



## Toxicidade da nanoemulsão do óleo essencial de *Pogostemon cablin* Benth (Lamiaceae) para *Spodoptera frugiperda*

### Toxicity of nanoemulsion from *Pogostemon cablin* Benth (Lamiaceae) essential oil against *Spodoptera frugiperda* J.E. Smith (Lepidoptera:Noctuidae)

Kawany Stelle Freire de Lima<sup>1</sup>, Katiane Pompermayer<sup>2</sup>, Barbara Cristina Lopes<sup>3</sup>, Júlia Assunção de Castro Oliveira<sup>4</sup>, DeJane Santos Alves<sup>5</sup>

#### RESUMO

A lagarta-do-cartucho *Spodoptera frugiperda* tem se dispersado para outros continentes, fora da sua área de origem, e se tornando uma ameaça à agricultura global. Em vista disso, os inseticidas botânicos são uma possibilidade para o seu controle. Assim, o desenvolvimento de formulações adequadas para a comercialização desses produtos torna-se uma necessidade. Diante disso, o objetivo desse trabalho foi desenvolver uma nanoemulsão do óleo essencial (OE) (nano-OE) de *Pogostemon cablin* para o controle de lagartas *S. frugiperda*. O OE de *P. cablin* foi obtido por agitação em aparelho UltraTurrax. A nano-OE e OE de *P. cablin* foram solubilizados em solução aquosa de Tween 80 a 1% e incorporados à dieta artificial de *S. frugiperda*. Os controles negativos foram dieta acrescida de água, solução aquosa de Tween 80 a 1% e branco da nanoemulsão. Pedacos de dieta foram oferecidos a lagartas com 48 h de vida. O delineamento foi casualizado com 50 repetições por tratamento. A sobrevivência dos insetos foi avaliada, a cada 24 h, durante 168 h. Constatou-se que a nano-OE apresentou toxicidade para *S. frugiperda* estatisticamente igual ao observado para o OE de *P. cablin*. Os resultados aqui descritos abrem perspectivas para o desenvolvimento de novas formulações de inseticidas botânicos.

**PALAVRAS-CHAVE:** inseticidas botânicos; nanoemulsões; nanoformulações.

#### ABSTRACT

The fall armyworm *Spodoptera frugiperda* has spread to other continents, outside its area of origin, becoming a threat to global agriculture. In view of this, botanical insecticides are a possibility for its control. Therefore, the development of suitable formulations for the commercialization of these products becomes a necessity. Therefore, the objective of this study was to develop a nanoemulsion of the essential oil (EO) (nano-EO) of *Pogostemon cablin* against *S. frugiperda* caterpillars. The EO of *P. cablin* was obtained by shaking in an UltraTurrax device. The nano-EO and OE of *P. cablin* were solubilized in an aqueous solution of 1% Tween 80 and incorporated into the artificial diet of *S. frugiperda*. Negative controls were diet plus water, Tween 80 aqueous solution 1% and nanoemulsion blank. Pieces of diet were offered to caterpillars at 48 h of age. The

<sup>1</sup> Bolsista do Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico/Programa Institucional de Iniciação Tecnológica. Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Santa Helena, Paraná, Brasil. E-mail: kawanylima@alunos.utfpr.edu.br. ID Lattes: 0277074604954885.

<sup>2</sup> 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: katiapompermayer@alunos.utfpr.edu.br. ID Lattes: 2922744439374758.

<sup>3</sup> 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.

<sup>4</sup> Bolsista da Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de Minas Gerais/Programa de Pós-Graduação em Plantas Mediciniais, Aromáticas e Condimentares. Universidade Federal de Lavras, Lavras, Minas Gerais, Brasil. E-mail: julia.oliveira7@estudante.ufla.br. ID Lattes: 6780852544488117.

<sup>5</sup> 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.



design was randomized with 50 replications per treatment. Insect survival was evaluated every 24 h for 168 h. It was found that nano-OE presented toxicity to *S. frugiperda* statistically equal to that observed for *P. cablin* OE. The results described here open perspectives for the development of new formulations of botanical insecticides.

**KEYWORDS:** botanical insecticides; nanoemulsions; nanoformulations

## INTRODUÇÃO

Entre as culturas agrícolas de maior importância econômica no Brasil, destacam-se o milho *Zea mays* L. (Poaceae) e a soja *Glycine max* (L.) Merrill (Fabaceae). Ambas são listadas entre as plantas hospedeiras em que a lagarta-do-cartucho (J.E. Smith) (Lepidoptera: Noctuidae) apresenta predileção alimentar. Esse inseto pode causar danos nas culturas desde a fase de plântula até a o estágio reprodutivo (AGROLINK, 2023). Nos últimos anos, *S. frugiperda* tem se tornado ainda mais preocupante, devido a sua ampla disseminação para além do seu local de origem. Embora, seja nativo das Américas sua presença tem sido constatada na Ásia, África e Oceania (GOERGEN, et. al., 2016; ANJORIN, et. al., 2022; GUO et. al., 2022).

Assim pesquisas por novas táticas de controle são indispensáveis. Deve-se considerar que são inúmeros os relatos da seleção de populações de *S. frugiperda* as táticas comumente usadas para o seu controle, tais como: o uso de inseticidas químicos sintéticos (NASCIMENTO *et al.*, 2023; SAMANTA *et al.*, 2023) e de plantas geneticamente modificadas que expressam toxinas Bt (MONNERAT *et al.*, 2015; HUANG, 2021).

Considerando o potencial e com o objetivo de aproveitamento da capacidade da biodiversidade brasileira para a produção agrícola sustentável, foi lançado, em 2020, o Programa Nacional de Bioinsumos (PNB) pelo Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento (MAPA) (BRASIL, 2023). O PNB tem como uma das vertentes o uso de produtos fitossanitários de origem vegetal, em que se enquadram os óleos essenciais (OEs).

Os OEs são arranjos complexos de metabólitos secundários de plantas, entre as quais existem vários com importância reconhecida pela sua eficiência inseticida e repelente para diversos grupos de insetos. (OLIVEIRA *et al.*, 2018; PRADEEP BAGADE *et al.*, 2019; IKAWATI *et al.*, 2021). Entretanto, existem fatores que limitam a comercialização de inseticidas botânicos, a exemplo: baixa estabilidade durante o processo de transporte e armazenamento; pouca solubilidade em água e necessidade de grande quantidade de produto para atingir o inseto-alvo (ISMAN, 2016). Para contornar esses problemas, as nanoformulações vêm se mostrando promissoras (MOSSA, 2016).

Dado o exposto, em trabalhos anteriores conduzidos pelo nosso grupo de pesquisa foi constatada atividade inseticida do OE de *Pogostemon cablin* Benth. (Lamiaceae) para lagartas de *S. frugiperda* (MENDES, 2022; POMPERMAYER, 2023). Assim, esse estudo teve como objetivo desenvolver e determinar a toxicidade da nanoemulsão do OE de *P. cablin* (nano-OE) para lagartas de *S. frugiperda*.

## MATERIAIS E MÉTODOS

### CRIAÇÃO DE *S. frugiperda*

Os insetos, utilizados nesse trabalho, foram oriundos de criação mantida em condições de laboratório.



As lagartas foram alimentadas com dieta artificial descrita por Parra (2001). Enquanto, os insetos adultos receberam como alimento solução aquosa de mel a 10%. A criação dos insetos e os bioensaios foram mantidos em sala climatizada com temperatura de  $25 \pm 2^\circ\text{C}$ , umidade relativa de  $70 \pm 10\%$  e fotoperíodo de 12 h.

#### OBTENÇÃO DO OE DE *P. cablin*

O OE, originado a partir de destilação a vapor das folhas de *P. cablin*, foi adquirido comercialmente pela empresa Ferquima (Vargem Grande Paulista – SP); Origem: Indonésia; Fabricado em abril/2021; Lote 162.

#### OBTENÇÃO E CARACTERIZAÇÃO DA NANO-OE DE *P. cablin*

Foram obtidas 6 (seis) nano-OE, empregando diferentes emulsificantes através do método de alta agitação em Dispensor Ultra-Turrax (IKA® T10 basic S032, Homogenizer Workcenter). A estabilidade das NEs-nano foi avaliada visualmente observando sua capacidade de resistência quando submetida a diferentes temperaturas e a centrifugação, sem que houvesse inversão de fase. A NE-nano que apresentou maior resistência à estas condições foi a selecionada para as fases seguintes do estudo. Essa nanoemulsão foi formada pelo OE, água e pelos emulsificantes Tween 80 e Kolliphor RH 40®. As concentrações não serão reveladas pois trata-se de dados sigilosos.

Para a caracterização da nano-OE, a mesma foi aplicada em laminulas, submetida à secagem em dessecador e, em seguida banho de ouro, conforme descrito por Alves, (2004). As imagens foram analisadas no equipamento Leo Evo 40.

#### ENSAIO DE TOXICIDADE CRÔNICA

O OE de *P. cablin* e a nano-OE- de *P. cablin* foram solubilizados em 10 mL de solução aquosa de Tween 80 a 1% e incorporados à dieta artificial (100 mL). A concentração utilizada, de ambos os tratamentos, foi a equivalente a concentração letal mediana ( $CL_{50}$ ), ou seja, concentração necessária para causar mortalidade em 50% da população, determinada em ensaios prévios (POMPERMAYER, 2023). Dessa maneira, a concentração empregada foi de 0,42 mg do OE/ mL de dieta. Para esse ensaio foram empregados como controles negativos, dieta acrescida de: água destilada, solução aquosa de Tween 80 a 1%, e a nano sem adição de OE. Alíquotas de dieta (1,0 x 1,0 x 1,5 cm) foram depositadas em tubo de vidro (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 cada repetição constituída por uma lagarta, mantida individualizada. A sobrevivência das lagartas foi avaliada a cada 24 h, durante 168 h.

Os dados de sobrevivência dos insetos, ao longo do tempo, 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 ( $TL_{50}$ ), ou seja, tempo necessário para causar 50% de mortalidade em cada tratamento foi estimado. Todas as análises foram realizadas no software R® (R DEVELOPMENT CORE TEAM, 2023).

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

A análise por Microscopia Eletrônica de Varredura da nano-OE demonstrou que houve a formação de um filme homogêneo com tamanho de partículas variando entre 23,05 e 38,54  $\mu\text{m}$ . As partículas apresentaram formato esférico (Figura 1). Dessa forma, trata-se de um nanosistema. Quando os nanosistemas são submetidos à secagem, tamanhos de partículas menores que 300  $\mu\text{m}$  são suficientes para caracterizar uma nanoemulsão (FATTAHI, 2020; KLANG, 2012; LIANG, 2022).

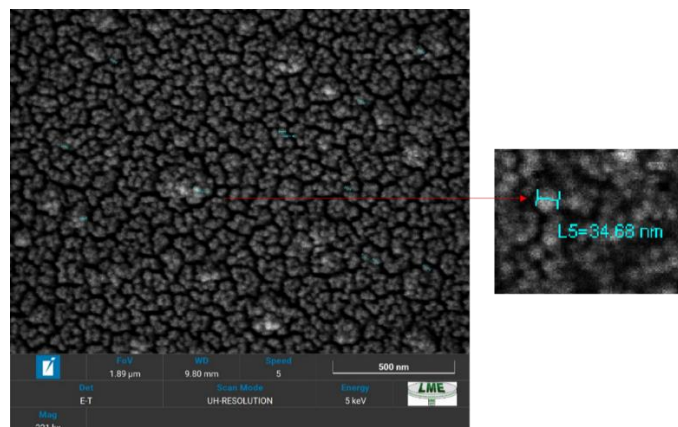
Constatou-se que não houve diferença estatística no que se refere à probabilidade de sobrevivência das lagartas de *S. frugiperda*, que receberam dieta contendo a nano-OE e o OE de *P. cablin*. As probabilidades de sobrevivência foram de  $38,0 \pm 6,86\%$  e  $46,0 \pm 7,05\%$ , respectivamente, para a nano-OE e o OE de *P. cablin*. Para ambos os tratamentos, o Tempo Letal Mediano ( $TL_{50}$ ), ou seja, tempo necessário para causar 50% de mortalidade foi de 24 h.. Para os controles negativos: água; solução aquosa de Tween e branco da nanoemulsão, as probabilidades de sobrevivência foram de  $98,0 \pm 1,98$ ,  $93,8 \pm 3,42$  e  $98,0 \pm 1,94\% \pm 3,36$ , e (Figura 2).

Estudos com o objetivo de avaliar a toxicidade do OE de *P. cablin* para *S. frugiperda* são escassos, até o momento. Destaca-se os relatos dos efeitos de repelência, fumigante e contato desse OE de *P. cablin* (DEVI et al., 2020; BAGADE et al., 2021; CABALLERO-GALLARDO et al., 2022).

A nano-OE de *P. cablin* foi elaborada, buscando minimizar os problemas relacionados a baixa estabilidade e solubilidade dos compostos presentes no OE de *P. cablin*. Ressalta-se que uma vez que o tamanho médio das gotas e está em conformidade com os estudos encontrados na literatura, o objetivo de desenvolver um nanosistema, foi atingindo (PONGSUMPUN; IWAMOTO; SIRIPATRAWAN, 2020; SHARMA et al., 2021).

Embora não tenha sido constatado efeito inseticida aditivo na formulação analisada, outros efeitos, além de permitir a solubilidade em água, tais como: maior estabilidade em campo, podem ter sido alcançados. Assim, demais estudos em condições de casa-de-vegetação serão conduzidos.

Figura 1. Microscopia Eletrônica de Varredura da nanoemulsão do óleo essencial de *Pogostemon cablin*.

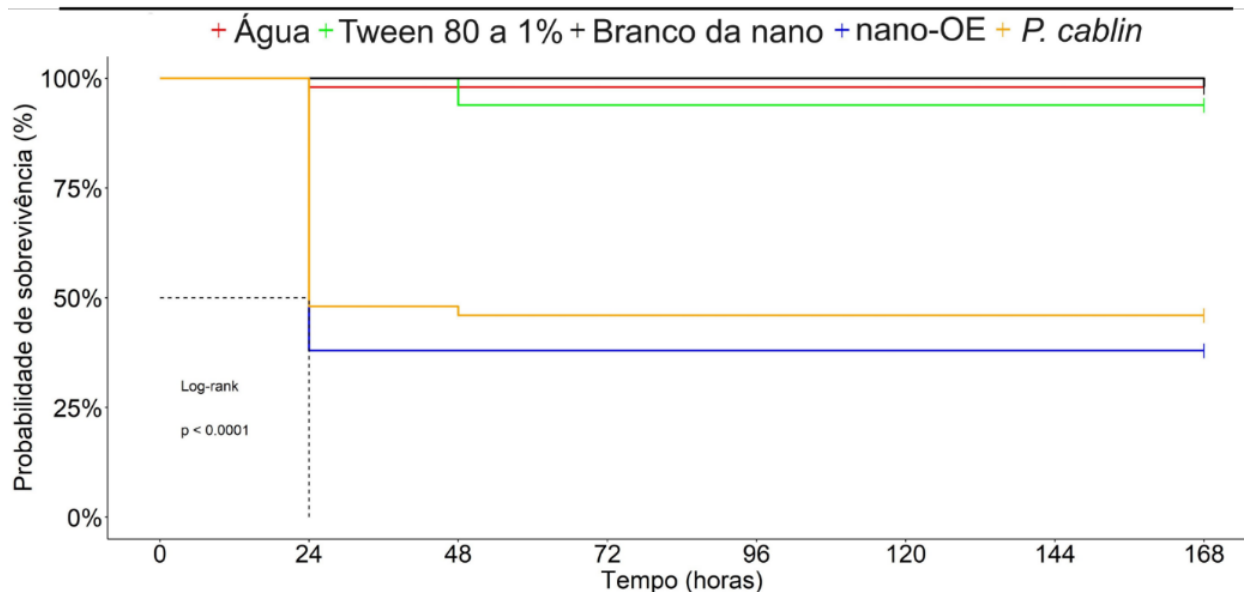


Fonte: Elaborado pelos autores (2023).



Figura 02 – Análise de sobrevivência, ao longo do tempo, de lagartas de *Spodoptera frugiperda* após ingestão de dieta artificial contendo a nanoemulsão e o óleo essencial de *Pogostemon cablin*

Tratamentos	Tempo Letal Mediano (TL <sub>50</sub> )	Probabilidade de sobrevivência (%)
Água	> 168 h	96,0 ± 1,96 a
Solução aquosa de Tween 80 a 1%	> 168 h	93,8 ± 3,42 a
Branco da nanoemulsão	> 168 h	98,0 ± 1,94 a
Nanoemulsão de <i>P. cablin</i>	24 h	38,0 ± 6,86 b
<i>P. cablin</i>	24 h	46,0 ± 7,05 b



\*Médias seguidas de mesma letra não diferem entre si, pelo teste de comparação múltipla de pairwise.  
Fonte: Elaborado pelos autores (2023).

## CONCLUSÃO

Portanto, objetivando desenvolver uma nanoemulsão do OE de *P. cablin* para o controle de *S. frugiperda*, foi possível a obtenção da nano-OE, que apresentou ótimas características tratando-se de um nanossistema. Constatou-se também, que a nano-OE foi tóxica para lagartas de *S. frugiperda*.

## 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), Laboratório de Microscopia Eletrônica e Análise Ultraestrutural da Universidade Federal de Lavras 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](https://www.agrolink.com.br/problemas/lagarta-do-cartucho_252.html). Acesso em: setembro 2023.
- ALVES, Eduardo. **Introdução à microscopia eletrônica de varredura**. Lavras, FAEPE, 43p, 2014.
- BRASIL. Ministério da Agricultura e Pecuária. **O programa de Bioensumos**. Disponível em: <https://www.gov.br/agricultura/pt-br/assuntos/inovacao/bioensumos/oprograma>. Acesso em: setembro 2023.
- DEVI, Mayanglambam Alina M. A. *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.
- FATTAHI, Reza *et al.* The effect of Macro and Nano-emulsions of cinnamon essential oil on the properties of edible active films. **Food Science & Nutrition**, v. 8, n. 12, p. 6568-6579, 2020.
- 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.
- HUANG, F. Resistance of the fall armyworm, *Spodoptera frugiperda*, to transgenic *Bacillus thuringiensis* Cry1F corn in the Americas: lessons and implications for Bt corn IRM in China. **Insect Science**, v. 28, n. 3, p. 574–589, 2021.
- ISMAN, M.B. Pesticides based on plant essential oils: phytochemical and practical considerations. **ACS Symposium Series**, v. 1218, p. 13–26, 2016.
- KLANG, Victoria *et al.* Electron microscopy of nanoemulsions: an essential tool for characterisation and stability assessment. **Micron**, v. 43, n. 2-3, p. 85-103, 2012.
- LIANG, Dongyi *et al.* Preparação, caracterização e atividade biológica da nanoemulsão do óleo essencial de Cinnamomum cassia. **Sonoquímica Ultrassônica**, v. 86, p. 106009, 2022.
- MONNERAT, R. *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.



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.

NASCIMENTO, A. R. B. *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.

PARRA, J. R. P. **Técnicas de criação de insetos para programas de controle biológico**. Piracicaba: ESALQ/FEALQ, 2001.

POMPERMAYER, K. **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)**. 2023. Dissertação (Mestrado em Recursos Naturais e Sustentabilidade) - Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Santa Helena, 2023.

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.

R DEVELOPMENT CORE TEAM. **R: The R Project for Statistical Computing**. Disponível em: <<https://www.r-project.org/>>. Acesso em: 14 abr. 2023

SAMANTA, S. *et al.* Evidence of population expansion and insecticide resistance mechanism in invasive fall armyworm (*Spodoptera frugiperda*). **BMC Biotechnology**, v. 23, n. 1, p. 1–15, 2023.

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 em Recursos Naturais e Sustentabilidade) - Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Santa Helena, 2022.