v. 8, n. 3, p. 305–309, 2020.

KLEBE, G. Virtual ligand screening: strategies, perspectives and limitations. **Drug Discovery Today**, v. 11, n. 13-14, p. 580-594, 2006.

LUTYTSKA, N. V. et al. Soybean insect pests: a review of Ukrainian and world data. **Ukrainian Journal of Ecology**, v. 9, n. 3, p. 208–213, 2019.

MAHMOUD, M. A. et al. Effect of three insect growth regulators on certain biological aspects of the lesser grain borer, *Rhyzopertha dominica* (Coleoptera: Bostrichidae). **Brazilian journal of biology**, v. 82, 2023.

MARTÍNEZ, L. C.; PLATA-RUEDA, A.; SERRÃO, J. E. Effects of insect growth regulators on mortality, survival, and feeding of *Euprosterina elaeasa* (Lepidoptera: Limacodidae) larvae. **Agronomy**, v. 11, n. 10, 2021.

OVERTON, K. et al. Global crop impacts, yield losses and action thresholds for fall armyworm (*Spodoptera frugiperda*): A review. **Crop Protection**, v. 145, n. 3, p. 105641, 2021.

Package mulcomp (2023). Disponível em:
<https://cran.project.org/web/packages/multcomp/multcomp>.

PAREDES-SÁNCHEZ, F. A. et al. Advances in control strategies against *Spodoptera frugiperda*. A review. **Molecules**. MDPI, v. 26 (18), n. 5587, 2021.

PINTO, C. P. G. et al. Compared activity of agonist molecules towards ecdysone receptor in insect cell-based screening system. **Arquivos do Instituto Biológico**, v. 86, 2019.

QUIROGA-MURCIA, D. E. et al. Toxicity evaluation of two insecticides on *Tetragonisca angustula* and *Scaptotrigona xanthotricha* (Hymenoptera: Apidae). **Agronomia Colombiana**, v. 35, n. 3, p. 340–349, 2017.

R Core Team (2022). R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna. Disponível em: <https://www.R-project.org>. Acesso em: 10 junho 2022.

RODRIGUES, R. P. et al. Virtual screening strategies in drug design. **Revista Virtual de Química**, v. 4, n. 6, p. 739–776, 2012.

SANTOS, L. M.; REDAELLI, L. R.; EFROM, L. M. G. Larval and pupal stage of *Spodoptera frugiperda* (J. E. smith) (Lepidoptera: Noctuidae) in sweet and field corn genotypes. **Brazilian Journal of Biology**, v. 63, n. 4, p. 627–633, 2003.

SMAGGHE, G. et al. Tebufenozide distorted codling moth larval growth and reproduction, and controlled field populations. **Annals of Applied Biology. An Internatiotal Journal of the aabb**, v. 145, p. 291–298, 2004.

SUAREZ-LOPEZ, Y. A. et al. Interactions of entomopathogens with insect growth regulators for the control of *Spodoptera littoralis* (Lepidoptera: Noctuidae). **Biological Control**, v. 170, 2022.

TRISYONO A.; CHIPPENDALE, A. M. Effect of the Nonsteroidal Ecdysone Agonists, Methoxyfenozide and Tebufenozide, on the European corn borer (Lepidoptera: Pyralidae). **Journal of Economic Entomology**, v. 90, n. 6, p. 1486-1492, 1997.

WALTERS, P.; MURCKO, M. A. Library Filtering Systems and Prediction of Drug-Like Properties. **Virtual Screening for Bioactive Molecules**, p. 15-32, 2000.

ZHENGWEI, W. et al. Control efficacy of tebufenozide and emamectin benzoate against *Spodoptera frugiperda* both under the lab and crop field conditions. **Journal of Environmental Entomology**, v. 41, n. 5, p. 968–973, 2019.

ZOU, C. et al. Cucurbitacin B acts a potential insect growth regulator by antagonizing 20-hydroxyecdysone activity. **Pest Management Science**, v. 74, n. 6, p. 1394–1403, 2018.

APÊNDICE A - Lagartas de *Spodoptera frugiperda* alimentadas com dieta artificial contendo os controles negativos: água (T1); solução aquosa de Tween 80 a 1% (T2); substância ZINC15969575 (T3: 150 µg/mL de dieta) e ZINC15969575 (T4: 300 µg/mL de dieta)



Fonte: Autoria própria (2023)

CAPÍTULO 2

Óleo essencial de *Pogostemon cablin* Benth. (Lamiaceae): formulações e efeito de concentrações subletais sobre o ciclo de vida de *Spodoptera frugiperda* (J. E. Smith) (Lepidoptera: Noctuidae)

RESUMO

Dada a grande preocupação com a segurança alimentar, a busca por novas substâncias que atuem no controle de pragas tem sido um assunto recorrente nos sistemas produtivos, principalmente no que se refere ao controle de insetos pragas. Assim, esse estudo objetivou avaliar os efeitos letais e subletais do óleo essencial (OE) de *Pogostemon cablin* Benth (Lamiaceae) para o controle da lagarta-do-cartucho *Spodoptera frugiperda* (J.E Smith, 1797), que é considerada uma importante praga da agricultura. Sua importância se agrava devido aos inúmeros relatos da seleção de populações de insetos resistentes. Embora os inseticidas botânicos sejam promissores para o controle deste inseto, observa-se falta de adequação de formulações para que se impulse a comercialização desses produtos. Desse modo, esse trabalho teve como objetivo: i) desenvolver uma nanoemulsão do OE de *P. cablin*; ii) avaliar a toxicidade da nanoemulsão (nano-OE) e do OE de *P. cablin* complexado com a β -ciclodextrina (β -CD - OE) e iii) determinar o efeito de doses subletais do OE de *P. cablin* no ciclo de vida de *S. frugiperda*. A toxicidade da NE-OE não diferiu da constatada para o OE de *P. cablin* em sua forma natural. No que se refere a β -CD-OE (β -CD), houve redução de 75% na toxicidade do OE, sugerindo que a formulação reduziu a liberação das moléculas voláteis do OE, mas impedindo a sua atividade inseticida. As concentrações subletais do OE de *P. cablin* causaram algumas alterações no ciclo de vida de *S. frugiperda*, tais como: aumento do período larval; redução de massa das pupas; redução de emergência; e redução na fecundidade. Esse trabalho confirma a atividade inseticida do OE de *P. cablin* para *S. frugiperda* e reforça o potencial de inseticidas botânicos para o controle de pragas agrícolas.

Palavras-chave: inseticidas botânicos; complexo de inclusão; nanoemulsões.

ABSTRACT

Due to the great concern with food safety, the search for new substances that act to control pests has been a recurring issue in production systems, especially with regard to the control of insect pests. Thus, this study aimed to evaluate the lethal and sublethal effects of the essential oil (EO) of *Pogostemon cablin* Benth (Lamiaceae) for the control of the fall armyworm *Spodoptera frugiperda* (J.E Smith, 1797), which is considered an important pest of agriculture. Its importance is aggravated by the numerous reports of the selection of populations of resistant insects. Although botanical insecticides are promising for controlling this insect, there is a lack of adequacy of formulations to stimulate the commercialization of these products. Thus, this study aimed to: i) develop a nanoemulsion of *P. cablin* EO; ii) evaluate the toxicity of the nanoemulsion (nano-EO) and *P. cablin* EO complexed with β -cyclodextrin (β -CD - EO) and iii) determine the effect of sublethal doses of *P. cablin* EO on the cycle of life of *S. frugiperda*. NE-EO toxicity did not differ from that found for *P. cablin* EO in its natural form. With regard to β -CD-EO (β -CD), there was a 75% reduction in EO toxicity, suggesting that the formulation reduced the release of volatile EO molecules, but preventing its insecticidal activity. Sublethal concentrations of *P. cablin* EO caused some alterations in the life cycle of *S. frugiperda*, such as: increased larval period; reduction of pupal mass; emergency reduction; and reduced fertility. This work confirms the insecticidal activity of *P. cablin* EO for *S. frugiperda* and reinforces the potential of botanical insecticides to control agricultural pests.

Keywords: botanical insecticides; inclusion complex; nanoemulsions.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

- Figura 1 - Amostras de nanoemulsões (NEs) do óleo essencial de *Pogostemon cablin* submetidas a diferentes temperaturas, sendo: a) NEs submetidas a 25°C (sala climatizada); b) NE submetidas a 5°C (refrigerador convencional); c) NEs submetidas a 50°C (estufa de secagem e esterilização)70**
- Figura 2 - Microscopia Eletrônica de Varredura da NE 02 do óleo essencial de *Pogostemon cablin*.....71**
- Figura 3 - Análise de sobrevivência, ao longo do tempo, de lagartas de *Spodoptera frugiperda* alimentadas com dieta contendo diferentes concentrações do óleo essencial de *Pogostemon cablin*.....73**
- Figura 4 - Análise de sobrevivência, ao longo do tempo, de lagartas de *Spodoptera frugiperda* alimentadas com dieta contendo diferentes concentrações do óleo neem.....74**
- Figura 5- Análise de sobrevivência, ao longo do tempo, de lagartas de *Spodoptera frugiperda* alimentadas com dieta contendo as concentrações subletais que correspondem a CL₂₅ e CL₅₀ do óleo essencial de *Pogostemon cablin*.....76**
- Figura 6 – Análise do comportamento da oviposição das fêmeas adultas mantidas em gaiolas junto com adultos machos na proporção de 1:1 de *Spodoptera frugiperda*, ao longo do tempo, que foram submetidas aos tratamentos com os controles negativos: água (n=10) e solução aquosa de Tween 80 a 1% (n=10) e com o óleo essencial de *Pogostemon cablin* nas concentrações subletais equivalente as CL₂₅ (n=10) e CL₅₀ (n=10) na fase jovem.....80**
- Figura 7 - Efeito sobre a longevidade das fêmeas adultas mantidas em gaiolas junto com adultos machos na proporção de 1:1 de *S. frugiperda* que receberam dieta tratada com as concentrações subletais (CL₂₅; CL₅₀) do OE de *Pogostemon cablin* na fase jovem.....81**
- Figura 8 – Efeito sobre a longevidade dos machos adultos mantidas em gaiolas junto com adultos machos na proporção de 1:1 de *Spodoptera frugiperda* que receberam dieta tratada com as concentrações subletais (CL₂₅; CL₅₀) do OE de *Pogostemon cablin* na fase jovem.....82**
- Figura 9 – Análise de sobrevivência de lagartas de *Spodoptera frugiperda*, ao longo do tempo, alimentadas com dieta artificial contendo formulações do óleo essencial de *Pogostemon cablin*84**
- Figura 10 – Probabilidade de sobrevivência de *Spodoptera frugiperda*, ao longo do tempo, submetidas à alimentação contendo a nanoemulsão do óleo essencial de *Pogostemon cablin*.....85**

LISTA DE TABELAS

- Tabela 1 - Combinações de emulsificantes utilizadas para obtenção das nanoemulsões do óleo essencial de *Pogostemon cablin*.....66**
- Tabela 2 - Resposta concentração-mortalidade de lagartas de *Spodoptera frugiperda* alimentadas com dieta artificial contendo o óleo essencial de *Pogostemon cablin*.....72**
- Tabela 3 – – Impacto do óleo essencial de *Pogostemon cablin* sobre o ciclo de vida da *Spodoptera frugiperda*.....77**
- Tabela 4 – Período de pré-oviposição, período de oviposição, fecundidade e viabilidade de ovos provenientes de segunda postura de fêmeas adultas de *Spodoptera frugiperda* mantidas em gaiolas junto com machos adultos na proporção de 1:1, que foram alimentadas na fase jovem com dieta artificial contendo os tratamentos correspondentes as concentrações subletais (CL₂₅; CL₅₀) do óleo essencial de *Pogostemon cablin*.....78**

1 INTRODUÇÃO

Com a dispersão da lagarta-do-cartucho *Spodoptera frugiperda* J. E. Smith, 1797 (Lepidoptera: Noctuidae), fora de sua área de origem, tem-se o aumento da preocupação dos agricultores no que se refere a produção de grãos. Haja vista que esse inseto possui uma ampla rede de plantas hospedeiras que incluem gramíneas, tais como: milho *Zea mays* L. (Poaceae); sorgo *Sorghum bicolor* (L.) Moench (Poaceae); arroz *Oryza barthii* (Poaceae), trigo *Triticum aestivum* L. (Poaceae) e cana-de-açúcar *Saccharum officinarum* L. (Poaceae). Além disso, outras culturas agrícolas de grande importância econômica como por exemplo, feijão-fradinho *Vigna unguiculata* (L., Walp.) (Fabaceae), amendoim *Arachis hypogaea* L. (Fabaceae), batata *Solanum tuberosum* L. (Solanaceae), soja *Glycine max* (L.) Merrill (Fabaceae) e algodão *Gossypium herbaceum* L. (Malvaceae) são atacadas por esse inseto (GOERGEN, et. al., 2016; ANJORIN, et. al., 2022; GUO et. al., 2022).

A alta capacidade de dispersão, associada à resistência de populações aos atuais métodos de controle utilizados e às dificuldades de manejo da praga, denotam a necessidade de desenvolvimento de novos inseticidas. Diante disso, o Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento (MAPA) lançou em 2020 o Programa Nacional de Bioinsumos (PNB) objetivando aproveitar o potencial da biodiversidade e ampliar a oferta de matéria-prima para a produção agrícola sustentável (BRASIL, 2023).

Entre os bioinsumos que podem ser usados para o controle de insetos-pragas, destacam-se os óleos essenciais (OEs). Estes são misturas complexas de metabólitos secundários de plantas, entre as quais há vários com reconhecida importância pelo seu potencial inseticida e repelente para diversos grupos de insetos (FOURNIER et al., 1999; MOSSA, 2016; ISMAN, 2016; OLIVEIRA et al., 2018; PRADEEP BAGADE et al., 2019; IKAWATI et al., 2021). Ademais, alguns desses compostos podem apresentar baixa toxicidade para mamíferos, insetos polinizadores e inimigos naturais dos insetos-pragas (LAMPURI et al., 2020; BRICARELLO et al., 2021; STENGER et al., 2021).

Na busca por espécies de plantas com potencial inseticida, o Grupo de Pesquisa em Entomologia aplicada (GPEA) da Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Campus Santa Helena (Santa Helena, Paraná), selecionou, dentre diversas amostras o OE de *Pogostemon cablin* Benth. (Lamiaceae), que causou alta taxa de

mortalidade para *S. frugiperda* em ensaios anteriores (SOUZA, 2022). Dessa maneira, esse trabalho teve como objetivo avaliar o efeito letal e subletal do OE *P. cablin* não-formulado, e a toxicidade de uma nanoemulsão e um complexo de inclusão com β -ciclodextrina (β -CD) do OE para *S. frugiperda*.

2. MATERIAL E MÉTODOS

2.1 Obtenção do OE de *P. cablin*

O OE proveniente da destilação a vapor das folhas de *P. cablin* foi obtido comercialmente pela empresa Ferquima (Vargem Grande Paulista - SP); Origem: Indonésia; Fabricado em abril/2021; Lote: 162.

2.2 Obtenção e caracterização da nanoemulsão do OE de *P. cablin*

As nanoemulsões do OE de *P. cablin* foram produzidas no Laboratório de Biologia e Ecologia de Invertebrados (LABEL) da Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Campus Santa Helena, com a utilização de um Dispensor Ultra-Turrax (IKA® T10 basic S032, Homogenizer Workcenter). Foram empregadas diversas combinações de emulsificantes (Tabela 1). As nanoemulsões foram compostas por duas fases, sendo a fase 1 aquosa, e a fase 2 oleosa. Enquanto a fase 1 foi submetida a aparelho Ultra-turrax na rotação (8.000 rpm), a fase 2, previamente homogeneizada em aparelho Vortex foi incorporada à fase 1 em alíquotas de 200 μ L. Após a incorporação total das fases, as rotações no equipamento foram aumentadas a cada 3 minutos passando pela torção 2 (9.500), 3 (11.500), 4 (14.500 rpm), 5 (20.500) e a 6 (30.000rpm) por 5 minutos. Após atingir a máxima rotação, as rotações foram reduzidas passando por todas as rotações até alcançar a rotação 2 de 9.500 rpm por min., obtendo-se assim as nanoemulsões (NEs) (Tabela 1).

Tabela 1. Combinações de emulsificantes utilizadas para obtenção de nanoemulsões do óleo essencial de *Pogostemon cablin*

Combinações	Fase 1	Fase 2	Total (mL)
NE 1	Kolliphor® RH 40 (0,2465 g) Água destilada (2,25 mL)	Tween 80 (0,2585 g) Água destilada (2,00 mL) OE <i>P. cablin</i> (0,2507g)	4,5 mL
NE 2	Tween 80 (0,2513 g) Água destilada (2,25 mL)	Kolliphor® RH 40 (0,2527 g) Água destilada (2,00 mL) OE <i>P. calin</i> (0,2474 g)	4,5 mL
NE 3	Emulsogen TS160 (0,2538 g) Água destilada (2,25 mL)	Kolliphor® RH 40 (0,2590 g) Água destilada (2,00 mL) OE <i>P. cablin</i> (0,2500g)	4,5 mL
NE 4	Kolliphor® RH 40 (0,2579 g) Água destilada (2,25 mL)	EmulsogenTS160 (0,2538 g) Água destilada (2,00 mL) OE <i>P. cablin</i> (0,2530 g)	4,5 mL
NE 5	Tween 20 (0,2515 g) Água destilada (2,25 mL)	Kolliphor® RH 40 (0,2666 g) Água destilada (2,00 mL) OE <i>P. cablin</i> (0,2508 g)	4,5 mL
NE 6	Kolliphor® RH 40 (0,2622 g) Água destilada (2,25 mL)	Tween 20 (0,2573 g) Água destilada (2,00 mL) OE <i>P. cablin</i> (0,2517 g)	4,5 mL

Fonte: Autoria própria (2023)

As NEs tiveram suas estabilidades avaliadas por observação visual quanto a capacidade de suportar alta rotação em centrífuga LS-3 Plus (3400 ppm) por 10 min, e capacidade de suportar diferentes temperaturas, sendo: 5 °C mantida em refrigerador convencional; 25 °C em sala climatizada e 50 °C em estufa de secagem e esterilização (MODELO 80/81 – LUCADEMA CIENTÍFICA), por 24 h. A NE que melhor respondeu as condições (sem inversão de fase e/ou formação de espuma) foi selecionada para avaliar a toxicidade contra *S. frugiperda*.

A caracterização da nanoemulsão (NE 02) foi realizada na UNESP/Sorocaba por Espalhamento de Luz Dinâmico (DLS). As NEs foram diluídas previamente em água ultrapura e as medidas realizadas em triplicata. O tamanho e a distribuição de partículas foram determinados usando Zetasizer Nano ZS, Malvem Instruments. Assim, obteve-se os valores para o diâmetro médio das partículas, índice de polidispersidade (PDI) e potencial Zeta.

Adicionalmente, a NE 02 foi submetida à caracterização em Microscópio Eletrônico de Varredura (MEV) na Universidade Federal de Lavras, Minas Gerais. A NE 02 foi aplicada em lamínulas, submetida à secagem em dessecador e, em seguida banho de ouro. As imagens foram analisadas no equipamento Leo Evo 40. A caracterização foi adaptada do método descrito por Alves, (2004)

2.3 Obtenção do complexo de inclusão de β -ciclodextrina com OE de *P. cablin*

O complexo de inclusão de β -ciclodextrina com OE de *P. cablin* (β -CD-OE) foi obtido por meio de parceria com o Prof. Dr. Denilson Ferreira de Oliveira, do Departamento de Química da Universidade Federal de Lavras (UFLA), Lavras, Minas Gerais (MG). O β -CD-OE foi obtido por meio de adaptação do método de co-precipitação descrito por Sun, et. al. (2014).

2.4 Criação de *S. frugiperda*

As lagartas foram alimentadas com dieta artificial constituída de: feijão (166,66 g), gérmen de trigo (79,20 g), levedo de cerveja (50,70 g), ácido sórbico (1,65 g), ácido ascórbico (5,10 g), nipagin (3,15 g), formaldeído (4,15mL), 4,15 mL de solução inibidora (ácido propiônico 18 mL; ácido fosfórico 43 mL; Água 540 mL); ágar (30 g);

água destilada (750 mL) e caldo de feijão (750 mL) (Parra, 2001). Aos adultos foi ofertada solução aquosa de mel a 10% g/mL, mantidos em gaiola de tubo PVC com dimensões de 20 cm de diâmetro x 20 cm altura, cobertos por tecido voal. A criação e todos os ensaios foram mantidos em sala climatizada com temperatura de $25\pm 2^{\circ}\text{C}$, fotoperíodo de 12 h e umidade relativa de $70 (\pm 10) \%$.

2.5 Determinação da resposta tempo-concentração-mortalidade do OE de *P. cablin* em ensaio de ingestão sem chance de escolha

O OE de *P. cablin* em diferentes concentrações foi solubilizado em solução aquosa de Tween 80 a 1% (10 mL) e incorporado à dieta artificial (100 mL) (Parra, 2001). As concentrações testadas foram determinadas por meio de progressão aritmética. Assim, foi possível estimar as concentrações que causaram mortalidade nos insetos entre 20% e 80%. As concentrações testadas foram 0,25; 0,35; 0,50; 0,70 e 1 mg de OE/ml de dieta. Alíquotas de dieta (1,5 x 1,5 x 1,0 cm) foram transferidas para tubos de vidro (2,5 x 2,5 x 8,0 cm), nos quais foram introduzidas lagartas de 48 h de vida, com auxílio de um pincel, previamente alimentadas com dieta artificial.

O delineamento experimental foi inteiramente casualizado com 50 repetições por tratamento, sendo considerada cada parcela experimental uma lagarta, mantida individualizada. Os controles negativos foram: dieta acrescida de água destilada (10 mL) e solução aquosa de Tween 80 a 1% (10 mL). O ensaio foi repetido duas vezes em dias diferentes, constituindo uma repetição biológica. As análises de sobrevivência dos insetos foram realizadas a cada 24 h, durante 168 h. Os dados de sobrevivência dos insetos 24 h após o início do experimento foram usados para estimar a CL_{90} (concentração letal para causar mortalidade de 90% da população); CL_{50} (concentração letal para causar mortalidade de 50% da população) e a CL_{25} (concentração letal para causar mortalidade de 25% da população). Como controle positivo foi empregado o óleo de neem proveniente da Destilaria Bauru (Lote: DB201005OVNPBIO-01 – Fab: 11-03/2021) nas concentrações 0,527; 1,033; 2,507 e 5,008 mg de OE/mL de dieta.

2.6 Efeito de concentrações subletais sobre o ciclo de vida de *S. frugiperda* em ensaio de ingestão sem chance de escolha

Para esse ensaio foram usadas as concentrações letais para 25 e 50% da população do inseto, determinadas em ensaio anterior (subitem 2.5). Os OEs foram incorporados em dieta artificial nas concentrações de 0,30 e 0,42 mg de OE/mL de dieta e oferecidos para lagartas de *S. frugiperda*, como descrito anteriormente (subitem 2.5). O ensaio foi inteiramente casualizado e constituiu de 100 repetições por tratamento, sendo cada lagarta considerada uma repetição. Os controles negativos foram constituídos de dieta acrescida de água destilada e de solução aquosa de Tween 80 a 1%. Os insetos foram alimentados com a dieta contendo os tratamentos durante toda a fase larval.

Diariamente foi avaliada a sobrevivência dos insetos. Outros parâmetros avaliados incluíram: duração da fase larval e massa de pupas. As pupas foram sexadas e, por ocasião da emergência de adultos, foram formados pelo menos 10 casais de cada tratamento. A longevidade de machos e fêmeas foi avaliada diariamente. Ademais, avaliaram-se os períodos de pré-oviposição e oviposição e a fecundidade das fêmeas. Uma massa de ovos, proveniente da segunda postura dos adultos teve a viabilidade dos ovos avaliada.

2.7 Toxicidade de formulações do OE de *P. cablin* para *S. frugiperda* em ensaio de ingestão sem chance de escolha

O ensaio biológico foi realizado conforme a metodologia empregada para ensaio de ingestão descrita no item 2.5, na concentração correspondente à CL₅₀ do OE de *P. cablin*. Para esse ensaio foi empregado como controle negativo: água destilada, solução aquosa de Tween 80 a 1%, complexo de inclusão β -CD, e a NE sem adição de OE. O OE de *P. cablin*, NE de *P. cablin* e o complexo de inclusão entre β -CD e o OE de *P. cablin* foram solubilizados em 10 mL de solução aquosa de Tween 80 a 1% e incorporados à dieta artificial (100 mL). Alíquotas de dieta (1,0 x 1,0 x 1,5 cm), depositadas em tubo de vidro (2,5 x 8,0 cm), foram ofertadas para as lagartas de 48 h de vida em A concentração de 0,42 mg do OE/ mL de dieta. O ensaio consistiu em 50 repetições por tratamento, sendo cada repetição constituída por uma lagarta de 48 h de vida previamente alimentada com dieta artificial. As sobrevivências das lagartas foram avaliadas a cada 24 h, durante 168 h, e os dados submetidos as

análises estatísticas descritas no item 2.8. O ensaio foi repetido empregando apenas o OE de *P. cablin* e a NE do OE de *P. cablin*.

2.8 Análise estatística

Os dados referentes à sobrevivência dos insetos ao longo do tempo (subitem 2.5, 2.6 e 2.7) foram submetidos à análise de sobrevivência empregando o estimador de Kaplan-Meier. As curvas de sobrevivência foram comparadas pelo teste de *Pairwise*. O tempo letal mediano (TL₅₀) para cada tratamento foi estimado. Para estimar a CL₉₀, CL₅₀ e CL₂₅, foi empregada a análise de logit, usando os dados de mortalidade dos insetos após 24 h do início do ensaio.

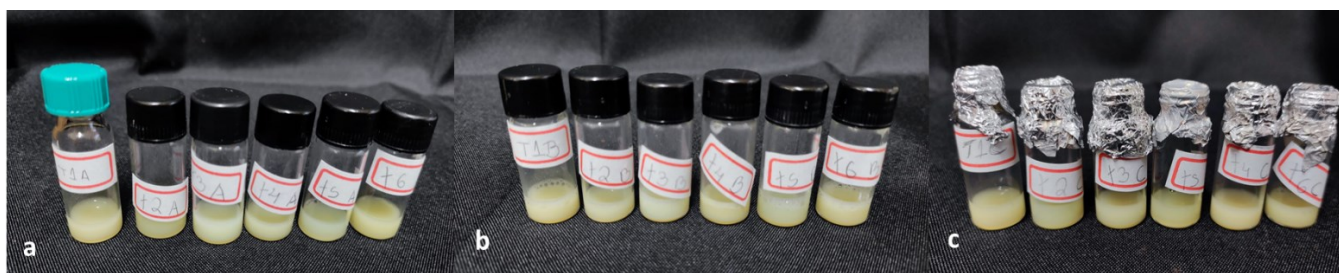
Para a das variáveis do ciclo de vida de *S. frugiperda* (subitem 2.6) os dados foram analisados pelo procedimento GLM, empregando a distribuição com melhor ajuste. A qualidade do ajuste foi verificada por meio do gráfico meio normal de probabilidades com envelope de simulação. Quando houve diferença significativa entre os tratamentos, comparações múltiplas (Tukey post hoc teste) foram realizadas utilizando a função *glht* do pacote *multcomp*. Nos casos em que não houve qualidade de ajuste ao modelo GLM, os dados foram analisados pelo teste não-paramétrico de Kruskal-Wallis. Todas as análises foram realizadas no software R[®].

3 RESULTADOS

3.1 Caracterização na NE 02

A NE que apresentou maior estabilidade frente às condições empregadas foram a NE 2, composta por Tween 80 (0,2513 g) e água destilada (2,25 ml) na fase 1 e Kolliphor[®] RH40 (0,2527 g), água destilada (2,00 ml) e OE de *P. cablin* (0,2474 g) na fase 2 (Figura 1).

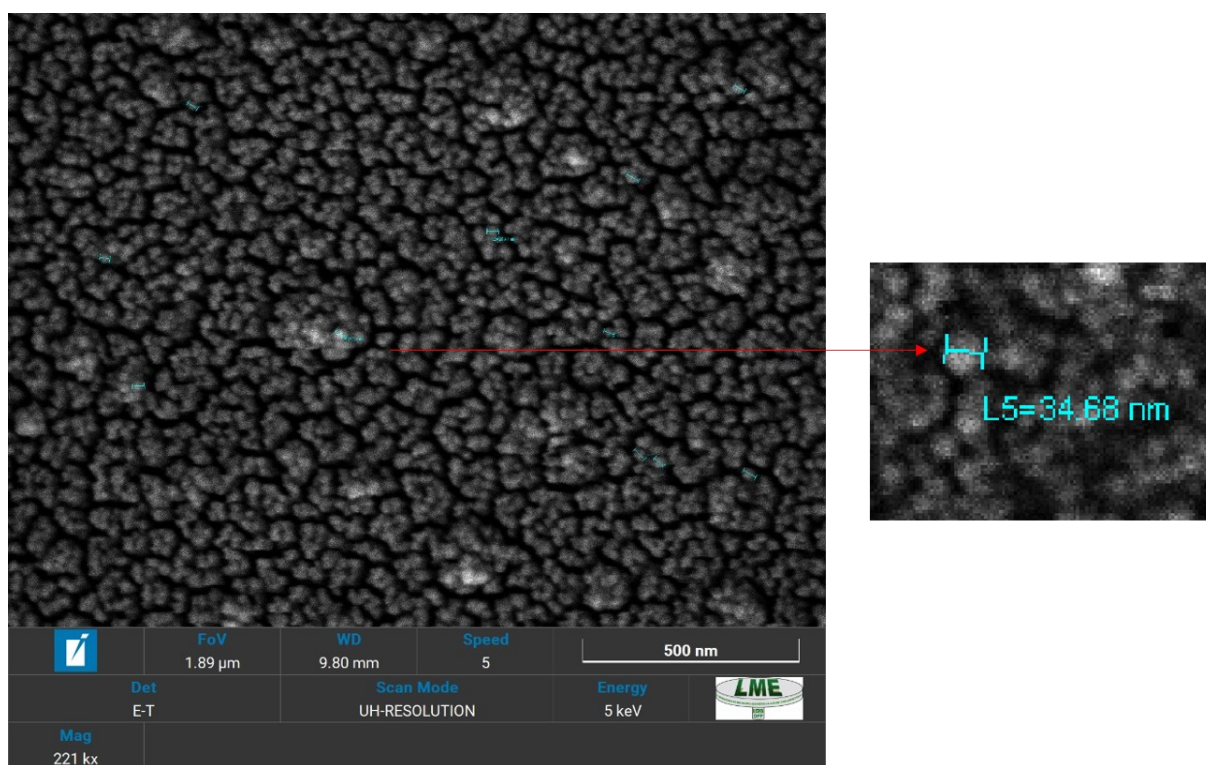
Figura 1 – Amostras de nanoemulsões (NEs) do óleo essencial de *Pogostemon cablin* submetidas a diferentes temperaturas, sendo: a) NEs submetidas a 25°C (sala climatizada); b) NE submetidas a 5°C (refrigerador convencional); c) NEs submetidas a 50°C (estufa de secagem e esterilização).



Fonte: Autoria própria (2023)

Pela análise de DLS o tamanho médio das gotas foi de $248,5 \pm 18,05$ nm. O valor de PDI foi de $0,821 \pm 0,178$ nm. A análise por microscopia eletrônica de varredura demonstrou que após a secagem da nanoformulação houve a formação de um filme homogêneo com tamanho de partículas variando entre 23,05 e 38,54 μm . As partículas apresentaram formato esférico (Figura 2).

Figura 2. Microscopia Eletrônica de Varredura da NE 02 do óleo essencial de *Pogostemon cablin*



Fonte: Autoria própria (2023)

3.2 Determinação da resposta tempo-concentração-mortalidade do OE de *P. cablin* em ensaio de ingestão sem chance de escolha

A concentração necessária para causar a mortalidade de 50% na população experimental de *S. frugiperda*, ou seja, a concentração letal mediana (CL₅₀), foi de $0,42 \pm 0,014$ mg de OE/mL de dieta, ao passo que a CL₉₀ foi de $0,79 \pm 0,049$ mg de OE/mL de dieta (Tabela 2).

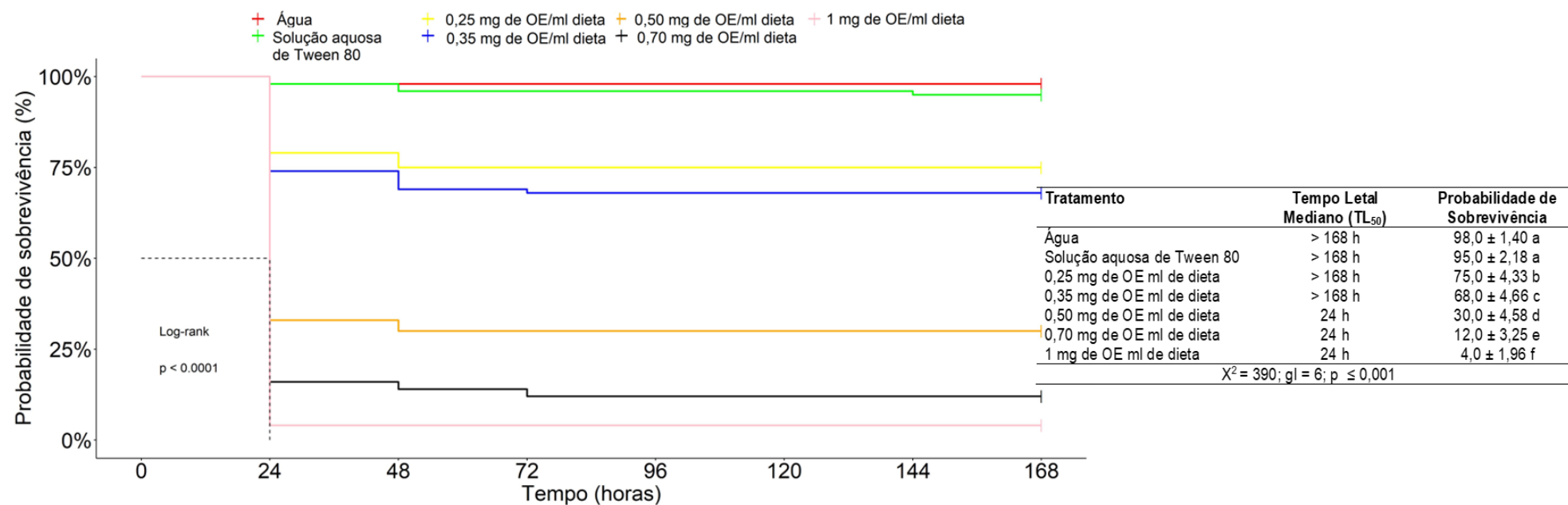
Tabela 2 - Resposta concentração-mortalidade de lagartas de *Spodoptera frugiperda* alimentadas com dieta artificial contendo o óleo essencial de *Pogostemon cablin*

Tratamento	gl	χ^2	p	b*	e*	CL ₂₅ (mg/ml de dieta)	CL ₅₀ (mg/ml de dieta)	CL ₉₀ (mg/ml de dieta)
<i>Pogostemon cablin</i>	496	496,77	0,4818	-3,37	0,41	$0,30 \pm 0,0143$	$0,42 \pm 0,014$	$0,79 \pm 0,0495$

Fonte: Autoria própria (2023)

No que diz respeito à sobrevivência dos insetos, ao longo do tempo, em concentrações acima de 0,50 mg de OE/mL de dieta o TL₅₀ foi de 24 h. As probabilidades de sobrevivência foram de 75, 68, 30, 12 e 4 % para as concentrações de 0,25; 0,35; 0,50; 0,70 e 1 mg de OE/mL de dieta, respectivamente (Figura 3). Tais resultados foram comparados com óleo de neem, usado para formulação de inseticidas botânicos. Mesmo as lagartas recebendo dieta contendo o OE nas concentrações 0,5; 1; 2,5 e 5 mg/mL de dieta, não foi possível calcular a CL₅₀, visto que a mortalidade máxima observada em 168 h foi de 35,30%, na maior concentração estudada ($X^2= 42,5$; gl = 5; p < 0,001) (Figura 4).

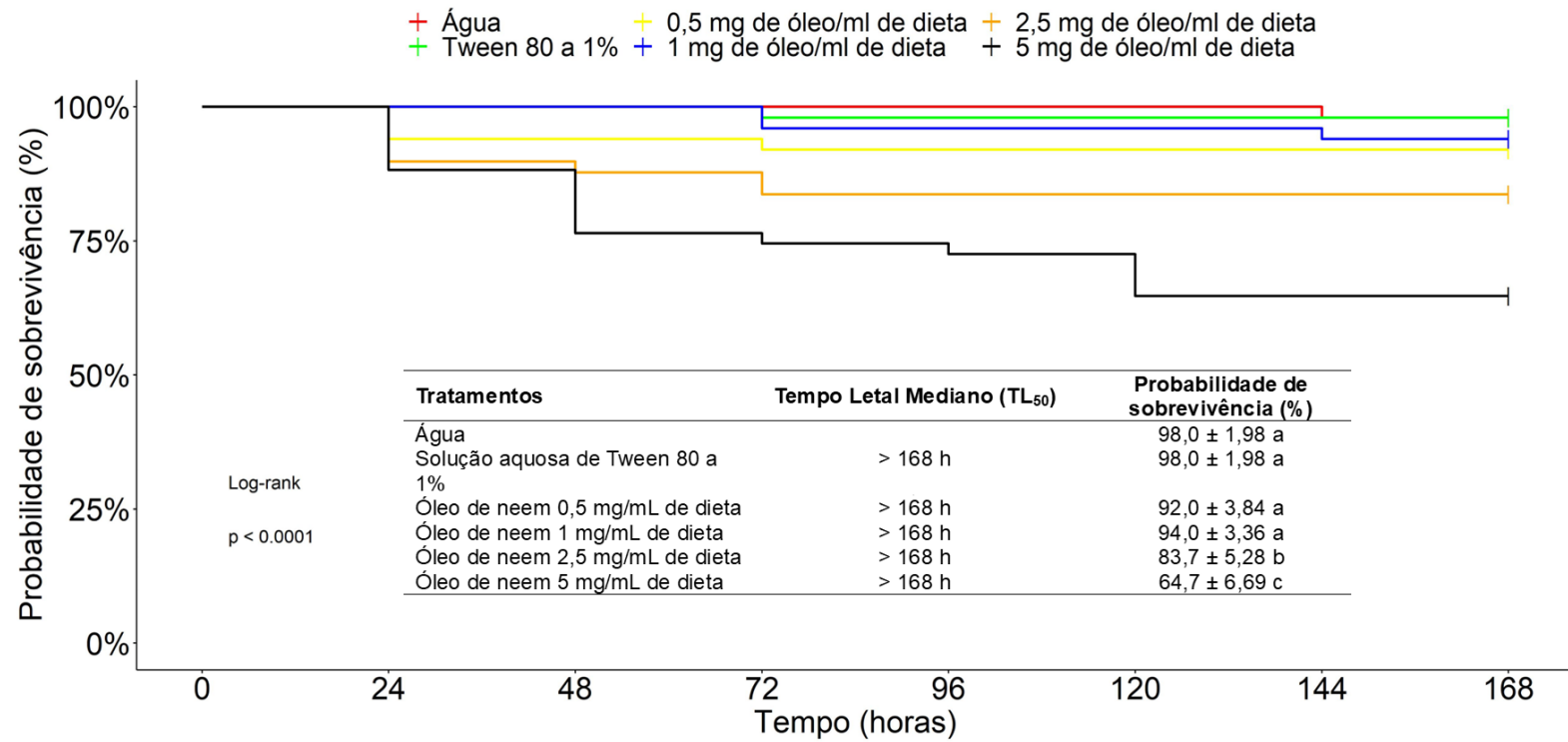
Figura 3 - Análise de sobrevivência, ao longo do tempo, de lagartas de *Spodoptera frugiperda* alimentadas com dieta contendo diferentes concentrações do óleo essencial de *Pogostemon cablin*



*Médias seguidas de mesma letra não diferem entre si, pelo teste de comparação múltipla de pairwise.

Fonte: Autoria própria (2023)

Figura 4 - Análise de sobrevivência, ao longo do tempo, de lagartas de *Spodoptera frugiperda* alimentadas com dieta contendo diferentes concentrações do óleo neem



*Médias seguidas de mesma letra não diferem entre si, pelo teste de comparação múltipla de pairwise.

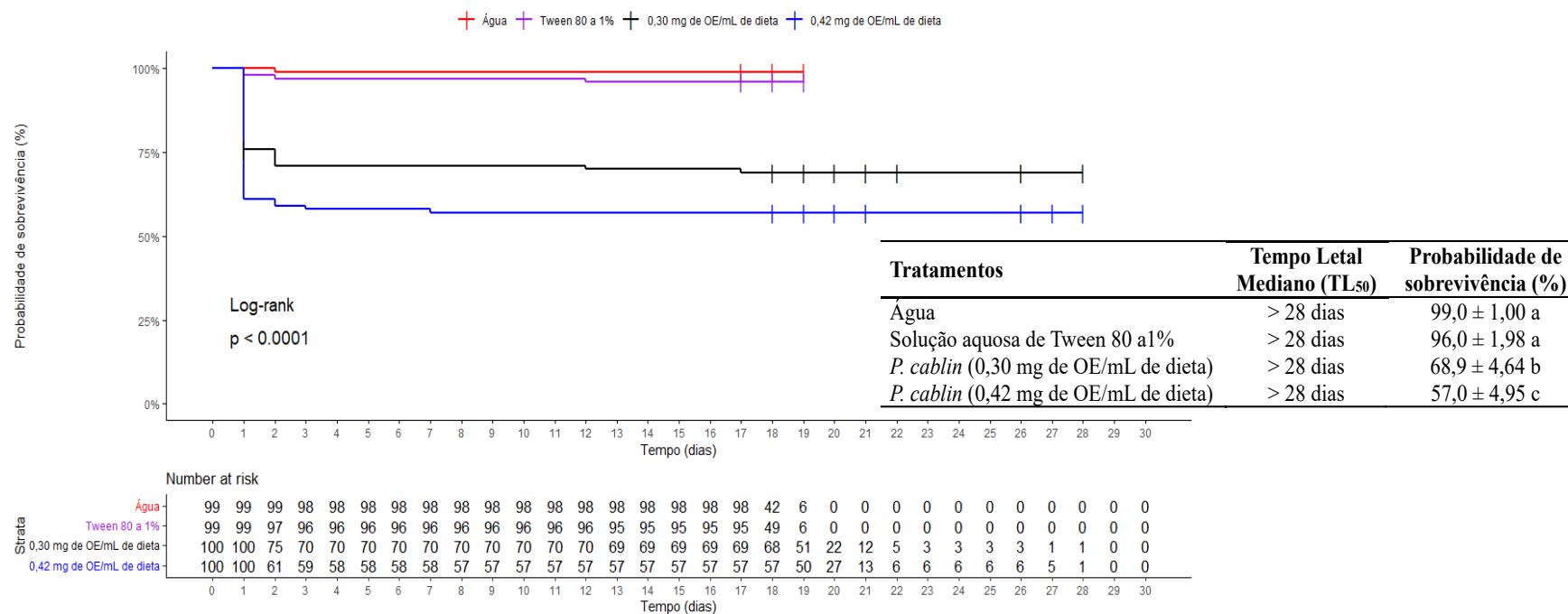
Fonte: Autoria própria (2023)

1
2
3

3.3 Efeito de concentrações subletais sobre o ciclo de vida de *S. frugiperda* em ensaio de ingestão sem chance de escolha

Os insetos tiveram a sobrevivência avaliada, ao longo do tempo, durante toda a fase larval. Foi constatada diferença significativa entre os tratamentos ($X^2 = 80,7$; $gl = 3$; $p < 0,001$). A sobrevivência dos insetos, ao término da fase larval, foi de $68,9 \pm 4,64$ e $57,0 \pm 4,95\%$ nas concentrações correspondentes a CL_{25} e CL_{50} do OE, o que está condizente com os resultados encontrados previamente (Figura 6). Entre o 17º e o 20º dias, após o início do ensaio, as lagartas, as quais foram ofertadas dieta contendo os controles negativos: água e solução aquosa de Tween 80 a 1% iniciaram a pupação. Todavia, para os tratamentos com o OE de *P. cablin* nas concentrações de 0,30 e 0,42 mg de OE/mL de dieta as lagartas iniciaram a pupação no 19º e se estendeu até o 28º como pode ser observado no número de eventos na figura (Figura 5).

Figura 5 – Análise de sobrevivência, ao longo do tempo, de lagartas de *Spodoptera frugiperda* alimentadas com dieta contendo as concentrações subletais que correspondem a CL_{25} e CL_{50} do óleo essencial de *Pogostemon cablin*



*Médias seguidas de mesma letra não diferem entre si, pelo teste de comparação múltipla de pairwise.

Fonte: Autoria própria (2023)

No que se refere a duração da fase jovem, as lagartas alimentadas com o OE de *P. cablin* apresentaram aumento médio na duração da fase larval. Não foi constatado aumento na duração da fase pupal. Entretanto, houve redução na emergência dos insetos nas concentrações correspondentes a CL₂₅ e CL₅₀ do OE. Também foi observada redução na massa das pupas que receberam a dieta contendo o OE, sendo essa diferença de 13% e 10%, respectivamente, quando comparado aos tratamentos com o controle negativo (Tabela 3).

Tabela 3 – Impacto do óleo essencial de *Pogostemon cablin* sobre o ciclo de vida da *Spodoptera frugiperda*

Tratamentos	Duração da fase larval (dias)*	Massa de pupas (mg)*	Duração da fase pupal (dias)*	Emergência (%)**
Água	17,48 ± 0,06 a	242,43 ± 1,75 a	10,63 a	91,8 ± 2,78 a
Tween 80 a 1%	17,52 ± 0,08 a	226,85 ± 1,58 a	10,66 a	92,6 ± 2,69 a
OE de <i>P. cablin</i> (0,30 mg de OE/mL de dieta)	19,38 ± 0,24 b	202,52 ± 3,45 b	11,03 a	86,6 ± 4,1 b
OE de <i>P. cablin</i> (0,42 mg de OE/mL de dieta)	20,21 ± 0,33 b	211,52 ± 3,14 b	10,97 a	75,4 ± 5,7 c
	X ² = 180,81, gl = 3, p < 0,001	X ² = 120,25, gl = 3, p < 0,001	X ² = 8,393, gl = 3, p > 0,001	D = 0,94; gl = 3; p > 0,001

* Média seguidas da mesma letra, na coluna, não diferem entre si pelo teste Kruskal-Wallis.

** Média seguidas da mesma letra, na coluna, não diferem entre si (GLM distribuição Binomial negativa).

Fonte: Autoria própria (2023)

No que diz respeito a fertilidade dos insetos adultos, que se alimentaram com os tratamentos contendo OE de *P. cablin* durante a fase jovem, houve redução de 25% no número total de ovos. Contudo não foi constatada diferença estatística para as variáveis: período de pré-oviposição, oviposição e na viabilidade dos ovos (Tabela 4).

Tabela 4 – Período de pré-oviposição, período de oviposição, fecundidade e viabilidade de ovos provenientes de segunda postura de fêmeas adultas de *Spodoptera frugiperda* mantidas em gaiolas junto com adultos machos na proporção de 1:1, que foram alimentadas na fase jovem com dieta artificial contendo os tratamentos correspondentes as concentrações subletais (CL₂₅; CL₅₀) do óleo essencial de *Pogostemon cablin*

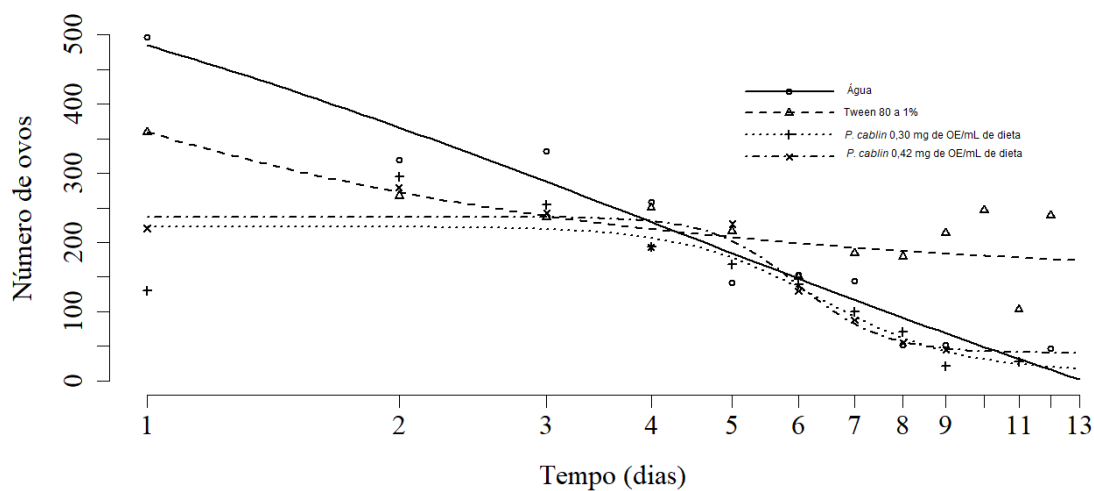
Tratamentos	Período de pré-oviposição (dias)*	Período de oviposição (dias)**	Número total de ovos/fêmea ***	Taxa de eclosão (%)****
Água	2,5 ± 0,17 a	7,8 ± 0,44 a	1766,2 ± 96,08 a	94,8 ± 1,89 a
Solução aquosa de tween 80	2,3 ± 0,15 a	6,6 ± 0,52 a	1522,2 ± 110,80 a	92,1 ± 2,48 a
OE de <i>P. cablin cablin</i> (0,30 mg de OE/mL de dieta)	2,4 ± 0,16 a	7,5 ± 0,60 a	1276,0 ± 47,35 b	91,7 ± 3,38 a
OE de <i>P. cablin cablin</i> (0,42 mg de OE/mL de dieta)	3,1 ± 0,23 a	8,1 ± 0,45 a	1210,2 ± 124,90 b	96,64 ± 1,88 a
	X ² = 8,0626, gl = 3, p > 0,001	D=0,11; gl=3; p = 0,1805	D=0,67; gl=3; p<0,001	F = 0,7928; gl = 3; p = 0,5067

* Média seguidas da mesma letra, na coluna, não diferem entre si pelo teste Kruskal-Wallis; ** Média seguidas da mesma letra, na coluna, não diferem entre si (GLM distribuição Quase-Poisson); *** Média seguidas da mesma letra, na coluna, não diferem entre si (GLM distribuição Binominal negativa); **** Média seguidas da mesma letra, na coluna, não diferem entre si (GLM distribuição Gamma).

Fonte: A autoria própria (2023)

Ao se avaliar o comportamento de oviposição das fêmeas ao longo do tempo, constatou-se que houve ajuste dos dados ao modelo escolhido ($F=0,7876$; $p= 0,7561$) e diferença significativa entre os tratamentos. Para os tratamentos controle no início do período de oviposição houve picos de postura, os quais reduziram abruptamente até o final do período de oviposição. Para os tratamentos com o OE, o número de ovos foi menor no início de oviposição, mas o declínio foi menos abrupto do que o observado para os controles negativos (Figura 6).

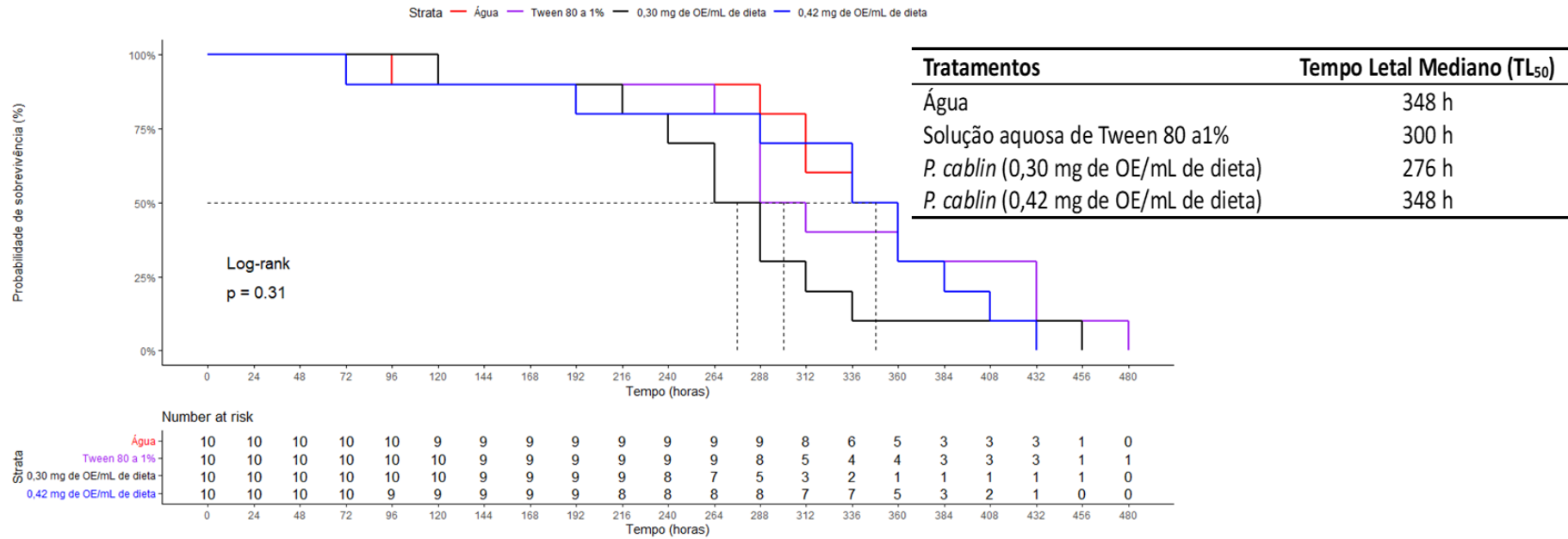
Figura 6 – Análise do comportamento da oviposição das fêmeas adultas mantidas em gaiolas junto com adultos machos na proporção de 1:1 de *Spodoptera frugiperda*, ao longo do tempo, que foram submetidas aos tratamentos com os controles negativos: água (n=10) e solução aquosa de Tween 80 a 1% (n=10) e com o óleo essencial de *Pogostemon cablin* nas concentrações subletais equivalente as CL₂₅ (n=10) e CL₅₀ (n=10) na fase jovem



Fonte: Autoria própria (2023)

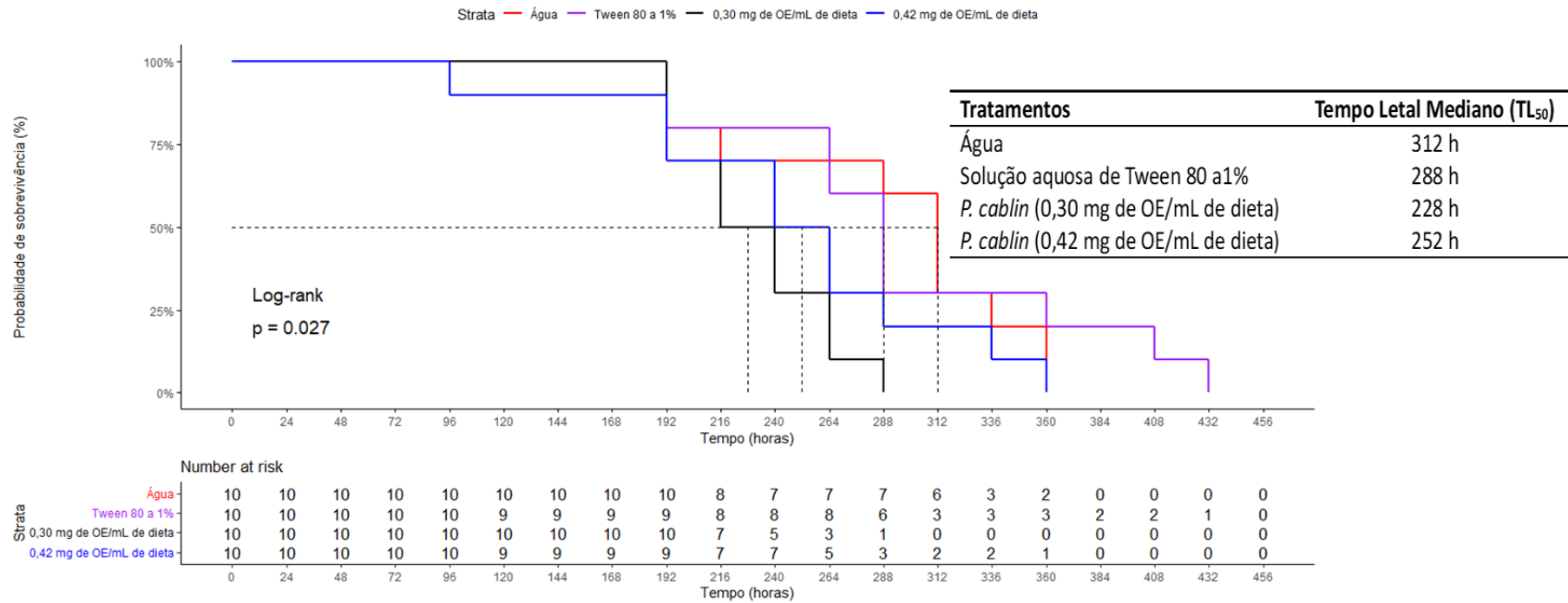
A longevidade dos insetos adultos mantidos em gaiolas junto na proporção de 1:1 não foi alterada pelo tratamento com os OEs. A longevidade das fêmeas variou entre 216 à 480 h ($X^2= 3,5$; gl = 3; p = 0,3). O TL₅₀ foi de 348 e 300 h para os controles positivos e 276 e 348 h para a CL₂₅ e CL₅₀ do OE de *P. cablin* (Figura 7), e para os machos a longevidade variou entre 168 e 432 h ($X^2= 9,2$; gl = 3; p = 0,03), e o tempo necessário para causar a mortalidade de 50% da população foi de 312, 288, 228 e 252 h para água, solução aquosa de Tween a 1%, CL₂₅ e CL₅₀ do OE de *P. cablin*, respectivamente (Figura 8).

Figura 7 – Efeito sobre a longevidade das fêmeas adultas mantidas em gaiolas junto com adultos machos na proporção de 1:1 de *Spodopetra frugiperda* que receberam dieta tratada com as concentrações subletais (CL₂₅; CL₅₀) do óleo essencial de *Pogostemon cablin* na fase jovem



Fonte: Autoria própria (2023)

Figura 8 – Efeito sobre a longevidade dos machos adultos mantidas em gaiolas junto com adultos machos na proporção de 1:1 de *Spodoptera frugiperda* que receberam dieta tratada com as concentrações subletais (CL₂₅; CL₅₀) do óleo essencial de *Pogostemon cablin* na fase jovem

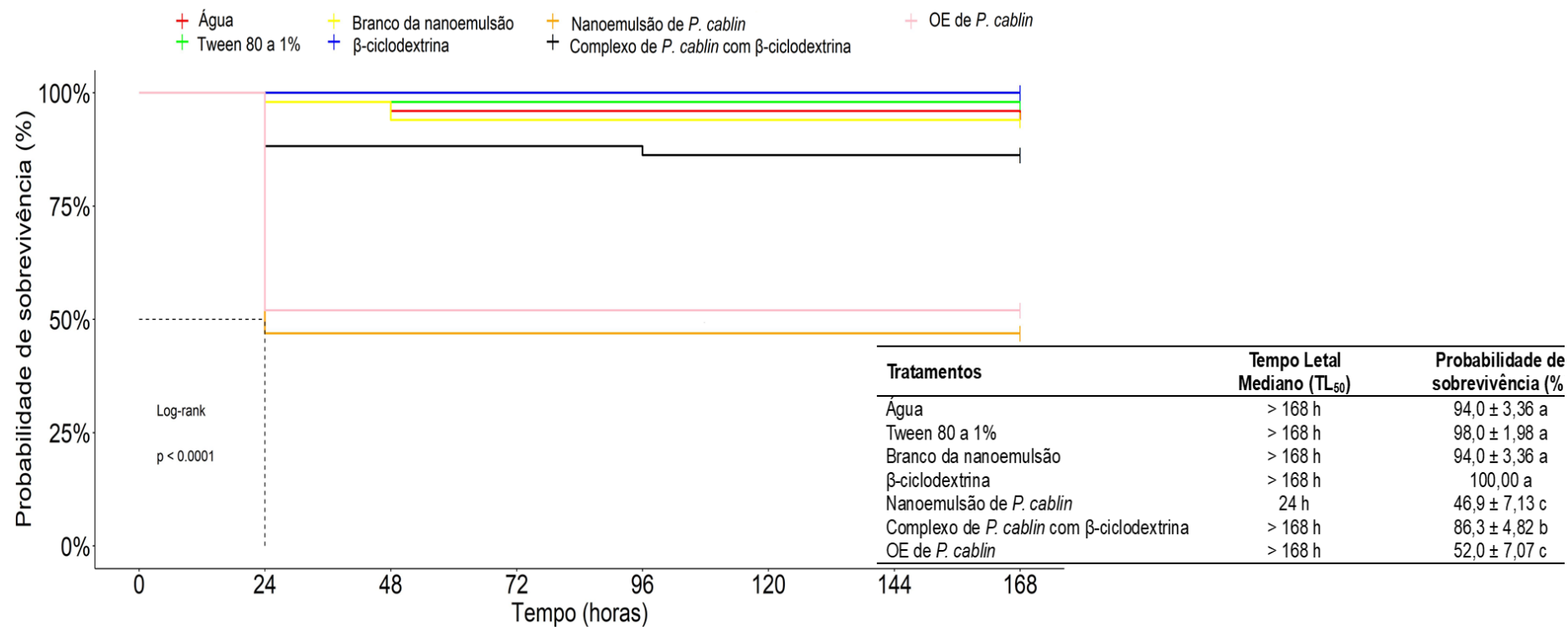


Fonte: Autoria própria (2023)

3.4 Toxicidade de formulações do OE de *P. cablin* para *S. frugiperda*

Ao se comparar a probabilidade de sobrevivência de lagartas de *S. frugiperda* submetidas aos tratamentos com o OE de *P. cablin* não formulado e com o formulado com a nanoemulsão e com o complexo de inclusão de β -CD na concentração correspondente a CL_{50} do OE, observou-se que entre o OE não formulado e a nanoemulsão não houve diferença entre eles no que se refere à probabilidade de sobrevivência das lagartas. A probabilidade de sobrevivência para o complexo de inclusão de β -CD foi de $86,3 \pm 4,82$ %, enquanto para os controles negativos (água e solução aquosa de Tween) a probabilidade de sobrevivência foi de $94,0 \pm 3,36$ e $98,0 \pm 1,98$ % em 168 h (Figura 9).

Figura 9 – Análise de sobrevivência de lagartas de *Spodoptera frugiperda*, ao longo do tempo, alimentadas com dieta artificial contendo formulações do óleo essencial de *Pogostemon cablin*

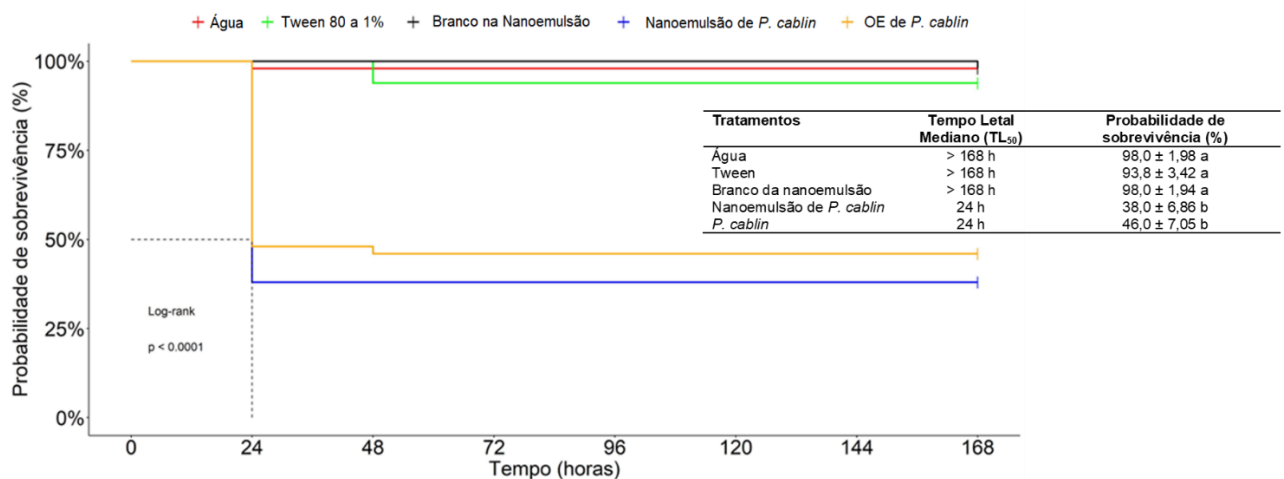


*Médias seguidas de mesma letra não diferem entre si, pelo teste de comparação múltipla de pairwise

Fonte: Autoria própria (2023)

O ensaio com a nanoemulsão de *P. cablin* foi repetido e os resultados foram semelhantes ($X^2 = 99,2$; $gl = 4$; $p = < 0,001$). Não houve diferença estatística entre a nanoemulsão do OE de *P. cablin* e o OE não formulado, para os quais as probabilidades de sobrevivência foram de $38,0 \pm 6,86 \%$ e $46,0 \pm 7,05 \%$, respectivamente. Tal como a probabilidade de sobrevivência, não houve diferença entre os valores de TL_{50} calculados para a nanoemulsão e o OE de *P. cablin* (Figura 10).

Figura 10 – Probabilidade de sobrevivência de *Spodoptera frugiperda*, ao longo do tempo, submetidas à alimentação contendo a nanoemulsão do óleo essencial de *Pogostemon cablin*



*Médias seguidas de mesma letra não diferem entre si, pelo teste de comparação múltipla de pairwise.

Fonte: Autoria própria (2023)

4 DISCUSSÃO

Nesse estudo foi constatado a toxicidade aguda do OE de *P. cablin* em ensaio de ingestão sem chance de escolha para *S. frugiperda* (Figura 3), sendo que a sua concentração letal mediana (CL₅₀), ou seja, a concentração necessária para causar mortalidade de 50% da população avaliada, foi aproximadamente 120 vezes menor que a concentração utilizada pelo OE de neem (*Azadirachta indica*), utilizado como controle positivo nesse trabalho, nas mesmas condições. Esse resultado reafirma os encontrados em trabalho recente realizado com o OE de *P. cablin* contra *S. frugiperda* (SOUZA, 2022).

Além dos efeitos sobre a sobrevivência da lagarta-do-cartucho, foi constatado a eficácia do OE sobre o ciclo de vida do inseto, a saber: aumento na duração do

período larval, redução na massa das pupas dos indivíduos que foram alimentados com a dieta contendo o OE nas concentrações subletais, e ainda a diminuição da taxa de emergência dos adultos quando comparadas aos controles negativos (Tabela 3). Tais resultados se assemelham aos encontrados em estudo realizado com o constituinte majoritário do OE, o patcholou, para *Spodoptera litura* (Fabricius, 1775) (Lepidoptera: Noctuidae) e *Spodoptera exigua* (Hübner, 1808) (Lepidoptera: Noctuidae), no qual tais efeitos foram atribuídos a danos irreversíveis em processos essenciais para o crescimento e desenvolvimento do inseto (HUANG et al., 2014).

Embora o OE de *P. cablin* não tenha apresentado interferência nos períodos de pré-oviposição e oviposição, houve redução significativa na fecundidade (número total de ovos por fêmea) (Tabela 4), sendo esse resultado compatível com o indicador de aptidão reprodutiva em insetos, visto que a redução na massa das pupas, resulta em insetos adultos menores e conseqüentemente com menor capacidade reprodutiva (BEUKEBOOM, 2018).

Embora esses sejam os primeiros relatos da toxicidade de *P. cablin* para *S. frugiperda*, a atividade do OE e seus componentes majoritários já foi reportada para outros insetos da Ordem Lepidoptera (MACHIAL et al., 2010; HUANG et al., 2014; MURCIA-MESEGUER et al., 2018), o que torna do OE de *P. cablin*, um importante candidato para o desenvolvimento de um inseticida botânico para o controle de lepidópteros pragas.

Além disso, o efeito de *P. cablin* sobre o ciclo de vida de insetos também foi constatado em estudo realizado com *Callosobruchus analis* (Fabricius, 1781) (Coleoptera: Bruchidae). Além da atividade inseticida em ensaio de contato, o OE apresentou atividade de repelência moderada em concentrações subletais, reduziu a oviposição e a taxa de emergência (BANDI et al., 2023). A redução da capacidade reprodutiva também foi observada em ensaio de ingestão conduzido com a cigarrinha-do-arroz *Nilaparvata lugens* (Stål, 1854) (Hemiptera: Delphacidae), no qual a diminuição da alimentação foi considerada fator principal na alteração desse parâmetro (MARDININGSIH; ROHIMATUN, 2021).

Entretanto, para o presente estudo a redução na massa e na fecundidade não pode ser atribuída ao efeito antialimentar, uma vez que as lagartas ingeriram a dieta tratada até a mudança para fase de pupa. Nesse caso é possível inferir que o OE tenha causado alguma alteração no trato digestório do inseto de modo a comprometer o processo de digestão, indispensável para seu desenvolvimento, tal como foi

reportado em estudo realizado com *Hypothenemus hampei* (Ferrari, 1867) (Coleoptera: Curculionidae). Nas análises histopatológicas realizadas no intestino médio de *H. hampei*, após exposição alimentar ao OE de *P. cablin* foram constatadas irregularidades na arquitetura do epitélio, desorganização das vilosidades, vacuolização do citoplasma e liberação de fragmentos celulares no lúmen intestinal. O dano causado nessas estruturas tende a prejudicar a digestão e conseqüentemente comprometer os parâmetros reprodutivos (SANTOS et al., 2022).

O efeito de repelência, fumigante e contato do OE de *P. cablin*, é frequentemente reportado na literatura (DEVI et al., 2020; BAGADE et al., 2021; CABALLERO-GALLARDO et al., 2022), contudo, os estudos que visam avaliar a toxicidade via ingestão do OE, bem como o modo de ação dessas substâncias ainda são escassos.

Buscando mitigar os problemas relacionados a baixa estabilidade dos compostos presentes no OE de *P. cablin*, foi elaborado uma nanoemulsão do OE e um complexo de inclusão com β -CD, porém não foram constatados efeitos inseticidas aditivos nessas formulações (Figura 9). A similaridade verificada entre a taxa de sobrevivência dos insetos alimentados com os tratamentos contendo o OE não formulado e a NE 02, será investigada em estudos posteriores, com o objetivo ajustar uma maior toxicidade para essa formulação. Destaca-se que uma vez que o tamanho médio das gotas foi de $248,5 \pm 18,05$ nm, e está em conformidade com os estudos encontrados na literatura (PONGSUMPUN; IWAMOTO; SIRIPATRAWAN, 2020; SHARMA et al., 2021).

No que se refere aos resultados verificados para o complexo de inclusão β -CD com o OE, o efeito inseticida foi reduzido em aproximadamente 74% quando comparado ao OE não formulado. Esse resultado se assemelha ao encontrado em estudo conduzido com OE de *Rosmarinus officinalis* L. (Lamiaceae) e seus constituintes majoritários contra *Ectomyelois ceratoniae* (Zeller, 1839) (Lepidoptera: Pyralidae) (BEN ABADA et al., 2023), onde os autores verificaram que a toxicidade dos compostos foi superior em sua forma não complexada, quando comparado ao complexo de inclusão β -CD, tal efeito é atribuído a característica de proteção e manutenção da toxicidade da compostos voláteis presentes em OE. A exemplo, o efeito de repelência de um complexo de β -CD com OE de *Nepeta cataria* L. (Lamiaceae) que foi potencializado contra o carrapato *Ixodes scapularis* (Say, 1821) (Ixodida: Ixodidae), e demonstrou que a liberação do princípio ativo pode melhorar a

duração efetiva do repelente ao longo do tempo (HOGENBOM; ISTANBOULI; FARAONE, 2021).

Dado o exposto, os resultados aqui descritos reforçam a necessidade de avaliar os efeitos do OE sobre todas as fases do ciclo de vida do inseto, de modo que embora 50% da população tenha sobrevivido na concentração aqui empregada, a ingestão da substância pode afetar outros processos fisiológicos e comprometer o desenvolvimento da progênie em condições naturais. No que se refere complexos de inclusão com β -CD, os resultados relatados na literatura confirmam que elas são ferramentas mais interessantes para a proteção de compostos voláteis, presentes em OE, os quais atuam de forma repelente ou fumigante em insetos. À princípio, o complexo β -CD parece não ser uma boa estratégia para metabólitos que atuam por ingestão. A nanoemulsão apresentou boas características para um nanossistema, apesar de não ter sido mais tóxica do que o OE não formulado, deve-se conduzir outros ensaios com vistas a avaliar a sua persistência no ambiente, toxicidade ao longo do tempo, fitotoxicidade e efeito para organismos não-alvo.

5 CONCLUSÃO

O OE de *P. cablin* possui toxicidade aguda para *S. frugiperda* em ensaio de ingestão. As concentrações subletais do OE alteraram parâmetros biológicos do ciclo de vida de *S. frugiperda*. A nanoformulação do OE de *P. cablin* mostrou a mesma toxicidade do que o OE dessa planta em ensaio de ingestão. Ao passo que o complexo β -CD com o OE não foi tóxico para *S. frugiperda*.

REFERÊNCIAS

- ABADA, M. et al. Encapsulation of *Rosmarinus officinalis* essential oil and of its main components in cyclodextrin: application to the control of the date moth *Ectomyelois ceratoniae* (Pyralidae). **Pest Management Science**, 2023.
- ALINA DEVI, M. et al. Chemical compositions and insecticidal efficacies of four aromatic essential oils on rice weevil *Sitophilus oryzae* L. **International Journal of Tropical Insect Science**, v. 40, p. 459–559, 2020.
- ALVES E. Introdução à microscopia eletrônica de varredura. Lavras, FAEPE, 43p, 2014.
- BANDI, S. M. et al. Insecticidal, residual and sub-lethal effects of some plant essential oils on *Callosobruchus analis* (F.) infesting stored legumes. **International Journal of Tropical Insect Science**, v. 23, p. 383-395, 2023.
- BRASIL. **Ministério da Agricultura e Pecuária**. O Programa de Bioinsumos 2023. Disponível em: <https://www.gov.br/agricultura/pt-br/assuntos/inovacao/bioinsumos/o-programa>. Acesso em: 20 abril 2023.
- BEUKEBOOM, L. W. Size matters in insects – an introduction. **Entomologia Experimentalis et Applicata**, v. 166, n. 1, p. 2–3, 2018.
- BRICARELLO, P. A. et al. Ovicidal, larvicidal and oviposition repelling action of a nanoemulsion of citronella essential oil (*Cymbopogon winterianus*) on *Cochliomyia hominivorax* (Diptera: Calliphoridae). **Journal of Asia-Pacific Entomology**, v. 24, n. 3, p. 724–730, 2021.
- CABALLERO-GALLARDO, K. et al. Chemical Composition, Repellent Action, and Toxicity of Essential Oils from *Lippia origanoide*, *Lippia alba* Chemotypes, and *Pogostemon cablin* on Adults of *Ulomoides dermestoides* (Coleoptera: Tenebrionidae). **Insects**, v. 14, n. 1, p. 41, 2022.
- FOURNIER, G.; LEBOEUF, M.; CAVÉ, A. Annonaceae essential oils: A review. **Journal of Essential Oil Research**, v. 11, n. 2, p. 131–142, 1999.
- GOERGEN, G. et al. First report of outbreaks of the fall armyworm *Spodoptera frugiperda* (J E Smith) (Lepidoptera, Noctuidae), a new alien invasive pest in West and Central Africa. **PLOS ONE**, v. 11, n. 10, p. 1–9, 2016.
- GUO, Z. et al. Insecticide Susceptibility and Mechanism of *Spodoptera frugiperda* on Different Host Plants. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 70, n. 36, p. 11367–11376, 2022.
- HOGENBOM, J.; ISTANBOULI, M.; FARAONE, N. Novel β -cyclodextrin and catnip essential oil inclusion complex and its tick repellent properties. **Molecules**, v. 26, n. 23, 2021.

- IKAWATI, S. et al. Toxicity nanoinsecticide based on clove essential oil against *Tribolium castaneum* (Herbst). **Journal of Pesticide Science**, v. 46, n. 2, p. 222–228, 2021.
- ISMAN, M. B. Pesticides based on plant essential oils: Phytochemical and practical considerations. Em: **ACS Symposium Series**. American Chemical Society, v. 1218p. 13–26, 2016.
- KAREEM, K. T. et al. Fall armyworm (*Spodoptera frugiperda*) (J. E. Smith) (Lepidoptera: Noctuidae) infestation: maize yield depression and physiological basis of tolerance. **Journal of Plant Protection Research**, v. 62, n. 1, p. 12-21, 2022.
- LAMPIRI, E. et al. Insecticidal effect of *Dittrichia viscosa* lyophilized epicuticular material against four major stored-product beetle species on wheat. **Crop Protection**, v. 132, 2020.
- MACHIAL, C. M. et al. Evaluation of the toxicity of 17 essential oils against *Choristoneura rosaceana* (Lepidoptera: Tortricidae) and *Trichoplusia ni* (Lepidoptera: Noctuidae). **Pest Management Science**, v. 66, n. 10, p. 1116–1121, 2010.
- MARDININGSIH, T. L.; ROHIMATUN. Bioactivities of Lamiaceae, Myristicaceae, and Myrtaceae plant oils against *Nilaparvata lugens* St I. (Hemiptera: Delphacidae). **IOP Conference Series: Earth and Environmental Science**, n. 948, 2021.
- MOSSA, A. T. 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.
- MURCIA-MESEGUER, A. et al. Insecticidal toxicity of thirteen commercial plant essential oils against *Spodoptera exigua* (Lepidoptera: Noctuidae). **Phytoparasitica**, v. 46, n. 2, p. 233–245, 2018.
- PONGSUMPUN, P.; IWAMOTO, S.; SIRIPATRAWAN, U. Response surface methodology for optimization of cinnamon essential oil nanoemulsion with improved stability and antifungal activity. **Ultrasonics Sonochemistry**, v. 60, 2020.
- PRADEEP BAGADE, R. et al. Toxicity and repellency of four plant essential oils against *Tribolium castaneum* (Herbst) (Coleoptera: Tenebrionidae). **International Journal of Tropical Insect Science**, v. 41, p. 1505-1512, 2021.
- SAATH, K. C. DE O.; FACHINELLO, A. L. Crescimento da Demanda Mundial de Alimentos e Restrições do Fator Terra no Brasil. **Revista de Economia e Sociologia Rural**, v. 56, n. 2, p. 195–212, 2018.
- SANTOS, A. A. et al. Lethal and sublethal effects of an emulsion based on *Pogostemon cablin* (Lamiaceae) essential oil on the coffee berry borer, *Hypothenemus hampei*. **Environmental Science and Pollution Research**, v. 29, n. 30, p. 45763–45773, 2022.
- SHARMA, M. et al. Mosquito repellent and larvicidal perspectives of weeds *Lantana camara* L. and *Ocimum gratissimum* L. found in central India. **Biocatalysis and Agricultural Biotechnology**, v. 34, 2021.

STENGER, L. D. et al. Toxicity of essential oil of *Eugenia uniflora* (L.) to *Thaumastocoris peregrinus* (Hemiptera: Thaumastocoridae) and selectivity to the parasitoid *Cleruchoides noackae* (Lin & Hubert) (Hymenoptera: Mymaridae). **Crop Protection**, v. 147, 2021.

SOUZA, D. DE. **Toxicidade de óleos essenciais de lamiáceas e da nanoemulsão de *Pogostemon cablin* (Blanco) Benth (Lamiaceae) para *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith, 1797) (Lepidoptera: Noctuidae)**. Dissertação (Mestrado) – Programa de Pós-Graduação em Recursos Naturais e Sustentabilidade, Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Santa Helena, 2022.

SUN, X. et al. Antimicrobial and mechanical properties of β -cyclodextrin inclusion with essential oils in chitosan films. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 62, n. 35, p. 8914–8918, 2014.