



Bioatividade do óleo essencial de *Citrus sinensis* L. (Rutaceae) e do D'limoneno para *Spodoptera frugiperda* (J. E. Smith) (Lepidoptera: Noctuidae)

Bioactivity of *Citrus sinensis* L. (Rutaceae) essential oil and D'limonene for *Spodoptera frugiperda* (J. E. Smith) (Lepidoptera: Noctuidae)

Sheila Cristiane Piva Guesser¹, Diessica Maristela Chitolina², Bárbara Cristina Lopes³, Kawany Stelle Freire de Lima⁴, DeJane Santos Alves⁵

RESUMO

A lagarta-do-cartucho *Spodoptera frugiperda* constitui um dos principais lepidópteros pragas nas Américas. Os métodos empregados para seu controle acarretam efeitos ambientais adversos e seleção de populações de insetos resistentes. Assim, esse trabalho teve como objetivo determinar a toxicidade do óleo essencial (OE) de *Citrus sinensis* e do D'limoneno para lagartas de *S. frugiperda*, em ensaio de toxicidade aguda. Os tratamentos foram previamente solubilizados em acetona e aplicados no dorso de lagartas de *S. frugiperda*, na dose de 100 µg de OE/lagarta. Como controle negativo as lagartas foram tratadas apenas com acetona. Os insetos foram mantidos individualizados em tubos de vidro, contendo dieta artificial. O delineamento foi casualizado com 50 repetições por tratamento. A sobrevivência das lagartas foi avaliada a cada 24 h, por 120 h. O OE de *C. sinensis* e o D'limoneno foram altamente tóxicos para lagartas de *S. frugiperda*. As probabilidades de sobrevivência foram de 0 e 6 %, respectivamente, para *C. sinensis* e o D'limoneno. Dessa forma, conclui-se que em ensaio de aplicação tópica esses tratamentos são altamente tóxicos, em condições de laboratório.

PALAVRAS-CHAVE: inseticidas botânicos; manejo de insetos; produtos naturais.

ABSTRACT

The fall armyworm *Spodoptera frugiperda* is one of the main lepidopteran pests in the Americas. The methods used for its control lead to adverse environmental effects and the selection of resistant insect populations. Thus, this work aimed to determine the toxicity of *Citrus sinensis* essential oil (EO) and D'limonene against *S. frugiperda* caterpillars, in an acute toxicity test. The treatments were previously solubilized in acetone and applied to the back of *S. frugiperda* caterpillars, at a dose of 100 µg of EO/larvae. As a negative control, the caterpillars were treated with acetone alone. The insects were kept individually in glass tubes containing an artificial diet. The design was randomized with 50 replications per treatment. Caterpillar survival was assessed every 24 h for 120 h. *C. sinensis* EO and D'limonene were highly toxic to *S. frugiperda* caterpillars. Survival probabilities were 0 and 6%, respectively, for *C. sinensis* and D'limonene. Therefore, it is concluded that in topical application tests, these treatments are highly toxic under laboratory conditions.

KEYWORDS: botanical insecticides; pest management; natural products.

¹ Voluntário do Programa Institucional de Bolsas de Iniciação Científica. Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Santa Helena, Paraná, Brasil. E-mail: sheilaguesser@alunos.utfpr.edu.br. ID Lattes: 7019240962125053

² Voluntário do Programa Institucional de Bolsas de Iniciação Científica. Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Santa Helena, Paraná, Brasil. E-mail: diessicamaristela@gmail.com. ID Lattes: 1194391468443290.

³ Bolsista da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior/Programa de Pós-Graduação em Recursos Naturais e Sustentabilidade. Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Santa Helena, Paraná, Brasil. E-mail: lopesb@alunos.utfpr.edu.br. ID Lattes: 8392265388551351

⁴ Bolsista do Programa Institucional de Bolsas de Iniciação Científica. Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Santa Helena, Paraná, Brasil. E-mail: kawanylima@alunos.utfpr.edu.br. ID Lattes: 0277074604954885.

⁵ Docente no Curso de Agronomia/Programa de Pós-Graduação em Recursos Naturais e Sustentabilidade. Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Santa Helena, Paraná, Brasil. E-mail: dejanealves@utfpr.edu.br. ID Lattes: 2618374563932861.



INTRODUÇÃO

A lagarta-do-cartucho *Spodoptera frugiperda* (J. E. Smith, 1797) é um inseto de hábito polífago, com elevada capacidade de reprodução e dispersão (POGUE, 2002). No Brasil, é considerada praga-chave na cultura do milho. Pode causar danos nas culturas desde a fase de plântula até o estágio reprodutivo (AGROLINK, 2023).

O uso intenso e indiscriminado de inseticidas químicos sintéticos e plantas geneticamente modificadas para o controle de *S. frugiperda*, tem causado a seleção de populações resistentes (MONNERAT *et al.*, 2015; NASCIMENTO *et al.*, 2023), efeitos ambientais adversos (YU; LU; QIAN, 2023) e mortalidade em organismos não-alvo (PAUS-KNUDSEN *et al.*, 2023).

Nesse contexto, inseticidas botânicos emergem como uma possibilidade, na maioria das vezes, ambientalmente segura para o controle de artrópodes-pragas. Entre as espécies de plantas com reconhecida atividade inseticida destacam-se aquelas do gênero *Citrus* spp. Os óleos (OEs) de plantas derivadas de *Citrus* spp. merecem reconhecido destaque no Brasil, por serem oriundos de resíduos industriais. Já que são obtidos a partir da prensagem das cascas dos frutos e o Brasil é o maior produtor mundial de laranja (BIZZO; ANA MARIA; REZENDE, 2009). Enquanto o D'limoneno é um dos compostos majoritários encontrados em OEs de plantas cítricas (ANANDAKUMAR; KAMARAJ; VANITHA, 2021).

Dado o exposto, esse trabalho estudou a hipótese de que o OE de *Citrus sinensis* L. (Rutaceae) e o composto D'limoneno são tóxicos para lagartas de *S. frugiperda*. Assim, o objetivo desse estudo foi determinar a toxicidade do OE de *C. sinensis* e do D'limoneno para lagartas de *S. frugiperda* em ensaio de toxicidade aguda.

MATERIAIS E MÉTODOS

OBTENÇÃO DOS TRATAMENTOS

Os inseticidas botânicos oriundos das cascas do caule de *C. sinenses* e o composto D'limoneno foram obtidos comercialmente da empresa Destilaria Bauru, Catanduva – São Paulo.

CRIAÇÃO DE *S. frugiperda*

Os adultos foram alimentados com solução aquosa de mel a 10%, enquanto as lagartas foram mantidas com dieta artificial preparada conforme descrito por Parra (2001). No ensaio foram empregadas lagartas com 72 h de idade, previamente mantidas em dieta artificial.

A criação e o ensaio foram mantidos em sala climatizada (temperatura: 25±2°C; umidade relativa: 70±10%; fotoperíodo: 12h).

ENSAIO DE TOXICIDADE AGUDA

Os tratamentos (10 mg) foram solubilizados em acetona (100 µL) e aplicados, com o auxílio de uma microseringa tipo Hamilton®, sobre o dorso de lagartas de *S. frugiperda* com 72 h de vida, previamente alimentadas com dieta artificial. Dessa forma, os mesmos



foram usados na dose de 100 µg de OE/lagarta. Em seguida, as lagartas foram transferidas para tubos de vidro, contendo secções de dieta artificial de tamanhos iguais (1,0 x 1,0 x 1,5 cm). Os tubos foram vedados com algodão hidrofílico.

Como controle negativo foi utilizada acetona. O ensaio foi conduzido em delineamento inteiramente casualizado, com 50 repetições por tratamento. As avaliações de sobrevivência dos insetos foram feitas a cada 24 h por 120 h, pela contagem dos insetos vivos e mortos.

ANÁLISE ESTATÍSTICA

Os dados de sobrevivência dos insetos, ao longo do tempo, foram submetidos à análise de sobrevivência utilizando o estimador de Kaplan-Meier. As curvas de sobrevivência foram comparadas por meio do teste de Pairwise. O Tempo Letal Mediano (TL₅₀) para cada tratamento foi estimado. Todas as análises foram conduzidas empregando o software R (R CORE TEAM, 2023).

RESULTADOS E DISCUSSÕES

As lagartas de *S. frugiperda* ao serem submetidas a aplicação com os tratamentos provenientes do D'limoneno e do OE de *C. sinensis* tiveram redução na probabilidade de sobrevivência ($\chi^2 = 137$; gl = 2; $p \leq 0,001$). A probabilidade de sobrevivência foi de 6 e 0%, ou seja, as taxas de mortalidade foram de 94 e 100% para os insetos que receberam os tratamentos com o D'limoneno e o OE de *C. sinensis*. O tempo letal mediano (TL₅₀), ou seja, tempo necessário para causar mortalidade em 50% da população foi menor que 24 h para ambos os tratamentos (Figura 1).

O OE de *C. sinensis* é descrito por apresentar atividade para algumas espécies de insetos (HUSSEIN; TAWFEEK; ABDELGALEIL, 2021; PEI *et al.*, 2023). No que se refere especificamente a *S. frugiperda*, o extrato de resíduos de *C. sinensis* já foi reportado por causar atividade antialimentar para lagartas desse inseto (JIMÉNEZ *et al.*, 2013; RODRÍGUEZ *et al.*, 2014). Entretanto, ensaios de toxicidade tópica com o OE são escassos até o momento.

O D'limoneno é um dos compostos majoritários encontrados em OEs de várias plantas cítricas, tais como: laranja, limão, tangerina, lima e toranja. Ressalta-se que essa substância encontra-se listada como segura no Código de Regulamentações Federais (CODE OF FEDERAL REGULATIONS, 2023). Os resultados encontrados nesse estudo estão de acordo com trabalhos prévios que descreveram a toxicidade do limoneno para *S. frugiperda* (CRUZ *et al.*, 2017a; CRUZ *et al.*, 2017b).

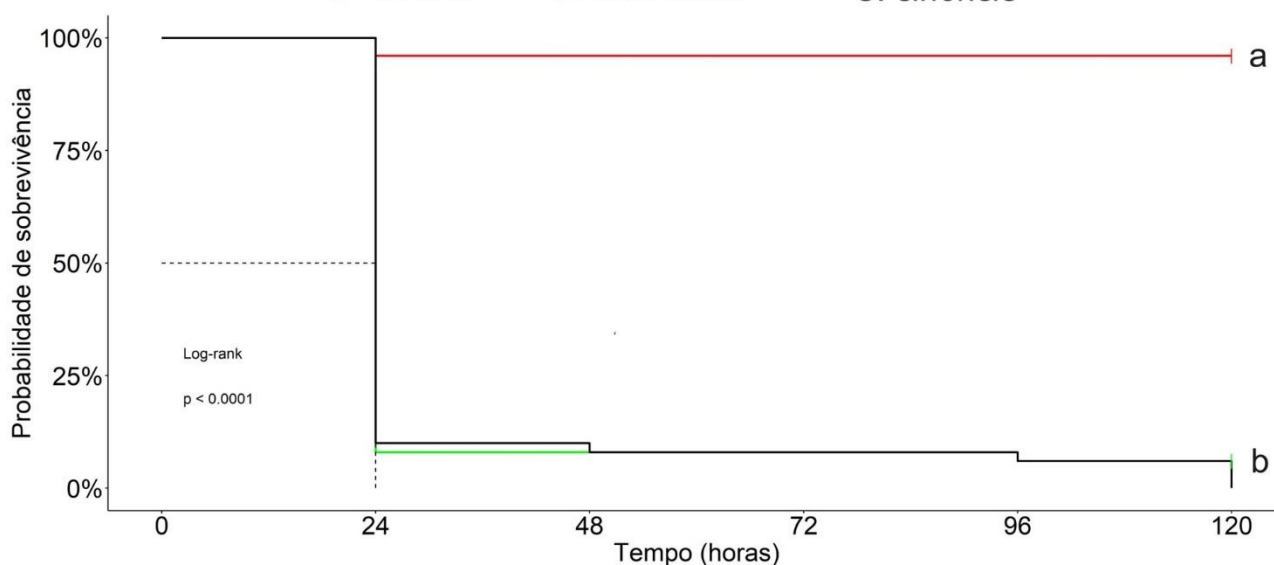
São necessários estudos com vistas a verificar o efeito desses OEs sobre inimigos naturais e polinizadores. Embora, produtos de origem natural sejam conhecidos por apresentarem maior segurança ambiental esse é um ponto que deve ser estudado. Além disso, ressalta-se a importância da condução de trabalhos em condições de casa-de-vegetação e posteriormente em campo. Haja vista que produtos de origem vegetal podem ser termoestáveis e fotodegradáveis, o que seria um fator limitante para a aplicação em campo.



Figura 1 - Análise de sobrevivência, ao longo do tempo, de lagartas de *Spodoptera frugiperda* após a aplicação tópica do D'limoneno e do óleo essencial de *Citrus sinensis*.

Tratamentos	Tempo Letal Mediano (TL ₅₀)	Probabilidade de sobrevivência (%)
Acetona	> 120 h	96,0 ± 2,77 a
D'limoneno	24 h	6,0 ± 3,36 b
<i>Citrus sinensis</i>	24 h	0,0 ± 0,00 b

+ Acetona + D'limoneno + *C. sinensis*



CONCLUSÃO

O OE de *C. sinensis* e o D'limoneno apresentaram toxicidade aguda para lagartas de *S. frugiperda* em ensaio de aplicação tópica, conduzido em condições de laboratório.

Agradecimentos

Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), Fundação Araucária (FA), Secretaria de Estado da Ciência, Tecnologia e Ensino Superior do Paraná (SETI), Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) e Universidade Tecnológica Federal do Paraná (UTFPR).

Conflito de interesse

Não há conflito de interesse.

REFERÊNCIAS

AGROLINK. Lagarta do cartucho (*Spodoptera frugiperda*). Disponível em:



<https://www.agrolink.com.br/problemas/lagarta-do-cartucho_252.html>. Acesso em: 12 de setembro de 2023.

ANANDAKUMAR, Pandi *et al.* D-limonene: A multifunctional compound with potent therapeutic effects. **Journal of food biochemistry**, v. 45, n. 1, 2021.

BIZZO, Humberto R.; ANA MARIA, C. Hovell; REZENDE, Claudia M. Óleos essenciais no Brasil: aspectos gerais, desenvolvimento e perspectivas. **Química Nova**, v. 32, n. 3, p. 588–594, 2009.

CRUZ, Glaucilane Santos *et al.* Chemical composition and insecticidal activity of the essential oils of *Foeniculum vulgare* Mill., *Ocimum basilicum* L., *Eucalyptus staigeriana* F. Muell. ex Bailey, *Eucalyptus citriodora* Hook and *Ocimum gratissimum* L. and their major components on *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae). **Journal of Essential Oil Bearing Plants**, v. 20, n. 5, p. 1360–1369, 2017a.

CRUZ, Glaucilane Santos *et al.* Effect of trans-anethole, limonene and your combination in nutritional components and their reflection on reproductive parameters and testicular apoptosis in *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae). **Chemico-Biological Interactions**, v. 263, p. 74–80, 2017b.

NASCIMENTO, Antonio Rogério Bezerra *et al.* Susceptibility monitoring and comparative gene expression of susceptible and resistant strains of *Spodoptera frugiperda* to lambda-cyhalothrin and chlorpyrifos. **Pest Management Science**, v. 79, n. 6, p. 2206–2219, 2023.

CODE OF FEDERAL REGULATIONS. Disponível em: <<https://www.ecfr.gov/>>. Acesso em: 13 de setembro de 2023.

HUSSEIN, Hanaa S.; TAWFEEK, Mohamed E.; ABDELGALEIL, Samir A. M. Chemical composition, aphicidal and antiacetylcholinesterase activities of essential oils against *Aphis nerii* Boyer de Fonscolombe (Hemiptera: Aphididae). **Journal of Asia-Pacific Entomology**, v. 24, n. 2, p. 259–265, 2021.

JIMÉNEZ, Ángel Arturo *et al.* Actividad anti-alimentaria de metabolitos secundarios de residuos cítricos sobre *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae). **Revista Colombiana De Entomologia**, v. 39, n. 1, 2013.

MONNERAT, Rose *et al.* Evidence of field-evolved resistance of *Spodoptera frugiperda* to Bt corn expressing Cry1F in Brazil that is still sensitive to modified Bt Toxins. **PLOS ONE**, v. 10, n. 4, p. 1–12, 2015.

PARRA, José Roberto Postali. **Técnicas de criação de insetos para programas de controle biológico (2001)**. Piracicaba: ESALQ/FEALQ, 2001. 134 p.

PAUS-KNUDSEN, Julie Sorlie *et al.* The Neonicotinoid imidacloprid impairs learning, locomotor activity levels, and sucrose solution consumption in bumblebees (*Bombus terrestris*). **Environmental Toxicology and Chemistry**, v. 42, n. 6, p. 1337–1345, 2023.

PEI, Tian-Hao *et al.* Preliminary study on insecticidal potential and chemical composition of five rutaceae essential oils against *Thrips flavus* (Thysanoptera: Thripidae). **Molecules**, v. 28, n. 7, p. 2998, 2023.

XIII Seminário de Extensão e Inovação
XXVIII Seminário de Iniciação Científica e Tecnológica da UTFPR

Ciência e Tecnologia na era da Inteligência Artificial: Desdobramentos no Ensino Pesquisa e Extensão
20 a 23 de novembro de 2023 - Campus Ponta Grossa, PR



SEI-SICITE
2023



POGUE, Michael. A world revision of the genus *Spodoptera* (Guenée) Lepidoptera: Noctuidae. **Memoirs of the American Entomological Society**, v. 43, p. 1–201, 2002.

R CORE TEAM. **R: A language and environment for statistical computing**. Vienna, Austria. R Foundation for Statistical Computing, 2023.

RODRÍGUEZ R, Laura Daniela *et al.* Relationship between content of limonin in citrus waste and antifeedant activity against *Spodoptera frugiperda*. **Revista Colombiana de Entomologia**, v. 40, n. 2, p. 164–169, 2014.

YU, Zhitao; LU, Tao; QIAN, Haifeng. Pesticide interference and additional effects on plant microbiomes. **Science of The Total Environment**, v. 888, p. 164149, 2023.