



**UNIVERSIDADE FEDERAL DO TOCANTINS
CAMPUS UNIVERSITÁRIO DE GURUPI
PÓS-GRADUAÇÃO EM PRODUÇÃO VEGETAL**

**TOXICIDADE E REPELÊNCIA DO ÓLEO ESSENCIAL DE NEGRAMINA PARA
LAGARTA DO CARTUCHO E LAGARTA DA SOJA**

ADRIANO MENDES LOURENÇO

**GURUPI -TO
FEVEREIRO-2016**



**UNIVERSIDADE FEDERAL DO TOCANTINS
CAMPUS UNIVERSITÁRIO DE GURUPI
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM PRODUÇÃO VEGETAL**

**TOXICIDADE E REPELÊNCIA DO ÓLEO ESSENCIAL DE NEGRAMINA PARA
LAGARTA DO CARTUCHO E LAGARTA DA SOJA**

ADRIANO MENDES LOURENÇO

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-graduação em Produção Vegetal da Universidade Federal do Tocantins, em 3 de fevereiro de 2016, como parte das exigências para a obtenção do título de Mestre em Produção Vegetal.

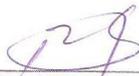
**GURUPI -TO
FEVEREIRO-2016**

Trabalho realizado junto ao curso de Mestrado em Produção Vegetal da Universidade Federal do Tocantins, sob a orientação do Prof^o Dr. Raimundo Wagner de Sousa Aguiar, com o apoio financeiro CAPES (Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior).

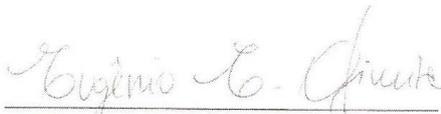
**TOXICIDADE E REPELÊNCIA DO ÓLEO ESSENCIAL DE NEGRAMINA PARA
LAGARTA DO CARTUCHO E LAGARTA DA SOJA**

Apresentada em 3 de fevereiro de 2016

BANCA EXAMINADORA



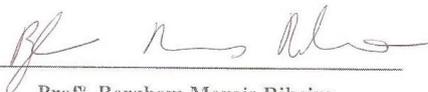
Prof^o Dr. Raimundo Wagner de Sousa Aguiar
(Orientador)



Prof^o Dr. Eugênio Eduardo de Oliveira
(Co-Orientador)



Prof^o Dr. Raul Narciso Carvalho Guedes
(Examinador Externo)



Prof^o Berghem Moraes Ribeiro
(Examinador)

Aos meus pais, Silene Mendes Mourão e Odair Lourenço, à minha esposa Adlainy Oliveira Guimarães Mendes, aos meus irmãos Cristiane Mendes Lourenço e Alexandre Mendes Lourenço, à minha avó Maria Mourão, e à minha sogra Creuza Oliveira Guimarães.

DEDICO

AGRADECIMENTOS

À Deus pelo dom da vida, e por ter me dado força e ânimo para concretizar este sonho. Foi socorro bem presente, diante das minhas angústias e tribulações. À Ele toda honra e glória!

À minha querida mãe Silene Mendes Mourão, pelo seu amor incondicional, por sempre ter acreditado em mim, por ter me ensinado a lutar pelos meus sonhos e pelas palavras de esperança e fé nos momentos de desânimo.

Ao meu querido pai Odair Lourenço, pelo apoio, pela confiança depositada e por todas os desafios que enfrentamos juntos para chegarmos até aqui.

À minha amada esposa Adlainy Guimarães, sem a qual eu não teria chegado até aqui! Sonhou comigo este sonho, e sempre esteve me dando forças e incentivo. Agradeço pela compreensão e por ser uma coluna e ponte de bênçãos em minha vida! Obrigado meu amor!

À minha amada irmã Cristiane Mendes, pela força, amizade, cumplicidade e apoio concedidos.

Ao meu irmão Alexandre Mendes, pela amizade, carinho e por sempre acreditar que venceríamos esta batalha.

À minha querida e amada avó Maria Mourão. Por todo apoio, abrigo, conforto e amor fraternal.

À minha querida sogra Creuza Guimarães, pelo carinho, amor e pelas mútuas intercessões nos momentos de fraqueza.

Aos tios (as) e primos (as) que fazem parte da minha grande família, obrigada pelo carinho e confiança.

À todos os membros da Igreja Evangélica Assembléia de Deus, Ministério-Madureira, Congregação Vila São José, Gurupi-TO. Amigos e irmãos em Cristo, que sempre estiveram torcendo e orando por mim, acreditando e vibrando pela realização deste sonho.

À todos os meus amigos da Pós-Graduação, pelas alegrias vivenciadas e também pelos momentos de angústias, pelo abraço amigo, pelas palavras de fé e incentivo, muito obrigado! Foram pra mim uma verdadeira família.

Ao meu orientador Dr. Raimundo Wagner de Sousa Aguiar, pela oportunidade de ter convivido e trabalhado juntos durante este tempo. Obrigado pelo apoio e por todas as experiências compartilhadas.

Ao grupo de pesquisa do Laboratório de Manejo Integrado de Pragas (MIP), da Universidade Federal do Tocantins, Campus de Gurupi, por todos os momentos vivenciados. Foi uma honra ter do meu lado pessoas tão esforçadas, dedicadas e amigas. Juntos adquirimos muitos conhecimentos, que sem dúvida, serão lembrados por toda vida.

Ao Dr. Eugênio Eduardo de Oliveira e ao Dr. Hudson Ventura, da Universidade Federal de Viçosa, que estiveram me orientando durante minha passagem na Universidade. Obrigado por todo apoio, aprendizado e pela oportunidade de ter trabalhado, mesmo que por pouco tempo, com uma equipe tão maravilhosa. Meu muito obrigado à todos!

A banca que aceitou me avaliar: Dr. Eugênio Eduardo de Oliveira, Dr. Raul Narciso Carvalho Guedes e Dr. Berghem Moraes Ribeiro.

À Universidade Federal do Tocantins, à todos os professores do Programa de Pós-Graduação em Produção Vegetal e funcionários desta instituição.

À todos que de alguma forma contribuíram para realização deste trabalho e minha formação profissional.

Muito obrigado!

"Nem olhos viram, nem ouvidos ouviram, nem jamais penetrou em coração humano, aquilo que Deus tem preparado para aqueles que o amam. "

1 Coríntios 2:9

SUMÁRIO

ATIVIDADE INSETICIDA E REPELENTE DE <i>Siparuna guianensis</i> AUBL. (NEGRAMINA) PARA LEPIDOPTERAS	Erro! Indicador não definido.
RESUMO DA DISSERTAÇÃO.....	13
ABSTRACT	14
INTRODUÇÃO GERAL.....	15
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	17
CAPITULO I.....	21
ATIVIDADE INSETICIDA E REPELENTE DO ÓLEO ESSENCIAL DE <i>Siparuna guianensis</i> AUBL. (NEGRAMINA) PARA LEPIDOPTERAS.....	21
RESUMO	21
ABSTRACT	22
1. INTRODUÇÃO.....	23
2. MATERIAL E MÉTODOS	25
2.1.Criação massal de <i>S. frugiperda</i> e <i>A. gemmatalis</i>	25
2.2. Obtenção do óleo essencial.....	25
2.3. Análise da composição química do óleo essencial.....	26
2.4. Efeito do óleo essencial de <i>S. guianensis</i> sobre viabilidade de ovos de <i>S. frugiperda</i> e <i>A. gemmatalis</i>	26
2.5. Determinação da CL ₅₀ e CL ₉₅ do óleo essencial de <i>S. guianensis</i> para <i>S. frugiperda</i> e <i>A. gemmatalis</i>	27
2.6. Testes de Repelência do óleo essencial de <i>S. guianensis</i> para <i>S. frugiperda</i> e <i>A. gemmatalis</i>	27
2.7. Teste Fagoinibição do óleo essencial de <i>S. guianensis</i> para <i>S. frugiperda</i> e <i>A. gemmatalis</i> com chance de escolha	29
2.8. Teste Fagoinibição do óleo essencial de <i>S. guianensis</i> para <i>S. frugiperda</i> e <i>A. gemmatalis</i> sem chance de escolha	29
2.9. Efeito da aplicação tópica do óleo essencial de <i>S. guianensis</i> para estágio de pupa de <i>S. frugiperda</i> e <i>A. gemmatalis</i>	30
2.10. Efeito do óleo essencial de <i>S. guianensis</i> sobre a Oviposição com chance de escolha para <i>S. frugiperda</i> e <i>A. gemmatalis</i>	30
3. RESULTADOS E DISCUSSÃO	32
4. CONCLUSÕES.....	49
5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	50

CAPITULO II.....	55
DETERRÊNCIA E REPELÊNCIA NO COMPORTAMENTO LOCOMOTOR DE <i>Spodoptera frugiperda</i> E <i>Anticarsia gemmatalis</i> AO ÓLEO DE <i>Siparuna guianensis</i>	
AUBLET (NEGRAMINA)	55
RESUMO	55
ABSTRACT	56
1. INTRODUÇÃO.....	57
2. MATERIAL E MÉTODOS	59
2.1 Insetos e inseticida	59
2.2 Bioensaio de atividade de grupo.....	59
2.3 Bioensaio de locomoção individual sem escolha	60
2.4 Bioensaio de locomoção individual com escolha (repelência).....	60
2.5 Análises Estatísticas.....	61
3. RESULTADOS	62
4. DISCUSSÃO.....	70
5. CONCLUSÕES	72
6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	73

LISTA DE FIGURAS

CAPITULO I

- Figura 1.** Metodologia utilizada nos testes de repelência para larvas de 3º instar de *A. gemmatalis* e *S. frugiperda* submetidas à diferentes concentrações do óleo essencial de *S. guianensis*.....27
- Figura 2.** Metodologia utilizada nos testes de fagoinibição alimentar para larvas de 3º instar de *A. gemmatalis* e *S. frugiperda*. Teste sem chance de escolha (A) e teste com chance de escolha (B).....29
- Figura 3:** Efeito do óleo essencial de *Siparuna guianensis* (negramina) sobre a viabilidade de ovos de *Anticarsia gemmatalis* (A) e *Spodoptera frugiperda* (B).....33
- Figura 4:** Atividade repelente do óleo essencial de *Siparuna guianensis* *Anticarsia gemmatalis* (A) e *Spodoptera frugiperda* (B) em dois tempos de exposição.....38
- Figura 5.** Consumo foliar (mg) de soja (MSOY 8866) e milho (AG1051 Agroceres) tratados e não tratados com óleo essencial de *S. guianensis*, pelas espécies *A. gemmatalis* (A) e *S. frugiperda* (B).....40
- Figura 6.** Ganho de peso (mg) das larvas de *A. gemmatalis* e *S. frugiperda* em 24 horas de exposição às folhas de soja (MSOY 8866) e milho (AG1051 Agroceres) tratadas com óleo essencial de *S. guianensis* com chance de escolha por folhas não tratadas.....41
- Figura 7.** Consumo foliar (mg) de *A. gemmatalis* e *S. frugiperda* em folhas de soja (MSOY 8866) e milho (AG1051 Agroceres) tratadas com óleo essencial de *S. guianensis*.....42
- Figura 8.** Ganho de peso (mg) das larvas de *A. gemmatalis* e *S. frugiperda* em 24 horas de exposição às folhas de soja (MSOY 8866) e milho (AG1051 Agroceres) tratadas com óleo essencial de *S. guianensis*.....44
- Figura 9.** Efeito da aplicação tópica do óleo essencial de *S. guianensis* sobre pupas de *A. gemmatalis* e *S. frugiperda*.....45
- Figura 10.** Aspectos de *S. frugiperda* e *A. gemmatalis* em bioensaios realizados com aplicação tópica do óleo essencial de *S. guianensis* na fase de pupa. Pupas mortas (A), insetos presos aos casulos (B) e mariposas com deformações morfológicas nas asas (C).....46

Figura 11. Proporção média de ovos depositados por *S. frugiperda* (A) e *A. gemmatalis* (B) em gaiolas em que metade delas eram tratadas (em diferentes concentrações) com óleo essencial de *S. guianensis*.....47

LISTA DE FIGURAS

CAPÍTULO II

Figura 1 – Representação esquemática das arenas utilizadas nos estudos de comportamento locomotor de *Spodoptera frugiperda* e *Anticarsia gemmatalis*. (A) Arenas com disco impregnado com resíduo seco do óleo essencial de *S. guianensis* (Tratado - T) ou sem a presença do óleo essencial de *S. guianensis* (controle – C); (B) Arenas cuja metade da área era tratada (Tratado - T) com óleo essencial de *S. guianensis*.....60

Figura 2. Efeitos do óleo essencial de *S. guianensis* (CL₁₀ e CL₅₀) na atividade locomotora (pixels⁻¹ × 10⁻²) de grupos de *A. gemmatalis* (susceptível à Bt).....62

Figura 3. Efeitos do óleo essencial de *S. guianensis* (CL₁₀ e CL₅₀) na atividade locomotora (pixels⁻¹ × 10⁻²) de grupos de *S. frugiperda* (susceptível à Bt).....64

Figura 4. Efeitos do óleo essencial de *S. guianensis* (CL₁₀ e CL₅₀) na atividade locomotora (pixels⁻¹ × 10⁻²) de grupos de *S. frugiperda* (resistente à Bt).....65

Figura 5. Efeitos do óleo essencial de *S. guianensis* (CL₅₀) na locomoção de indivíduos de *S. frugiperda* (resistentes ou susceptíveis à Bt) e de *A. gemmatalis* (susceptível à Bt). (A) Mapas com rastreamento do comportamento locomotor de *S. frugiperda* e de *A. gemmatalis*. (B-E) Efeitos da exposição ao óleo essencial de *S. guianensis* no número de paradas, na distância percorrida (cm), na velocidade média (cm/s) e nos tempos de caminhamento e de repouso.....67

Figura 6. (A) Mapas com rastreamento do comportamento locomotor de *S. frugiperda*

(resistentes ou susceptíveis à Bt) e de *A. gemmatalis* (susceptível à Bt). (B) Percentual do tempo de permanência das lagartas em áreas tratadas (CL₅₀) com óleo essencial de *S. guianensis*.....68

LISTA DE TABELAS

CAPITULO I

Tabela 1. Composição química, concentrações (%) e índice de Kovats para óleo essencial de *Siparuna guianensis*.....31

Tabela 2. Valores de CL₅₀ e CL₉₅ do óleo essencial de *S. guianensis* contra diferentes instares larvais de *S. frugiperda* e *A. gemmatalis*.....35

RESUMO DA DISSERTAÇÃO

TOXICIDADE E REPELÊNCIA DO ÓLEO ESSENCIAL DE NEGRAMINA PARA LAGARTA DO CARTUCHO E LAGARTA DA SOJA

Adriano Mendes Lourenço¹, Raimundo Wagner de Sousa Aguiar². ¹ Acadêmico do Curso de Mestrado, UFT – Gurupi-TO; ² Prof. Orientador, UFT – Gurupi-TO.

O uso recorrente de produtos químicos para o controle de *Spodoptera frugiperda* e *Anticarsia gemmatalis* tem levado a indução de populações resistentes, tornando-se necessário o uso de óleos essenciais como uma alternativa de controle. Dessa forma, o presente trabalho teve por objetivo avaliar a atividade inseticida e repelente do óleo essencial de *Siparuna guianensis* contra *S. frugiperda* e *A. gemmatalis*, bem como verificar os padrões comportamentais de caminamento dessas pragas quando submetidas ao óleo essencial. De acordo com resultados obtidos, observou-se alta toxicidade do óleo essencial de *S. guianensis* para todos os estádios de *S. frugiperda* e *A. gemmatalis*, bem como percentuais de repelência de até 100% (18µL/900µL) para ambas as espécies. No teste de fagoinibição alimentar sem chance de escolha, houve uma redução drástica no consumo de 59 e 66% (300 µL/15mL) das folhas tratadas com o óleo essencial, em relação às folhas não tratadas, para larvas de 3º instar de *S. frugiperda* e *A. gemmatalis* respectivamente. Já nos testes com chance de escolha, observou-se a não-preferência das larvas pelas folhas tratadas com óleo essencial de *S. guianensis*. No teste inibitório de oviposição, houve uma redução drástica de 78 e 97% no número de posturas de *S. frugiperda* e *A. gemmatalis*, respectivamente, quando expostas ao óleo essencial. Os bioensaios comportamentais demonstraram que a atividade de grupo foi significativamente reduzida nas duas espécies após exposição à CL₁₀ e CL₅₀ de *S. guianensis*. Os bioensaios comportamentais demonstraram que a atividade de caminamento, tanto em grupo quanto em larvas individualizadas, foi significativamente reduzida após exposição à CL₅₀ de *S. guianensis*, evidenciando o efeito do óleo essencial sobre o comportamento locomotor das espécies em estudo. Em testes com chance de escolha, as larvas de ambas as espécies preferiram permanecer em áreas não tratadas, demonstrando o alto efeito repelente do óleo de *S. guianensis*. Dessa forma, os resultados apresentados neste trabalho mostram o potencial do óleo essencial de *S. guianensis* para o desenvolvimento de um método alternativo e eficaz para o controle natural de *S. frugiperda* e *A. gemmatalis*.

Palavras-chave: óleo essencial, toxicidade, efeito comportamental.

ABSTRACT**TOXICITY AND THE REPELLENCY NEGRAMINA ESSENTIAL OIL FOR
CATERPILLAR CARTRIDGE AND CATERPILLAR SOY**

Adriano Mendes Lourenço¹, Raimundo Wagner de Sousa Aguiar². ¹ Acadêmico do Curso de Mestrado, UFT – Gurupi-TO; ² Prof. Orientador, UFT – Gurupi-TO.

The recurrent use of chemicals for the control of *Spodoptera frugiperda* and *Anticarsia gemmatalis* has led to induction of resistant populations, making it necessary to use essential oils as a control alternative. Thus, this study aimed to evaluate the insecticide and repellent activity of essential oil *Siparuna guianensis* against *S. frugiperda* and *A. gemmatalis* and check the traversal of behavioral patterns of these pests when subjected to the essential oil. According to results obtained, we observed high toxicity of the essential oil of *S. guianensis* for all stages of *S. frugiperda* and *A. gemmatalis* and percentage of repellency of up to 100% (18µL / 900µL) for both species. In the test food fagoinibição no choice, there was a drastic reduction in consumption of 59 and 66% (300 uL / 15mL) leaves treated with the essential oil, compared to untreated leaves for larvae of third instar *S. frugiperda* and *A. gemmatalis* respectively. Already in test free choice, it was observed the non-preference of the larvae through the leaves treated with essential oil of *S. guianensis*. The inhibitory test oviposition, there was a drastic reduction of 78 and 97% in the number of eggs of *S. frugiperda* and *A. gemmatalis*, respectively, when exposed to the essential oil. Behavioral bioassays showed that gang activity was significantly reduced in both species after exposure to CL₅₀ *S. guianensis*. Behavioral bioassays showed that pathway activity, both in group and in individual larvae was significantly reduced after exposure to CL₅₀ *S. guianensis*, showing the effect of the essential oil on the locomotor behavior of the species under study. In tests with free choice, the larvae of both species preferred to remain in untreated areas, demonstrating the high repellent effect of *S. guianensis* oil. Thus, the results presented here show the essential oil of *S. guianensis* potential for the development of an alternative and effective method for natural control of *S. frugiperda* and *A. gemmatalis*.

Keywords: essential oil, toxicity, behavioral effects.

INTRODUÇÃO GERAL

A lagarta do cartucho do milho *Spodoptera frugiperda* J. E. SMITH, 1797 (Lepidoptera: Noctuidae) e a lagarta-da-soja *Anticarsia gemmatalis* HÜBNER, 1818 (Lepidoptera: Noctuidae) são pragas primárias das culturas do milho e da soja, respectivamente, causando perdas significativas na produtividade. (SENNA et al., 2003; TAVARES et al., 2010; RIFFEL et al., 2012; PANIZZI, 2013). As larvas de *S. frugiperda*, já nos primeiros instares, começam a se alimentar de tecidos da planta (BARROS et al., 2010; BUSATO et al., 2004; BLESSING et al., 2010); enquanto que *A. gemmatalis* causa lesões na epiderme e mesófilo, até o consumo de toda a folha, de modo que as perdas podem chegar até 100% (BUND & MCPHERSON, 2000; WATERS & BARFIELD, 1989).

No Brasil, o controle químico é o mais utilizado para combater *S. frugiperda* e *A. gemmatalis* (BUGHIO & WILKINS, 2004; BOYER et al., 2012). No entanto, o uso constante e indiscriminado de organofosforados, carbonatos e piretróides tem levado ao surgimento de várias populações resistentes destes insetos-praga (BOYER, et al., 2012), além de proporcionarem riscos de toxicidade e lenta degradação no meio ambiente (RATTAN, 2010; RAO et al., 2003; SILVA-FILHO et al., 2014). Produtos químicos derivados de plantas podem representar umas das melhores estratégias complementares para o manejo integrado de pragas, pois demonstram ser tão eficientes como os pesticidas sintéticos (TRIPATHI et al., 2009; TEIXEIRA et al., 2013; ISMAN, 2006). Apresentam rápida degradação e impactos mínimos no ambiente (CLOYD, 2004; REGNAULT-ROGER et al., 2012; BAKKALI et al., 2008; MATOS-NETO et al., 2002).

Por outro lado, os estudos são limitados para as respostas comportamentais de insetos praga quando expostos a extratos vegetais, já que a maior credibilidade é voltada para os efeitos de caráter fisiológico do inseto (GUEDES et al., 2009). Mecanismos comportamentais, são determinados por ações que pode influenciar a resposta do inseto-praga a pressões seletivas exercidas por um determinado composto químico, aumentando a capacidade dos insetos escaparem dos efeitos letais do inseticida (LOCKWOOD et al., 1984; HOY et al., 1998). De forma geral, esses efeitos sobre o comportamento referem-se à mobilidade, orientação, alimentação, oviposição e aprendizagem (DESNEUSX et al., 2007; GUEDES, 1990).

A espécie *Siparuna guianensis* Aublet (Família: *Siparunaceae*), também conhecida como negramina (VALENTINI, 2010), está presente em quase todo o Brasil (ALVES et al., 2008). Estudos químicos e etnobilógicos em *S. guianensis* são limitados, com poucos relatos

na medicina tradicional da América Central e do Sul, onde as folhas são usadas contra febres e como antibiótico pós-parto (ROCHA-COELHO, 2008; VALENTINI et al., 2009; OLIVEIRA, 2008). No entanto, nenhuma atividade inseticida do óleo essencial de *S. guianensis* para Lepidopteras foi verificada.

Neste contexto, na literatura demonstra que óleos essenciais de algumas espécies vegetais possuem alta atividade tóxica para lagarta *S. frugiperda*, como por exemplo o óleo essencial de citronela - *Cymbopogon winterianus* J. (LABINAS et al., 2002), mil-folhas- *Achillea millefolium* e de tomilho- *Thymus vulgaris* (CASTRO et al., 2006), além do óleo essencial de folhas de goiabeira- *Psidium guajava* L. (LIMA, 2006). No entanto, um estudo recente comprovou o efeito inseticida e repelente do óleo essencial de *S. guianensis* contra *Aedes aegypti* L. (Diptera: Culicidae) e *Culex quinquefasciatus* Say (Diptera: Culicidae) (AGUIAR et al., 2015).

Considerando a necessidade de análise do efeito entomocida do óleo essencial de *S. guianensis*, o presente trabalho teve por objetivo avaliar o efeito inseticida, repelente e comportamental do óleo essencial de *S. guianensis* sobre *S. frugiperda* e *A. gemmatalis*.

O trabalho está dividido em uma introdução geral e dois capítulos. No CAPÍTULO I, intitulado “Atividade inseticida e repelente de *Siparuna guianensis* Aubl. (Negramina) sobre Lepidopteras”, avaliou-se a eficiência das concentrações de óleo essencial sobre as duas espécies de pragas agrícolas em todos os estágios de desenvolvimento; realizando testes de repelência e testes de preferência alimentar com as folhas das culturas. No CAPÍTULO II, intitulado “Deterrência e repelência no comportamento locomotor de *Spodoptera frugiperda* e *Anticarsia gemmatalis* ao óleo de *Siparuna guianensis* Aublet (Negramina)” o objetivo foi verificar os padrões comportamentais de caminamento dos indivíduos quando submetidos a concentrações do óleo essencial de *Siparuna guianensis*.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AGUIAR, R. W. S.; SANTOS, S. F.; MORGADO, F. S.; ASCENCIO, S. D.; LOPES, M. M.; VIANA, K. F.; DIDONET, J.; RIBEIRO, B. M. Insecticidal and repellent activity of *Siparuna guianensis* Aubl. (Negramina) against *Aedes aegypti* and *Culex quinquefasciatus*. **PLOS ONE**. 2015.
- ALVES, E. O.; MOTA, J. H.; SOARES, T. S.; VIEIRA, M. C.; SILVA, C. B. Levantamento etnobotânico e caracterização de plantas medicinais em fragmentos florestais de Dourados – MS. **Ciência e Agrotecnologia**, v. 32, p. 651-658, 2008.
- BAKKALI, F.; AVERBECK, S.; AVERBECK, D.; IDAOMAR, M. Biological effects of essential oils – a review. **Food and Chemical Toxicology**, v. 46, p. 446–475. 2008.
- BARROS, E.M.; TORRES, J.B.; BUENO, A.F. Oviposition, development, and reproduction of *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith) (Lepidoptera: Noctuidae) fed on different hosts of economic importance. **Neotropical Entomology**, v. 39, 996–1001. 2010.
- BLESSING, L.D.; COLON, O.A.; POPICH, S.; NESKE, A.; BARDON, A. Antifeedant and toxic effects of acetogenins from *Annona montana* on *Spodoptera frugiperda*. **Journal of Pest Science**, v. 83, p. 307–310. 2010.
- BOYER, S.; ZHANG, H.; LEMPÉRIÈRE, G. A review of control methods and resistance mechanisms in stored-product insects. **Bulletin of Entomological Research**, v. 102, p. 213–229. 2012.
- BUGHIO, F.M. & WILKINS, R. Influence of Malathion resistance status on survival and growth of *Tribolium castaneum* (Coleoptera: Tenebrionidae), when fed on flour from insect-resistant and susceptible grain rice cultivars. **Journal of Stored Products Research**, v. 40, p. 65–75. 2004.
- BUND, C.S. & MCPHERSON, R.M. Cropping preferences of common lepidopteran pests in a cotton/soybean cropping system. **Journal of Entomology Science**, v. 42, p. 105–118. 2000.
- BUSATO, G.R.; GURTZMACHER, A.D.; GARCIA, M.S.; GIOLO, F.P.; NORNBORG, S.D. Consumption and utilization of food by *Spodoptera frugiperda* (J. E. Smith, 1797) (Lepidoptera: Noctuidae) at two different temperatures. **Ciência e Agrotecnologia**, v.28, 1278–1283. 2004.
- CASTRO, D. P.; CARDOSO, M. G.; MORAES, J. C.; SANTOS, N. M.; BALIZA, D. P. Não preferência de *Spodoptera frugiperda* (Lepidóptera: Noctuidae) por óleos essenciais de *Achillea millefolium* L. e *Thymus vulgaris* L. **Revista Brasileira de Plantas Medicinais**, v. 8, p. 27-32, 2006.

CLOYD, R.A. Natural indeed: are natural insecticides safer and better than conventional insecticides? **Pesticide Review**, v.17, p. 1–7. 2004.

DESNEUX, N.; DECOURTYE, A.; DELPUECH, J. M. The sublethal effects of pesticides on beneficial arthropods. **Annual Review Entomology**, v. 52, p. 81–206. 2007.

GUEDES, N.M.P.; GUEDES, R.N.C.; FERREIRA, G.H.; SILVA, L.B. Flight take-off and walking behavior of insecticide-susceptible and resistant strains of *Sitophilus zeamais* exposed to deltamethrin. **Bulletin of entomological research**, v. 99, p. 393-400. 2009.

GUEDES, R.N.C. Resistência a inseticidas: desafio para o controle de pragas de grãos armazenados. **Seiva**, v. 50, p. 24-29, 1990.

HOY, C.W.; HEAD, G.P.; HALL, F.R. Spatial heterogeneity and insect adaptation to toxins. **Annual Review of Entomology**, v. 33, p.149-168, 1988.

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.

LABINAS, M. A.; CROCOMO, W. B. Effect of java grass (*Cymbopogon winteranus*) essential oil on fall armyworm *Spodoptera frugiperda* (J. E. Smith, 1979) (Lepidoptera, Noctuidae). **Acta Scientiarum**, v.24, p. 1401-1405, 2002.

LIMA, R.K. Caracterização química e bioatividades do óleo essencial de folhas de goiabeira sobre a lagarta-do-cartucho do milho. 2006, 56 p. **Dissertação** (Mestrado em Agronomia), Universidade Federal de Lavras, Lavras, Minas Gerais.

LOCKWOOD, J. A.; SPARKS, T. C.; STORY, R. N. Evolution of insect resistance to insecticides: a reevaluation of the roles of physiology and behavior. **Bulletin of the Entomological Society of America**, v. 30, p. 41-51. 1984.

MATOS-NETO, F.C.; ZANUNCIO, J.C.; PICANCO, M.C.; CRUZ, I. Reproductive characteristics of the predator *Podisus nigrispinus* fed with an insect resistant soybean variety. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 37, p. 917–924. 2002.

OLIVEIRA, M.F.S. Bebendo na raiz: Um estudo de caso sobre saberes e técnicas medicinais do povo brasileiro. 2008. 282 p. **Tese** (Doutorado em Desenvolvimento Sustentável) – Universidade de Brasília, Brasília.

PANIZZI, A.R. History and contemporary perspectives of the integrated pest management of soybean in Brazil. **Neotropical Entomology**, v. 42, p. 119–127. 2013.

RAO, J.V.; SHILPANJALI, D.; KAVITHA, P.; MADHAVENDRA, S.S. Toxic effects of profenofos on tissue acetylcholinesterase and gill morphology in a euryhaline fish, *Oreochromis mossambicus*. **Archives of Toxicology**, v. 77, p. 227-232. 2003.

RATTAN, R.S. Mechanism of action of secondary metabolites of plant origin. **Crop Protection**, v. 29, p. 913–920. 2010.

REGNAULT-ROGER, C.; VINCENT, C.; ARNASON, J.T. Essential oils and insect control: Low-risk products in a high-stakes world. **Annual Review of Entomology**, v. 57, p. 405–424. 2012.

RIFFEL, C.T.; GARCIA, M.S.; SANTI, A.L.; BASSO, C.J.; DELLA FLORA, L.P.; CHERUBIN, M.R.; EITELWEIN, M.T. Densidade amostral aplicada ao monitoramento georreferenciado de lagartas desfolhadoras na cultura da soja. **Ciência Rural**, v. 42, p. 2112–2119. 2012.

ROCHA-COELHO, F.B.; SANTOS, M.G. Plantas medicinais utilizadas pela comunidade mumbuca Jalapão – TO: Um estudo etnofarmacológico. Universidade Federal do Tocantins, 2008.

SENN, D.Q.; PINTO, F.A.C.; QUEIROZ, D.M.; VIANA, P.A. Fall armyworm damaged maize plant identification using digital images. **Biosystems Engineering**, v. 85, p. 449–454. 2003.

SILVA-FILHO, R.; SANTOS, R.H.S.; TAVARES, W.S.; LEITE, G.L.D.; WILCKEN, C.F.; SERRÃO, J.E.; ZANUNCIO, J.C. Rice–straw mulch reduces the green peach aphid, *Myzuspersicae* (Hemiptera: Aphididae) populations on Kale, Brassica oleracea var. acephala (Brassicaceae) plants. **PLoS One** 9, e4174. 2014.

TAVARES, W.S.; CRUZ, I.; FONSECA, F.G.; GOUVEIA, N.L.; SERRÃO, J.E.; ZANUNCIO, J.C. Deleterious activity of natural products on postures of *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae) and *Diatraea saccharalis* (Lepidoptera: Pyralidae). **Zeitschrift fur Naturforschung C**, v. 65, p. 412–418. 2010.

TEIXEIRA, B.; MARQUES, A.; RAMOS, C.; NENG, N.R.; NOGUEIRA, J.M.; SARAIVA, J.A.; NUNES, M.L. Chemical composition and antibacterial and antioxidant properties of commercial essential oils. **Industrial Crops and Products**, v. 43, p. 587–595. 2013.

TRIPATHI, A.K.; UPADHYAY, S.; BHUIYAN, M.; BHATTACHARYA, P.R. A review on prospects of essential oils as biopesticide in insect-pest management. **Journal of Pharmacognosy and Phytotherapy**, v. 1, p. 52–63. 2009.

VALENTINI, C.M.A.; COELHO, M.F.B.; RODRIGUES-ORTÍZ, C.E.; ALMEIDA, J.D. Uso e conservação da negramina (*Siparuna guianensis* Aubl.) em Bom Sucesso, Várzea Grande – MT. **Interações**, v. 10, p. 195-206, 2009.

VALENTINI, C.M.A.; COELHO, M.F.B.; RODRÍGUEZ-ORTÍZ, C. E. *Siparuna guianensis* Aublet (negramina): uma revisão. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v.12, p.96-104, 2010.

WATERS, D.J. & BARFIELD, C.S. Larval development and consumption by *Anticarsia gemmatalis* (Lepidoptera: Noctuidae) fed various legume species. **Environmental Entomology**, v. 18, p. 1006–1010. 1989.

CAPITULO I

ATIVIDADE INSETICIDA E REPELENTE DO ÓLEO ESSENCIAL DE *Siparuna guianensis* AUBL. (NEGRAMINA) PARA LEPIDOPTERAS

RESUMO

A lagarta do cartucho do milho *Spodoptera frugiperda* e a lagarta-da-soja *Anticarsia gemmatalis* são pragas primárias das culturas do milho e da soja, respectivamente. O uso constante de produtos químicos sintéticos tem levado ao surgimento de várias populações resistentes desses insetos-praga. Assim, os produtos químicos derivados de plantas surgem como uma das melhores estratégias complementares de controle destes insetos. Desta forma, o presente trabalho teve por objetivo avaliar a atividade inseticida e repelente do óleo essencial de *S. guianensis* contra *S. frugiperda* e *A. gemmatalis*. De acordo com resultados obtidos, observou-se alta toxicidade do óleo essencial de *S. guianensis* para todos os estádios de *S. frugiperda* e *A. gemmatalis*. Além disso, apresentou alta atividade repelente para larvas de 3º instar de ambas as espécies, com percentuais de repelência de 100% na concentração de 18µL/900µL. Em relação ao consumo das seções foliares tratadas com óleo essencial de *S. guianensis* cedidas às larvas 3º instar, houve uma redução no consumo de 59 e 66% (300µL/15mL) em relação às seções foliares não tratadas, para *S. frugiperda* e *A. gemmatalis*, respectivamente. Para o teste com chance de escolha, observou-se a não-preferência das larvas pelas folhas tratadas com óleo essencial de *S. guianensis*. No teste efeito do óleo essencial sobre a oviposição, houve uma redução drástica no número de posturas de *S. frugiperda* e *A. gemmatalis* para a concentração 400 µL/20 mL, com redução de 78 e 97%, para *S. frugiperda* e *A. gemmatalis*, respectivamente. Dessa forma, os resultados apresentados neste trabalho mostram o potencial do óleo essencial de *S. guianensis* para o desenvolvimento de um método alternativo e eficaz para o controle natural de *S. frugiperda* e *A. gemmatalis*.

Palavras-chave: toxicidade, repelência, fagoinibição.

**INSECTICIDAL AND REPELLENT ACTIVITY OF *Siparuna guianensis* AUBL.
(NEGRAMINA) AGAINST LEPIDOPTERAS**

ABSTRACT

The caterpillar of the *Spodoptera frugiperda* corn cartridge and caterpillar-of-soy *Anticarsia gemmatalis* are primary pests of crops of corn and soybeans, respectively. The constant use of synthetic chemicals has led to the emergence of resistant populations of these various insect pests. Thus, chemicals derived from plants emerge as one of the best complementary strategies to control these insects. Thus, this study aimed to evaluate the insecticide and repellent activity of essential oil of *S. guianensis* against *S. frugiperda* and *A. gemmatalis*. According to results obtained, we observed high toxicity of the essential oil of *S. guianensis* for all stages of *S. frugiperda* and *A. gemmatalis*. In addition, it showed high repellent activity to 3rd instar larvae of both species, with 100% repellency percentages in the concentration of 18 μ L / 900 μ L. Regarding the consumption of leaf sections treated with essential oil of *S. guianensis* transferred to third instar larvae, there was a reduction in consumption of 59 and 66% (300 μ L / 15mL) compared to untreated leaf sections for *S. frugiperda* and *A. gemmatalis* respectively. For the test free choice, it was observed the non-preference of the larvae through the leaves treated with essential oil of *S. guianensis*. In the test effect of the essential oil on oviposition, there was a drastic reduction in the number of eggs of *S. frugiperda* and *A. gemmatalis* to concentrate 400 μ L / 20 ml, down 78 and 97% for *S. frugiperda* and *A. gemmatalis* respectively. Thus, the results presented here show the essential oil of *S. guianensis* potential for the development of an alternative and effective method for natural control of *S. frugiperda* and *A. gemmatalis*.

Keywords: toxicity, repellence, photoinhibition.

1. INTRODUÇÃO

O milho (*Zea mays* L.) e a soja (*Glycine max* L.) estão entre as culturas de maior importância econômica e social do mundo (OLIVEIRA *et al.* 2006). A lagarta-do-cartucho *S. frugiperda* é considerada a principal praga da cultura do milho, atacando plantas jovens e reduzindo significativamente a produção de grãos (TAVARES *et al.*, 2010b; NÉRI *et al.*, 2005; OLIVEIRA *et al.*, 2007). Enquanto que a cultura da soja, por sua vez, tem como uma de suas principais pragas a lagarta-da-soja (*A. gemmatilis*), a qual pode causar sérios prejuízos a cultura (BUND e MCPHERSON, 2000; WATERS e BARFIELD, 1989). A seleção de populações resistentes de pragas e o alto custo dos agrotóxicos utilizados são os principais problemas encontrados para o controle dessas pragas (VIANA & PRATES, 2003; ESTRELA *et al.*, 2003; GONÇALVES & VENDRAMIM, 2004).

Atualmente, o controle de pragas agrícolas é um desafio que persiste em todo mundo e tem-se agravado cada dia mais (FOUAD *et al.*, 2014). Devido ao uso indiscriminado dos produtos químicos, vários problemas têm surgido nas lavouras, como destruição das populações de inimigos naturais, desenvolvimento de populações resistentes, infestações de pragas com maior frequência, riscos toxicológicos e contaminação ambiental (PINHEIRO e FREITAS, 2010; BOYER, *et al.*, 2012).

Diante disso, faz-se necessária a busca por novas alternativas de controle, visando produtos menos persistentes no meio ambiente e nos alimentos, com menor toxicidade a mamíferos e maior seletividade (REGNAULT-ROGER *et al.*, 2012). Uma das alternativas para o sucesso no controle de pragas, é a utilização de substâncias extraídas de plantas com potencial inseticida, que por sua vez apresentam algumas vantagens em relação aos inseticidas sintéticos por serem facilmente degradáveis e por não oferecerem riscos de contaminação ambiental, além de serem seguros para os operadores e apresentarem baixo custo aos pequenos produtores (OLIVEIRA *et al.*, 2007; BATISH *et al.*, 2008).

O estudo de plantas como bioinseticidas tem-se desenvolvido muito (LABINAS & CROCOMO, 2002; BAKKALI *et al.*, 2008). Os terpenos encontrados nos óleos essenciais tais como monoterpenos, sesquiterpenos são alvos de inúmeros estudos como agrotóxicos (CARSON *et al.*, 2006; HUSSAIN *et al.*, 2008). São compostos produzidos no metabolismo secundário das plantas, tendo como finalidade a proteção contra os insetos praga (SIMÕES & SPITZER, 2004; TEIXEIRA *et al.*, 2013). Neste sentido, *Siparuna guianensis* Aubl. (Família: Siparunaceae), surge como uma importante alternativa para o desenvolvimento de bioinseticidas (AGUIAR *et al.*, 2015; ANDRADE *et al.*, 2013). Em estudos recentes

comprovou-se o efeito inseticida e repelente de *S. guianensis* contra mosquitos *Aedes aegypti* e *Culex quinquefasciatus* (AGUIAR et al., 2015). No entanto, não há relatos sobre os efeitos inseticidas e repelentes dos óleos essenciais de *S. guianensis* sobre pragas agrícolas.

Dessa forma, o presente trabalho teve por objetivo avaliar a atividade inseticida e repelente do óleo essencial de *S. guianensis* para *S. frugiperda* e *A. gemmatilis*.

2. MATERIAL E MÉTODOS

Os experimentos foram desenvolvidos no laboratório de Manejo Integrado de Pragas (MIP), na Universidade Federal do Tocantins, campus de Gurupi-TO.

2.1. Criação massal de *S. frugiperda* e *A. gemmatalis*

A criação massal foi iniciada com pupas de *S. frugiperda* e *A. gemmatalis* oriundas da criação de manutenção do Laboratório de Manejo Integrado de Pragas da Universidade Federal do Tocantins (UFT-TO). As pupas foram colocadas em gaiolas de PVC com 20 cm de diâmetro e 25 cm de altura, cuja parede interna foi revestida com papel sulfite, tampada na parte superior com tecido tipo organza, sendo a sua parte inferior apoiada em um recipiente de papel de 25 cm de diâmetro forrado com papel sulfite. Após a emergência, os adultos foram alimentados com uma solução constituída de água e mel a 10% (GOUSSAIN, 2001). As posturas foram coletadas diariamente, recortando-se os ovos juntamente com o papel sulfite, e colocadas em copos plásticos com capacidade de 200 mL, na presença de dieta artificial a base de feijão e levedura (KASTEN JUNIOR et al., 1978). Após a eclosão, as larvas foram utilizadas nos bioensaios.

2.2. Obtenção do óleo essencial

Plantas de *Siparuna guianensis* (*Siparunaceae*) coletadas em Gurupi-TO, Brasil (11° 43'45" S, 49° 04'07" W) foram utilizadas para a extração do óleo. A identificação taxonômica foi confirmada por peritos no herbário da Universidade Federal do Tocantins (Campus Porto Nacional), onde as amostras foram depositadas com número de referência 10,496. As coleções foram aprovadas pelo Patrimônio Genético - Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico, CNPq, nº 010580 / 2013-1. As folhas de *S. guianensis* foram coletadas preferencialmente no período da manhã, trituradas e submetidas ao processo de extração do óleo essencial, por hidrodestilação em Aparatos de Clevenger (AGUIAR et al., 2015). O óleo essencial foi separado do substrato vegetal por arraste através de vapor d'água em manta aquecedora. Neste processo os vapores d'água e de óleo se misturavam e após o resfriamento, ocorre à condensação das moléculas de óleo, o que permitiu a separação da água.

2.3. Análise da composição química do óleo essencial

A análise cromatográfica gasosa (CG) do óleo essencial de *S. guianensis* foi realizada utilizando um instrumento Chemito 8510 GC (Chemito Technologies Ltd, Mumbai, India Pvt.) equipado com um processador de dados. Um grande calibre coluna capilar BP-5 (30 m x 0,53 mm i.d., 1,0 mm de espessura de filme) foi usado para a separação dos componentes da amostra (tamanho da amostra de 0,03 mL, medidos utilizando uma seringa Hamilton de GC com uma tampa de 1,0 mL). O hidrogênio foi utilizado como gás transportador, a um caudal de 5 mL/ min e 20 psi de pressão de entrada. A temperatura do forno do CG foi de 70°C a 210°C a uma velocidade de 2,5 ° C/min, com um tempo de retenção final de 5 minutos. Tanto as temperaturas do injetor e do detector (FID) foram mantidos a 230°C. A análise de CG-MS foi realizada num rastreio DSQ MS (Thermo Electron Corporation, Waltham, MA, EUA), usando uma coluna capilar de BP-5 (30 m x 0,25 mm x 0,25 mm), com hélio como gás de transporte a uma taxa de 1 mL/min de fluxo; divisão 1:20. A temperatura da coluna foi de 65°C a 210°C (10 min prensão) a 3°C/min. Os espectros de massa foram registados no intervalo de 40-650 amu, operando a 70 V, e a temperatura da fonte foi mantida a 200°C. Os constituintes do óleo foram identificados utilizando os compostos de referência padrão e por comparação computadorizada do espectro de massa obtido com aqueles contidos na biblioteca de espectro de massas do NIST do banco de dados GC-MS.

2.4. Efeito do óleo essencial de *S. guianensis* sobre viabilidade de ovos de *S. frugiperda* e *A. gemmatalis*

O efeito do óleo essencial de *S. guianensis* sobre ovos de *A. gemmatalis* e *S. frugiperda* foi avaliado por meio da imersão em diferentes concentrações do óleo essencial de *S. guianensis*. Foram feitas soluções de 2mL, sendo o óleo diluído em água destilada e detergente Dimetilsulfóxido (DMSO). Nos bioensaios as posturas foram expostas a três tempos (0.30, 2 e 3 minutos) aos tratamentos com óleo essencial de *S. guianensis*, e posteriormente foram colocadas em copos plásticos de 30 mL, na presença de dieta artificial. Para *S. frugiperda* utilizou uma massa de ovos para cada repetição, sendo quatro repetições para cada tratamento, onde cada repetição equivale à um grupo de ovos. Já para *A. gemmatalis*, foram realizadas dez repetições por tratamento, onde cada repetição equivale à um grupo com dez ovos. Os tratamentos utilizados para ambas as espécies foram: 10µL, 20µL, 30µL, 40µL e 60µL de óleo / 2mL de solução. Para o controle, preparou-se uma

solução com H₂O+DMSO e outro controle somente com H₂O. As avaliações foram realizadas 24, 48 e 72 horas após o tratamento com óleo essencial de *S. guianensis*. O delineamento experimental utilizado foi inteiramente casualizado (DIC), em esquema fatorial 3x7 (3 tempos de exposição e 7 concentrações), com 10 repetições para cada tratamento. As análises foram realizadas pelo Teste de Tukey a 5% de probabilidade, pelo Sistema SISVAR.

2.5. Determinação da CL₅₀ e CL₉₅ do óleo essencial de *S. guianensis* para *S. frugiperda* e *A. gemmatalis*

Após os bioensaios seletivos e ajustes metodológicos, onde se obteve uma faixa de mortalidade para os estádios de larvas de *S. frugiperda* e *A. gemmatalis*, foram conduzidos os bioensaios de concentração resposta (CL₅₀ e CL₉₅). Inicialmente foram preparadas as soluções contendo o óleo essencial de *S. guianensis*, diluído em água e DMSO. A determinação da CL₅₀ e CL₉₅ foi realizada pela mortalidade das larvas em contato com papel filtro umedecido com óleo essencial de *S. guianensis*, com avaliações 24 h após a exposição. Para *A. gemmatalis*, os recipientes utilizados foram copos plásticos, revestidos internamente com papel filtro de mesmo diâmetro e umedecidos com 300 µL das soluções, sendo copos de 30 mL para larvas de 2º e 3º instar (0,1 a 1,3 µL) e copos de 100 mL para larvas de 4º e 5º instar (0,46 a 6,3 µL do óleo), onde em cada recipiente foram colocadas 25 larvas de mesmo instar. Para larvas de *S. frugiperda*, foram utilizadas placas de 24 poços as quais foram revestidas internamente com papel filtro de mesmo diâmetro, sendo colocada uma larva em cada poço, sendo para larvas de 2º e 3º instar (0,06 a 0,56 µL), 4º (0,06 a 0,58 µL do óleo) e 5º instar (0,06 a 0,9 µL do óleo). Os dados de mortalidade obtidos da concentração-resposta foram submetidos à análise de Probit, segundo FINNEY (1971), por intermédio do programa Polo Plus, gerando assim, as curvas de concentração letal CL₅₀ e CL₉₅. Os valores médios de CL₅₀ e CL₉₅ foram comparados pelo Teste de Tukey a 5% de probabilidade, pelo programa SISVAR (FERREIRA, 2008).

2.6. Testes de Repelência do óleo essencial de *S. guianensis* para *S. frugiperda* e *A. gemmatalis*

Os efeitos repelentes do óleo essencial de *S. guianensis* para *S. frugiperda* e *A. gemmatalis* foram realizados em placas de Petri (12 cm de diâmetro e 2 cm de altura), de acordo a metodologia desenvolvida por CHAUBEY, 2007. As concentrações de óleo essencial de *S. guianensis* (4,5µL, 9µL, 13,5µL, 18µL e 27µL de óleo/900 µL) foram diluídas em solução contendo DMSO e água destilada; e controle contendo somente DMSO

e água destilada. O papel filtro de mesmo diâmetro da placa Petri (12 cm diâmetro e 2 cm de altura) foi dividido ao meio e espaçado entre ambos por 1,5 cm. 900 µL de cada concentração foi aplicada separadamente a uma metade do papel de filtro. A outra metade (controle) foi tratada com 900 µL de água destilada. Após a aplicação dos respectivos tratamentos sobre os papéis, vinte e cinco larvas de 3º instar foram liberadas no meio de cada placa, e vedadas para impedir a fuga dos insetos. Após o período de duas e quatro horas de exposição, avaliou-se o número de larvas presentes na área tratada e não tratada. Foram usadas quatro repetições para cada tratamento e a experiência foi repetida duas vezes. A percentagem de repelência do óleo essencial de *S. guianensis* foi calculada de acordo com a fórmula usada por OBENG-OFORI & AMITEYE, 1995; YANG et al., 2014 e AGUIAR et al., 2015.

$$PR (\%) = [(N_c - N_t) / (N_c + N_t)] \times 100$$

Onde PR= percentual médio de repelência; N_c = média de insetos presentes na testemunha e N_t = média de insetos presentes na metade tratada.

O delineamento experimental utilizado foi inteiramente casualizado (DIC), em esquema fatorial 2x6 (2 tempos de exposição e 6 concentrações), com 4 repetições para cada tratamento, sendo para cada repetição vinte e cinco larvas, totalizando 100 larvas para cada tratamento. As análises foram realizadas pelo Teste de Tukey a 5% de probabilidade, utilizando o programa SISVAR (FERREIRA, 2008).

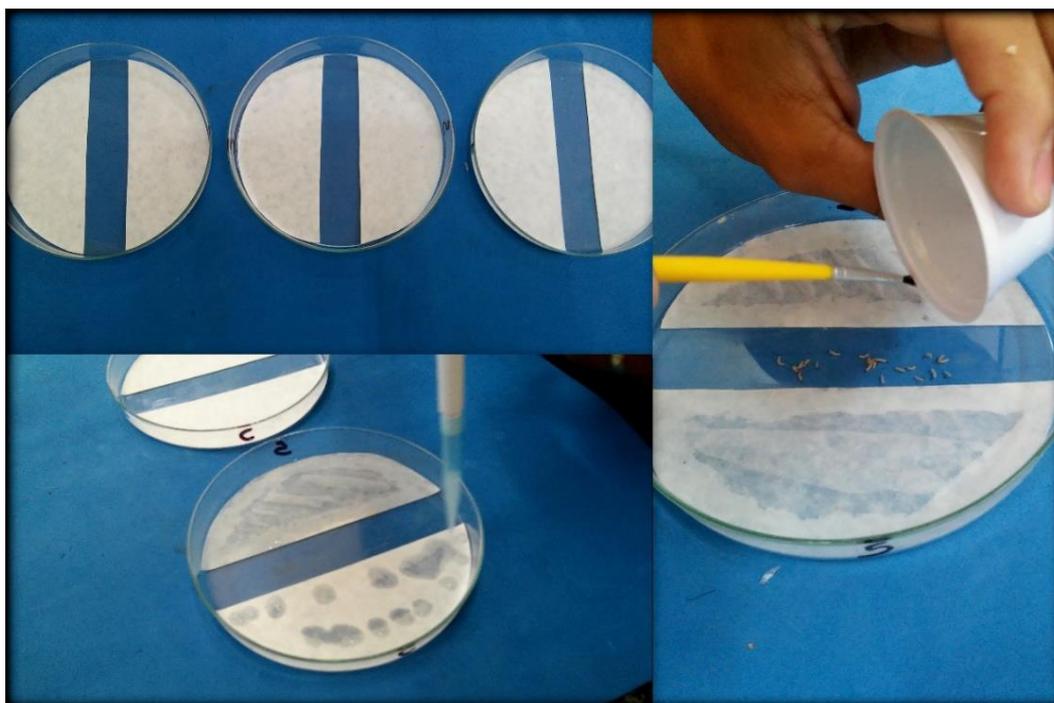


Figura 01. Metodologia utilizada nos testes de repelência para larvas de 3º instar de *A. gemmatalis* e *S. frugiperda* submetidas à diferentes concentrações do óleo essencial de *S. guianensis*.

2.7. Teste Fagoinibição do óleo essencial de *S. guianensis* para *S. frugiperda* e *A. gemmatalis* com chance de escolha

Para a realização dos bioensaios, foram utilizadas folhas de milho (AG1051 Agrocere) e soja (MSOY 8866), cultivados em casa de vegetação – Setor de Olericultura da Universidade Federal do Tocantins – Campus de Gurupi. As folhas foram obtidas de plantas com 30 dias de idade. No início dos bioensaios, realizou-se a pesagem das seções foliares (4cm²) e de cada larva (3º instar) de *S. frugiperda* e *A. gemmatalis* separadamente. Foram usadas as concentrações 75, 150, 225 e 300µL de óleo / 15 mL. Utilizou-se um controle com H₂O+DMSO e as folhas foram mergulhadas por 10 segundos e colocadas para secar a temperatura ambiente. Em seguida, foram as folhas colocadas em um copo plástico de 100 mL, equidistantes aproximadamente 1,0 cm uma da outra e oferecidas às larvas de *S. frugiperda* e *A. gemmatalis* de 3º instar, durante 24 horas. Posteriormente, o recipiente utilizado foi fechado com tampa transparente com pequenos furos para permitir a troca gasosa. Após o período de 24 horas, realizou-se novamente a pesagem das seções foliares e das larvas, e os seguintes parâmetros foram avaliados: área foliar consumida pela lagarta em cada seção foliar e ganho ou perda de peso das larvas. O delineamento experimental utilizado foi inteiramente casualizado (DIC), com 5 tratamentos 25 repetições, sendo uma larva por repetição. As médias foram comparadas pelo Teste de Tukey a 5% de probabilidade, utilizando o programa SISVAR (FERREIRA, 2008).

2.8. Teste Fagoinibição do óleo essencial de *S. guianensis* para *S. frugiperda* e *A. gemmatalis* sem chance de escolha

Os bioensaios foram realizados com larvas individualizadas com seções foliares de milho (AG1051 Agrocere) e soja (MSOY8866), conforme descrito no item 2.7. As seções foliares (4 cm²) foram submetidas por dez segundos às soluções de óleo essencial de *S. guianensis* nas concentrações 75, 150, 225 e 300µL / 15 mL e os controles somente em água e DMSO e colocadas para secar em temperatura ambiente. Em seguida uma larva de 3º instar foi colocada em um copo plástico de 30 mL, na presença das folhas tratadas, e o copo foi fechado com tampa transparente com pequenos furos para permitir a trocas gasosas. As

variáveis avaliadas em 24 horas foram: a área foliar consumida e ganho ou perda de peso das larvas. O delineamento experimento utilizado foi inteiramente casualizado, com 7 tratamentos e 25 repetições, sendo uma larva por repetição. As médias foram comparadas pelo Teste de Tukey a 5% de probabilidade, utilizando o programa SISVAR (FERREIRA, 2008).

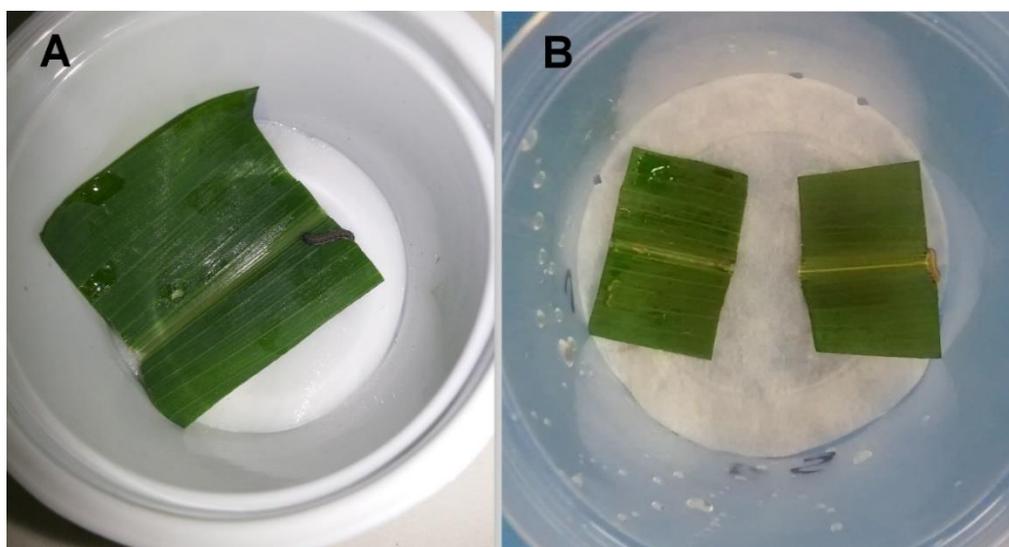


Figura 02. Metodologia utilizada nos testes de fagoibição alimentar para larvas de 3º instar de *A. gemmatilis* e *S. frugiperda*. Teste sem chance de escolha (A) e teste com chance de escolha (B).

2.9. Efeito da aplicação tópica do óleo essencial de *S. guianensis* para estágio de pupa de *S. frugiperda* e *A. gemmatilis*

Foram realizadas aplicações tópicas do óleo essencial *S. guianensis* em pupas de *A. gemmatilis* e *S. frugiperda*, nas concentrações 3, 4, 5 e 6 μ L do óleo essencial de *S. guianensis*. Os dados de mortalidade das pupas foram corrigidos usando a fórmula de Abbott (HEONG et al., 2011), e em seguida foi calculado o percentual de viabilidade das pupas. O delineamento experimento utilizado foi inteiramente casualizado, com 5 tratamentos e 20 repetições, sendo uma pupa por repetição e o mesmo experimento foi repetido três vezes. As médias foram comparadas pelo Teste de Tukey a 5% de probabilidade, utilizando o programa SISVAR (FERREIRA, 2008).

2.10. Efeito do óleo essencial de *S. guianensis* sobre a Oviposição com chance de escolha para *S. frugiperda* e *A. gemmatilis*

Os testes de efeito do óleo essencial de *S. guianensis* sobre a oviposição foram realizados com insetos adultos sexados de *S. frugiperda* e *A. gemmatilis*. Foram usadas

gaiolas de PVC com 20 cm de diâmetro e 25 cm de altura, revestidas internamente com papel sulfite para oviposição das mariposas. Metade da gaiola foi tratada com as concentrações 0,1mL, 0,2mL, 0,3mL e 0,4mL de óleo / 20 mL de solução (óleo à 0,5%, 1%, 1,5% e 2%, respectivamente) e a outra metade somente com água destilada. Foi utilizado um controle com H₂O+DMSO e um controle somente com H₂O. Foram feitas soluções de 20 mL para pulverização das gaiolas e o óleo foi diluído em detergente DMSO e água. Após receberem os seus respectivos tratamentos, os papéis foram colocados para secar em temperatura ambiente e depois foram anexados às gaiolas. Cinquenta casais foram colocados nas gaiolas e alimentados com uma solução constituída de água e mel a 10%. As avaliações foram realizadas 48 horas após a experiência, onde se observou a preferência das mariposas pelo local de oviposição e o número de posturas em cada lado da gaiola. Para cada tratamento foram realizadas três repetições, onde cada repetição equivale à uma gaiola. Realizou-se teste t para comparação do número de ovos nas áreas tratadas e não tratadas. E procedeu-se ANOVA com Teste de Tukey à 5% de probabilidade para comparação entre os tratamentos.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1. Análise da composição química do óleo essencial

Óleos essenciais purificadas a partir das folhas de *S. Guianensis* foram analisados por GC e GC-MS e suas composições qualitativas e quantitativas foram determinados (Tabela 1). Os principais componentes do óleo das folhas foram β -myrcene (79,71%) e 2-undecanona (14,58%).

Tabela 1. Composição química, concentrações (%) e índice de Kovats para óleo essencial de *Siparuna guianensis*.

Componentes	Concentrações (%)	Ri ^c *
	Folha	
Santolina triene	t ²	927
2-Tridecanone	-	1398
2-Undecanone	14.58	1276
3-carene	-	1007
α -cadinol	-	1653
Agarospírol	-	1631
α -limonene	-	1828
Byciclo-germacrene	1.21	1493
Cadinol	-	1653
Camphene	0.11	956
D-limonene	0.67	1017
Epi- α -cadinol	0.18	1644
Spathulenol	0.25	1574
Germacrene D	0.80	1480
Germacrene A	0.42	1504
Germacrene B	0.11	1556
Terpinolene	0.16	1089
α -cadinol	0.12	1653
α -caryophyllene	-	1419
α -copaene	0.13	1375
α -pinene	0.38	923
β -caryophyllene	0.35	1418
β -elemene	0.36	1389
β -myrcene	79.71	990
Nonanol	-	1154
β -ocimene	0.64	1049
β -pinene	0.17	984
γ -cadinene	0.09	1516

δ-elemene	-	1435
Não identificação (%)	-	
Identificação total (%)	100	

Ric* = índice de retenção calculada.

A concentração observada dos principais constituintes do óleo essencial de *S. Guianensis* foi diferente do que o relatado por outros estudos (ANDRADE et al., 2013 & DINIZ, 2014), sugerindo uma variabilidade considerável nas amostras de óleo analisadas. Nesses estudos, as amostras para extração do óleo foram coletadas em diferentes regiões da Amazônia e Minas Gerais. Essas mudanças na composição de óleos essenciais podem surgir devido à várias diferenças ambientais (climáticas, sazonais ou geográficas) e também devido à fatores genéticos, uma vez que a amostra analisada foi coletada de uma região do cerrado brasileiro (uma área de savana), que é um bioma completamente diferente quando comparado com a Amazônia. Nossa análise identificou hidrocarbonetos, principalmente sesquiterpenos, sesquiterpenos oxigenados e hidrocarbonetos monoterpenos nos óleos essenciais das folhas de *S. Guianensis*.

3.2. Efeito do óleo essencial sobre a viabilidade dos ovos

As concentrações do óleo essencial de *S. guianensis* influenciaram significativamente ($p \leq 0,05$) a viabilidade de ovos de *A. gemmatalis* e *S. frugiperda*. (Fig. 3). Observou-se que o tempo de exposição ao óleo essencial de *S. guianensis* afetou significativamente o percentual de ovos viáveis ($p \leq 0,05$). Para *A. gemmatalis*, com trinta segundos de exposição, observou-se de 45 a 90% de viabilidade dos ovos para todas as concentrações testadas (Fig. 1 A). Com o tempo dois minutos de exposição, houve uma redução drástica na viabilidade dos ovos de *A. gemmatalis*, principalmente nas concentrações 40 e 60 $\mu\text{L} / 2\text{mL}$, com percentuais de 16 e 6% de viabilidade, respectivamente. Para o tempo três minutos de exposição, a viabilidade dos ovos de *A. gemmatalis* reduziu em 100% para as concentrações 20, 30, 40 e 60 $\mu\text{L} / 2\text{mL}$ (Fig.1A). O efeito sobre a viabilidade de ovos foi ainda mais drástico para *S. frugiperda*, com percentuais de 0% de viabilidade para todas as concentrações (10, 20, 30, 40 e 60 $\mu\text{L} / 2\text{mL}$) com dois e três minutos de exposição, diferindo estatisticamente dos percentuais de viabilidade para *A. gemmatalis*. Somente com trinta segundos de exposição, houve pequena viabilidade dos ovos, com percentuais de 3 a 10% de viabilidade nas concentrações 10 e 20 $\mu\text{L} / 2\text{mL}$, evidenciando alta toxicidade do óleo essencial de *S. guianensis* sobre a viabilidade de ovos de *S. frugiperda* (Fig.3B).

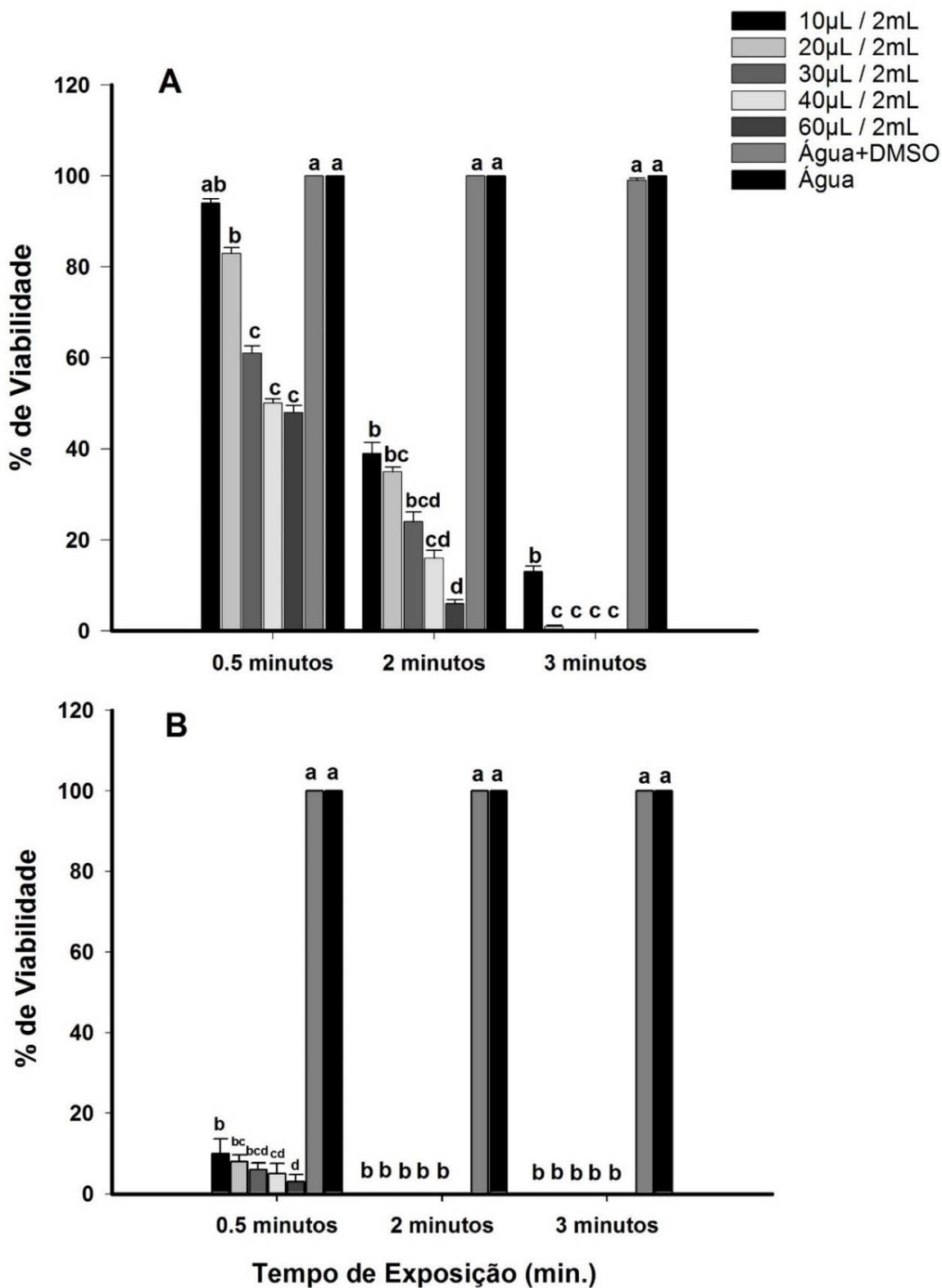


Figura 3: Efeito do óleo essencial de *Siparuna guianensis* (negramina) sobre a viabilidade de ovos de *Anticarsia gemmatalis* (A) e *Spodoptera frugiperda* (B). Médias seguidas por letras diferentes são significativamente diferentes ($P < 0,05$) pelo Teste de Tukey.

Trabalhos realizados por AGUIAR et al. (2015), demonstraram uma redução drástica na viabilidade de ovos de *A. aegypti* e *C. quinquefasciatus* quando submetidos ao óleo essencial de *S. guianensis*, com um percentual de apenas 5% de viabilidade dos ovos, nas concentrações de 1,0 e 2,0 µg / ml, para ambas as espécies. Neste sentido, resultados obtidos neste trabalho corroboram com resultados obtidos por AGUIAR et al. (2015), demonstrando a alta toxicidade do óleo essencial para ovos de *S. frugiperda* e *A. gemmatalis*.

A taxa de eclosão observada mostra uma menor susceptibilidade de ovos de *A. gemmatalis* para *S. guianensis* quando comparado à *S. frugiperda* ($p \leq 0,05$), o que pode estar associado com a morfologia e com a espessura da membrana de revestimento dos ovos de *A. gemmatalis*. No entanto, para ambas as espécies, a viabilidade dos ovos foi afetada pelo óleo essencial de *S. guianensis*, podendo este ser um agente promissor para o controle dessas pragas agrícolas. A atividade do óleo essencial de *S. guianensis* sobre a viabilidade de ovos de *S. frugiperda* e *A. gemmatalis* pode estar associada à toxicidade dos óleos voláteis tóxicos, reduzindo a eclosão de ovos, devido à toxicidade apresentada pelos vapores sobre os ovos (SCHMIDT et al., 1991 & OOTANI, 2010). Esse efeito talvez possa estar associado também à absorção dos compostos majoritários (β -myrcene- 79,71% e 2-undecanona - 14,58%) pelos ovos, afetando dessa forma os processos biológicos associados ao desenvolvimento embrionário (GURUSUBRAMANIAN & KRISHNA, 1996). As atividades dos óleos essenciais no desenvolvimento larval, em concentrações letais podem ocasionar graves alterações morfológicas na metamorfose, podendo inibir a emergência das larvas, exatamente como o observado em nossos testes sobre a viabilidade dos ovos.

3.3. Determinação da concentração Resposta CL₅₀ E CL₉₅

O óleo essencial de *S. guianensis* extraído das folhas foi altamente tóxico para todos os estádios larvais de *S. frugiperda* e *A. gemmatalis* (Tabela 2). Os valores de CL₅₀ obtidos foram 1.5, 2.21, 3.21 e 3.57 µL/300µL para larvas de 2º, 3º, 4º e 5º instares de *S. frugiperda*, respectivamente e 0.36, 0.68, 1.53 e 2.23 µL/300µL para larvas de 2º, 3º, 4º e 5º instares de *A. gemmatalis* (Tabela 2), diferindo estatisticamente entre si ($p \leq 0,05$).

Os valores de CL₅₀ e CL₉₅ do óleo essencial de *S. guianensis* apresentaram diferenças significativa ($p \leq 0,05$) entre os estádios de *S. frugiperda* e *A. gemmatalis*. O óleo essencial foi mais tóxico para as larvas de 2º instar de ambas as espécies, provavelmente devido à maior sensibilidade das larvas nos primeiros estádios.

Tabela 2. Valores de CL₅₀ e CL₉₅ do óleo essencial de *S. guianensis* contra diferentes instares larvais de *S. frugiperda* e *A. gemmatalis*.

Inseto	Instar	Slope ±SEM	CL₅₀ (µL/300 µL)	FI (CL₅₀)	CL₉₅ (µL/300 µL)	FI (CL₉₅)	X²
<i>S. frugiperda</i>	2 instar	7.45-1.43	1.50d	1.29-1.65	2.49e	2.23-3.08	2.21
	3 instar	5.87-1.15	2.21c	1.94-2.67	4.22d	3.21-10.97	4.43
	4 instar	2.98-0.45	3.21b	2.74-3.81	11.4 ^a	8.16-20.74	2.60
	5 instar	3.48-0.46	3.57 ^a	3.12-4.08	10.63b	8.31-15.78	3.84
<i>A. gemmatalis</i>	2 instar	2.29±0.32	0.36f	0.28-0.45	1.91f	1.33-3.47	0.62
	3 instar	2.03±0.33	0.68e	0.54-0.90	4.42d	2.60-11.93	3.56
	4 instar	3.76±0.59	1.56d	1.29-1.80	4.27d	3.40-6.35	3.18
	5 instar	2.78-0.48	2.23c	1.74-2.69	8.74c	6.30-16.21	3.74

SEM = erro padrão da média; CL = concentração letal (µL/300µL); FI = intervalo de confiança a 95% de probabilidade; X² = Qui quadrado. Médias seguidas por letras na coluna diferentes diferem estatisticamente entre si, pelo teste Tukey, ao nível de 5% de probabilidade. (P<0.05).

Os resultados obtidos de concentração resposta (Tabela 2) demonstram a maior toxicidade do óleo essencial de *S. guianensis* para *A. gemmatalis*, quando comparado com *S. frugiperda* ($p \leq 0,05$). AGUIAR et al. (2015) observaram que o óleo possui ação inseticida também contra mosquitos *Aedes aegypti* e *Culex quinquefasciatus*, com valores de CL_{50} de 0.21 e 0.55 $\mu\text{g/mL}$ contra *A. Aegypti* e 0.31 e 0.42 $\mu\text{g/mL}$ contra *C. Quinquefasciatus*, para o 1º e 2º instares, respectivamente. Um estudo realizado por FARIAS (2012), comprovou atividade inseticida do óleo essencial de *Piper tuberculatum* contra larvas de 2º instar de *S. frugiperda*, com CL_{50} próxima à 1% do óleo aplicado por contato (papel filtro), valor esse duas vezes maior que o encontrado em nosso estudo (1.5 $\mu\text{L}/300\text{mL}$ de solução), em que a concentração do óleo encontra-se à 0,5%. LIMA et al. (2009), estudando o efeito do óleo essencial de pimenta-longa (*Piper hispidinervum*) sobre lagartas de 3º instar de *S. frugiperda*, por meio de ingestão de dieta natural, observaram um valor de concentração resposta de 28,3 mg/mL , num período de 24 horas. SCAPINELLO et al. (2014), avaliando o efeito de extratos de *Melia azedarach* L. contra *S. frugiperda*, por meio de ingestão de dieta artificial, estimaram um valor de 376,74 mg / kg de LC_{50} , num período de 20 dias de avaliação.

De acordo com os valores encontrados de CL_{50} e CL_{95} em nosso estudo, pode-se afirmar que o óleo essencial de *S. guianensis* pode levar ao desenvolvimento de compostos alternativos para substituir inseticidas sintéticos. Além disso, foi demonstrado recentemente toxicidade do óleo essencial de *S. Guianensis* para o carrapato *R. Microplus* (DINIZ, 2014). Faz-se necessário ressaltar que não há registro na literatura sobre o potencial inseticida de folhas de *S. guianensis* para *S. frugiperda* e *A. gemmatalis*.

Durante o desenvolvimento dos bioensaios, observou-se que as lagartas apresentaram agitação e convulsões. Algum tempo depois, foi observado o efeito *knock-down*, em que ocorre a morte instantânea das larvas por contato. Estes sintomas são semelhantes aos apresentados por insetos com intoxicação neurotóxica. Conforme observado, o efeito tóxico do óleo essencial de *S. guianensis* pode estar associado à presença de alguns compostos (terpenóides e fenilpropanóides), os quais podem bloquear a octopamina, neurotransmissor de insetos que possui funções similares da adrenalina em vertebrados (ENNAN et al., 1998). De acordo com ISMAN (2006), os óleos essenciais podem ainda atuar em enzimas digestivas e neurológicas bem como interagir com o tegumento do inseto. Infere-se, portanto, que os compostos majoritários presentes no óleo essencial de *S. guianensis*, possa estar agindo da mesma maneira, bloqueando a octopamina e acarretando o efeito *knock-down* observado.

Geralmente, o modo de ação de um inseticida é relatado principalmente no sistema nervoso do inseto, onde a enzima acetilcolinesterase (AChE) é um dos seus locais alvo

(RYAN e BYRNE, 1988; KOSTYUKOVSKY et al., 2002), sendo responsável por catalisar a degradação da acetilcolina em acetato e colina. Diversos inibidores induzem a inativação da enzima, causando a acumulação de acetilcolina e fazendo com que a neurotransmissão do inseto seja interrompida, onde os inibidores passam a ser aplicados como medicamentos e toxinas (BAKKALI et al., 2008; REGNAULT-ROGER et al., 2012).

3.4. Teste de Repelência

Além da sua toxicidade comprovada, o óleo essencial de *S. guianensis* apresentou excelente potencial de repelência para larvas de terceiro instar de *S. frugiperda* e *A. gemmatalis* (Fig. 4). Para *A. gemmatalis*, com duas horas de exposição, os percentuais de repelência foram 92, 90, 96, 98 e 100%, para as concentrações 4,5µL, 9µ L, 13,5µL e 18µL de óleo/900 µL, respectivamente. Para *S. frugiperda*, esses valores foram 88, 94, 96, 98 e 98%, para as mesmas concentrações. No entanto, os valores de repelência não apresentaram diferenças estatísticas entre as duas espécies, nem o tempo de exposição influenciou o percentual de repelência do óleo para ambas as espécies ($p \leq 0,05$)

Os resultados de repelência do óleo essencial de *S. guianensis* contra *S. frugiperda* e *A. gemmatalis* podem estar associados à capacidade do inseto de detectar óleos essenciais através do olfato, evitando-os quando tem chance de escolha (JAYASEKARA et al., 2005). Dessa forma, o efeito repelente é uma propriedade relevante a ser considerada na escolha de um óleo essencial para o controle de Lepidopteras. De um modo geral, quanto maior o efeito repelente de um óleo essencial, menor será a infestação dos insetos-praga. A partir desses resultados, pode-se afirmar que o óleo essencial de *S. guianensis* tem potencial para ser um excelente candidato para uma formulação de bioinseticidas para *S. frugiperda* e *A. gemmatalis*.

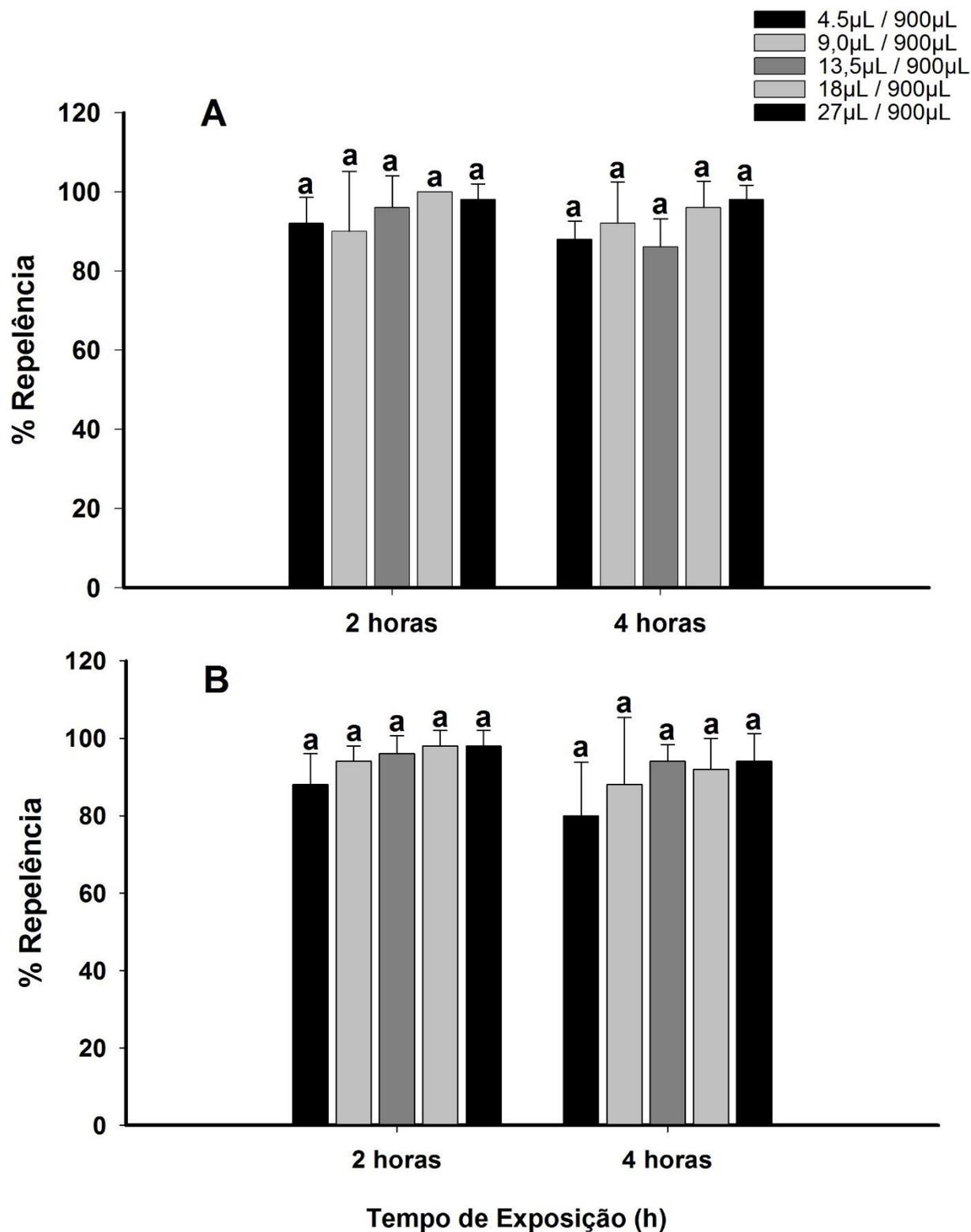
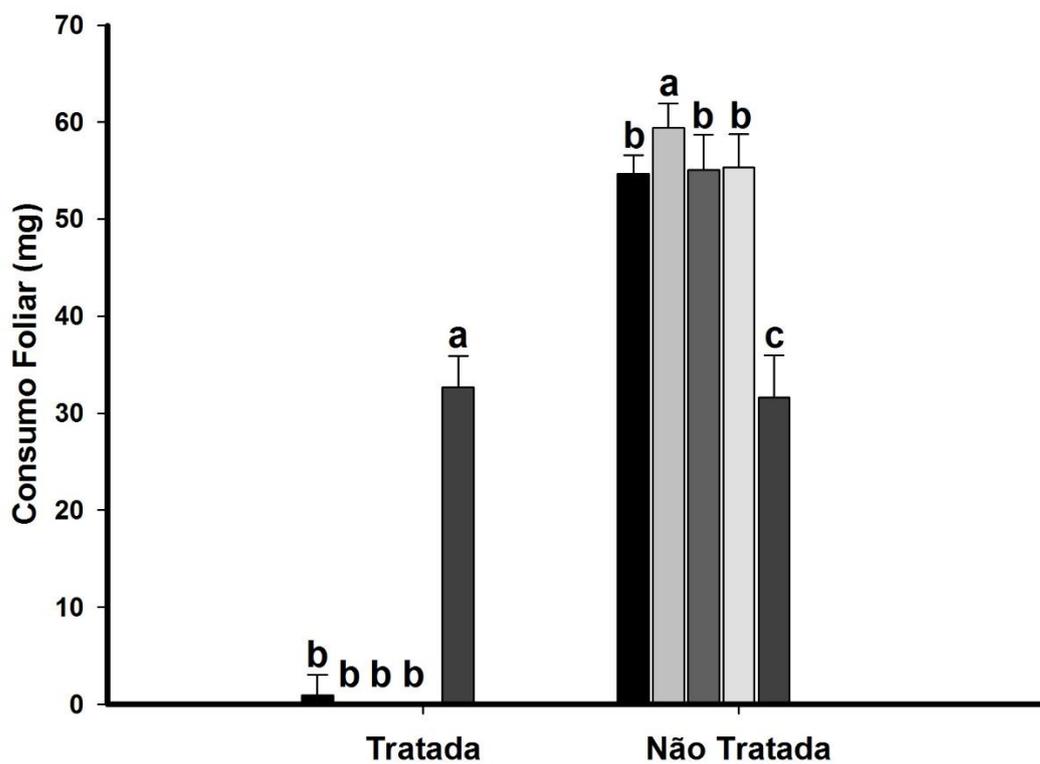
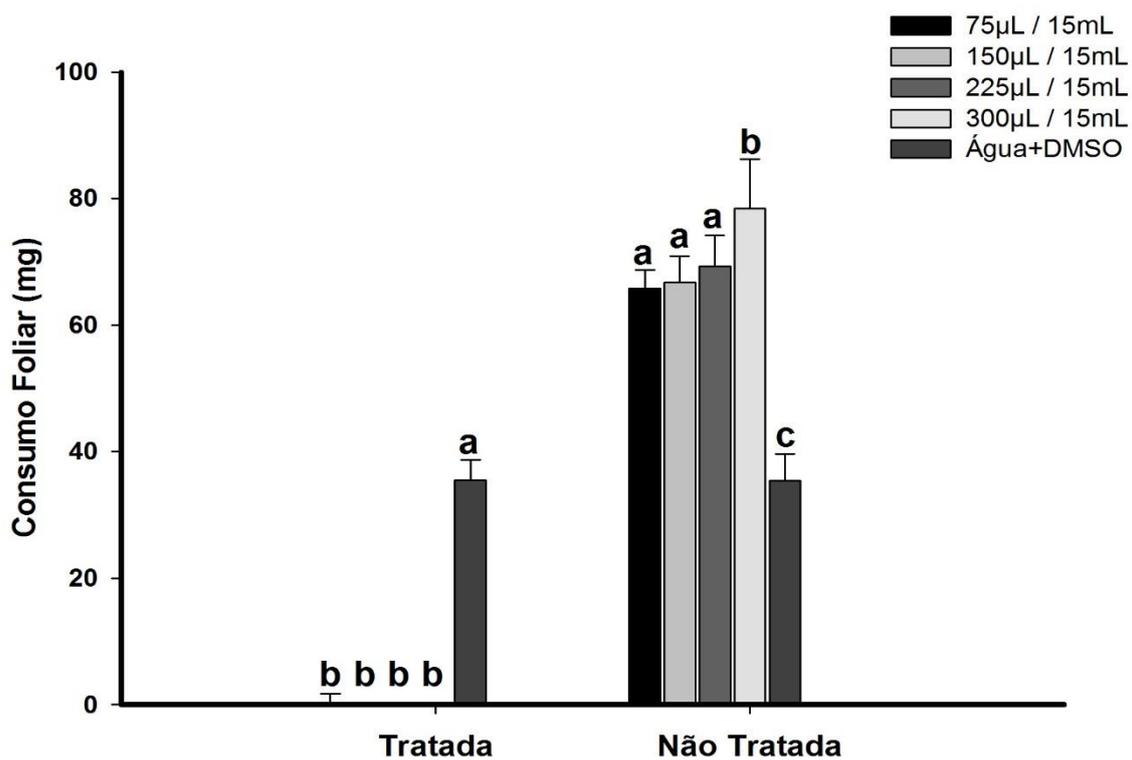


Figura 4: Atividade repelente do óleo essencial de *Siparuna guianensis* *Anticarsia gemmatalis* (A) e *Spodoptera frugiperda* (B) em dois tempos de exposição. Médias seguidas por letras diferentes diferem estatisticamente entre si pelo Teste de Tukey, ao nível de 5% de probabilidade ($P < 0.05$).

3.5. Teste Fagoibição com chance de escolha

Observou-se uma não-preferência das lagartas pelas folhas de milho e soja tratadas com óleo essencial de folhas de *S. guianensis* para todas as concentrações (75, 150, 225 e 300 μ L de óleo / 15 mL) nas avaliações após às 24 horas (Fig. 5), onde o consumo das folhas tratadas foi significativamente menor do que as folhas não tratadas ($p \leq 0,05$). Trabalhos realizados por LIMA et al. (2009) indicaram uma não-preferência de *S. frugiperda* pelas folhas de milho tratadas com óleo essencial de folhas de goiabeira na maior concentração (óleo à 0,01%). Enquanto CASTRO et al. (2006), comprovaram a não-preferência de *S. frugiperda* por óleos essenciais de Tomilho (*Thymus vulgaris*) com 49,20 mm² de área foliar consumida, na concentração de 0,001%. Nossos resultados evidenciaram 0% de consumo das seções tratadas para todos os tratamentos (75, 150, 225 e 300 μ L de óleo / 15 mL), evidenciando mais uma vez o enorme potencial repelente do óleo essencial de *S. guianensis* contra *A. gemmatalis* e *S. frugiperda*.

Com a caracterização do óleo essencial de folhas de *S. guianensis* foi possível constatar a presença de dois compostos majoritários, que foram β -myrcene (79,71%) e 2-undecanona (14,58%). Apesar dos resultados serem preliminares e da escassez de relatos de pesquisas específicas com o óleo essencial de *S. guianensis* em Lepidopteras, sugere-se que estes compostos talvez sejam os responsáveis pela repelência à *A. gemmatalis* e *S. frugiperda*.



Consumo foliar em cada seção

Figura 5. Consumo foliar (mg) de soja (MSOY 8866) e milho (AG1051 Agrocere) tratados e não tratados com óleo essencial de *S. guianensis*, pelas espécies *A. gemmatalis* (A) e *S. frugiperda* (B). Médias seguidas por letras diferentes diferem estatisticamente entre si, pelo teste Tukey, ao nível de 5% de probabilidade. ($P < 0.05$).

Na figura 6, observa-se que houve ganho de peso significativo ($p \leq 0,05$) para todos os tratamentos em ambas as espécies, já que todas se alimentaram da seção foliar não tratada.

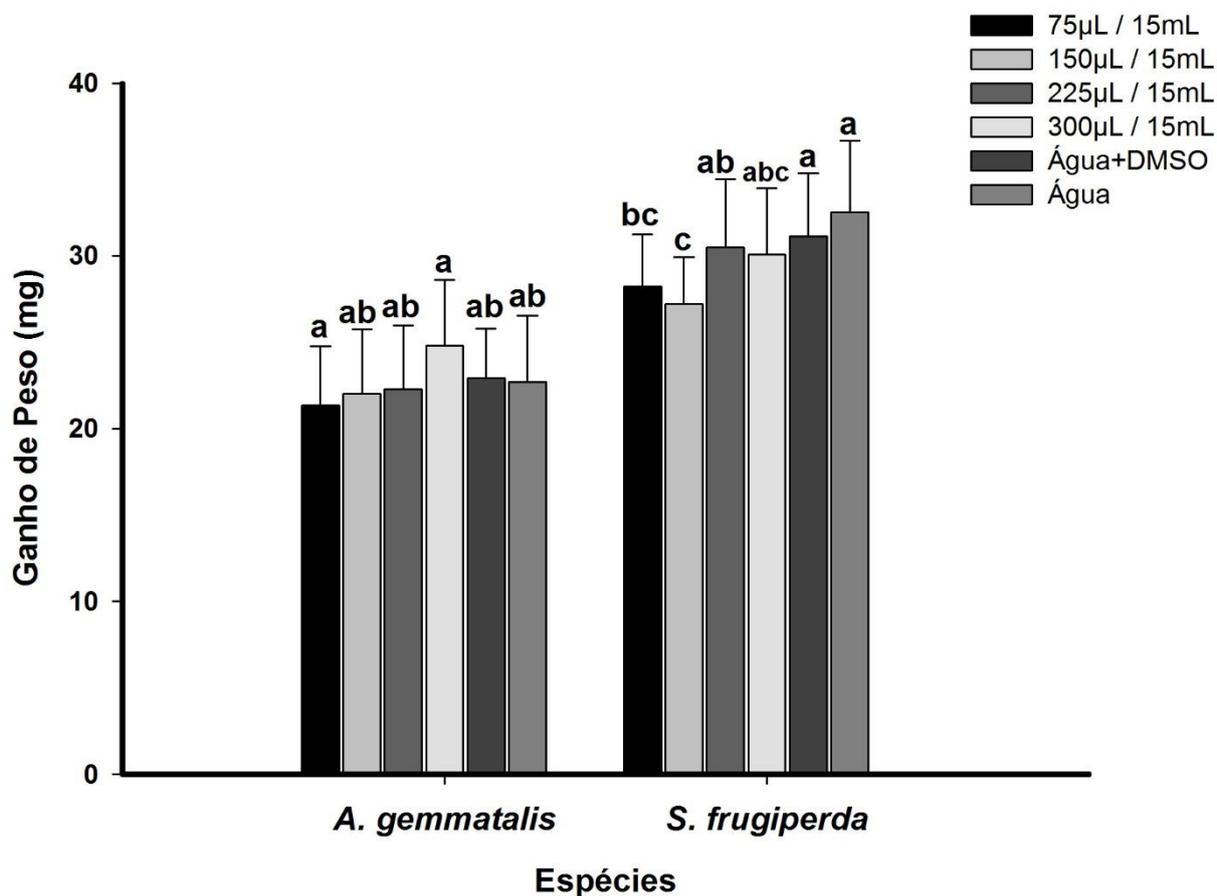


Figura 6. Ganho de peso (mg) das larvas de *A. gemmatalis* e *S. frugiperda* em 24 horas de exposição às folhas de soja (MSOY 8866) e milho (AG1051 Agrocere) tratadas com óleo essencial de *S. guianensis* com chance de escolha por folhas não tratadas. Médias seguidas por letras diferentes diferem estatisticamente entre si, pelo teste Tukey, ao nível de 5% de probabilidade. ($P < 0.05$).

3.6. Teste Fago-inibição sem chance de escolha

Em ambas as espécies, o consumo das seções foliares (4 cm²) tratadas com óleo essencial de *S. guianensis* foi significativamente ($p < 0,05$) menor em relação às testemunhas (Fig. 7). Para *A. gemmatalis*, houve um consumo médio da área foliar em torno de 21 mg quando tratadas com a concentração de 75µL / 15mL (valor esse aproximadamente 3 vezes menor que as testemunhas) e um consumo médio de 3,4 mg para a concentração 150µL / 15mL, valor vinte vezes menor que que as testemunhas. Para os demais tratamentos, não foi detectado nenhum consumo foliar, ou seja, houve uma redução de 100% no consumo das seções foliares tratadas com óleo essencial de *S. guianensis*.

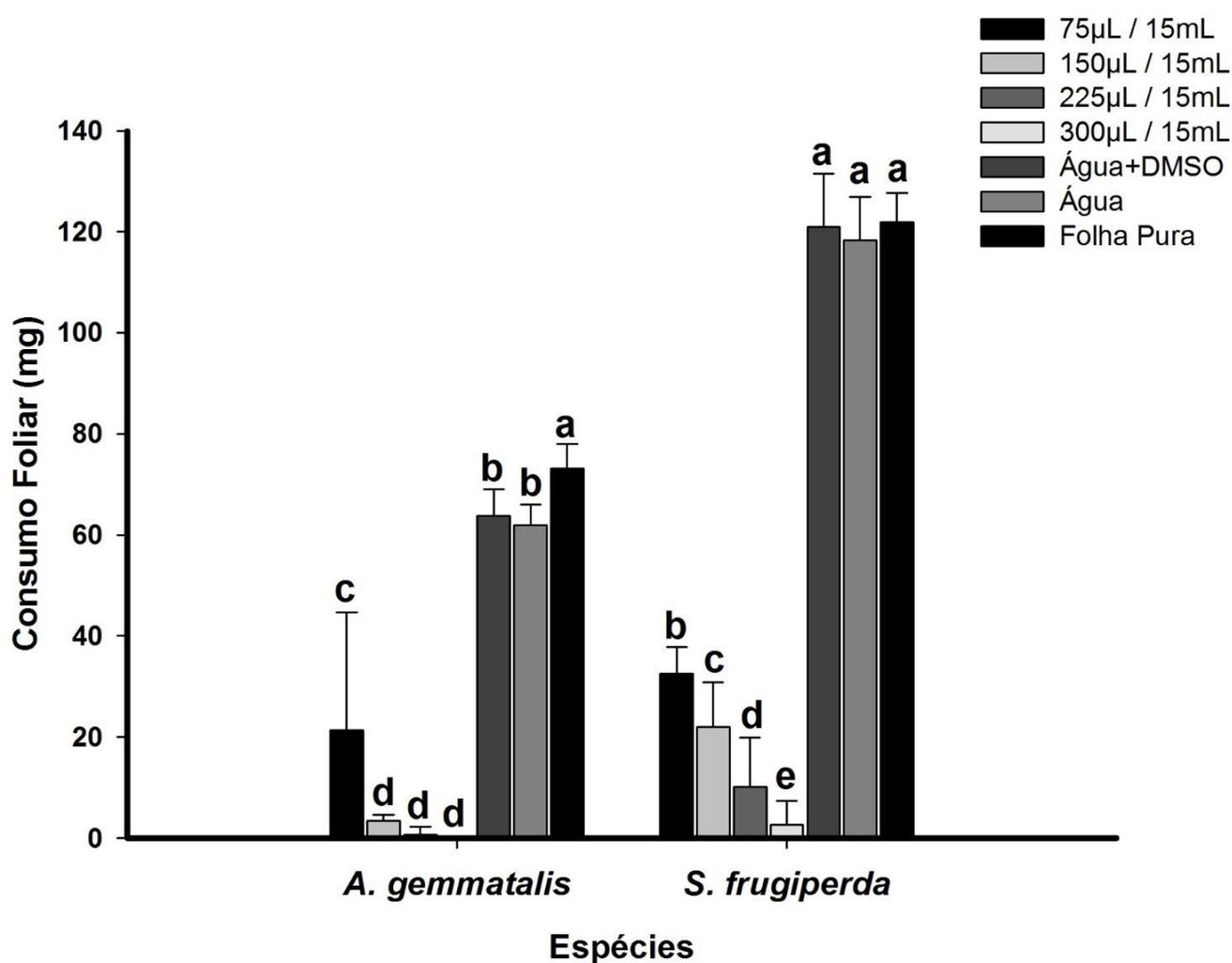


Figura 7. Consumo foliar (mg) de *A. gemmatalis* e *S. frugiperda* em folhas de soja (MSOY 8866) e milho (AG1051 Agrocere) tratadas com óleo essencial de *S. guianensis*. Médias seguidas por letras diferentes diferem estatisticamente entre si, pelo teste Tukey, ao nível de 5% de probabilidade. ($P < 0,05$).

Para *S. frugiperda*, houve um pequeno consumo das seções foliares tratadas com óleo essencial de *S. guianensis* (Fig. 7). No entanto, observou-se, que em nenhum dos tratamentos contendo óleo essencial de *S. guianensis*, houve estimulação para alimentação após a primeira ingestão alimentar, tanto para *A. gemmatalis* como para *S. frugiperda*, atuando dessa forma, como um forte deterrente alimentar. Sugere-se que em teste de campo esses dados sejam confirmados para diminuir a perda foliar pela infestação das pragas nas culturas da soja e milho, reduzindo assim, o prejuízo econômico causado nas lavouras.

Os dados de ganho de peso (Fig. 8) evidenciam que as seções foliares tratadas com óleo essencial de *S. guianensis* influenciaram drasticamente no peso das larvas de *A. gemmatalis* e *S. frugiperda*, com ganho de peso em torno de 11 vezes menor para larvas submetidas às seções tratadas com a menor concentração (75µL/15mL) e um ganho de peso mais de 100 vezes menor para larvas submetidas às seções tratadas com as concentrações mais altas (225 e 300 µL/15mL). Estudos realizados por TAVARES ET AL. (2013), avaliando o efeito isolado do composto AR -turmerone, extraído e purificado a partir de *Curcuma longa* (Zingiberaceae), determinaram redução no peso de 93,8% de larvas de *S. frugiperda*, em comparação com as testemunhas, quando submetidas à dieta artificial tratada com o composto. Enquanto KATHURIA & KAUSHIK, (2006), determinaram redução de 69% no peso de *Helicoverpa armigera* após o fornecimento de *Curcuma longa*.

Os valores inferiores dos parâmetros biológicos de lagartas expostas à *S. guianensis* confirmam a elevada toxicidade do óleo essencial para *S. frugiperda* e *A. gemmatalis*, podendo reduzir o desenvolvimento e assim o dano e número de descendentes produzidos por estes insetos. Observou-se ainda que o óleo essencial prolongou os instares larvais, reduziu o crescimento, impediu a ecdise, provocou anormalidades morfológicas e causou mortalidade larval, evidenciando o grande potencial inseticida de *S. guianensis* sobre as espécies em estudo.

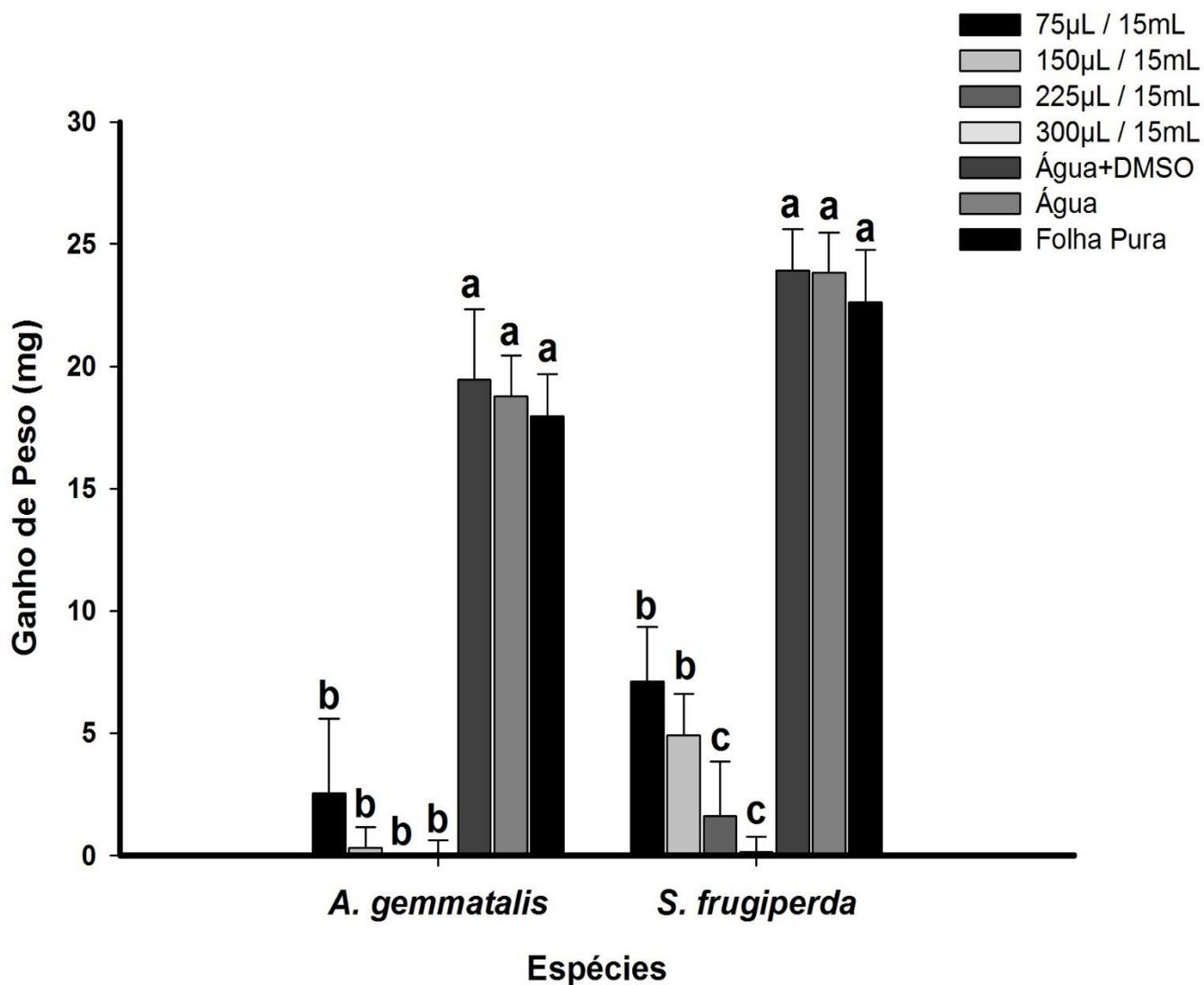


Figura 8. Ganho de peso (mg) das larvas de *A. gemmatalis* e *S. frugiperda* em 24 horas de exposição às folhas de soja (MSOY 8866) e milho (AG1051 Agrocere) tratadas com óleo essencial de *S. guianensis*. Médias seguidas por letras diferentes diferem estatisticamente entre si, pelo teste Tukey, ao nível de 5% de probabilidade. ($P < 0.05$).

3.7. Teste Pupicida

No teste de aplicação tópica do óleo essencial de *S. guianensis* para o estágio de pupa, observou-se diferenças significativas ($p < 0,05$) para todos os tratamentos (Fig. 9). Para a menor concentração de óleo aplicada (3 μL) houve grande redução na viabilidade das pupas, com 56 e 48% de viabilidade para *S. frugiperda* e *A. gemmatalis*, respectivamente. Para a maior concentração aplicada (6,0 μL), observou-se somente 8 e 6% de emergência dos insetos adultos. KASTEN JÚNIOR et al. (1978), em estudo de dados biológicos de *S. frugiperda* em dieta artificial à base de feijão, encontraram viabilidade de pupas em torno de 76,3 %, valor esse maior do que os encontrados para todos os tratamentos em nosso experimento. Embora algumas pupas não tenham apresentado mortalidade, a análise realizada nos insetos emergidos detectou deformações morfológicas, como asas malformadas ou parcialmente desenvolvidas e insetos presos aos casulos, de modo que, o efeito do óleo essencial de *S. guianensis* afeta a metamorfose completa de *S. frugiperda* e *A. gemmatalis*.

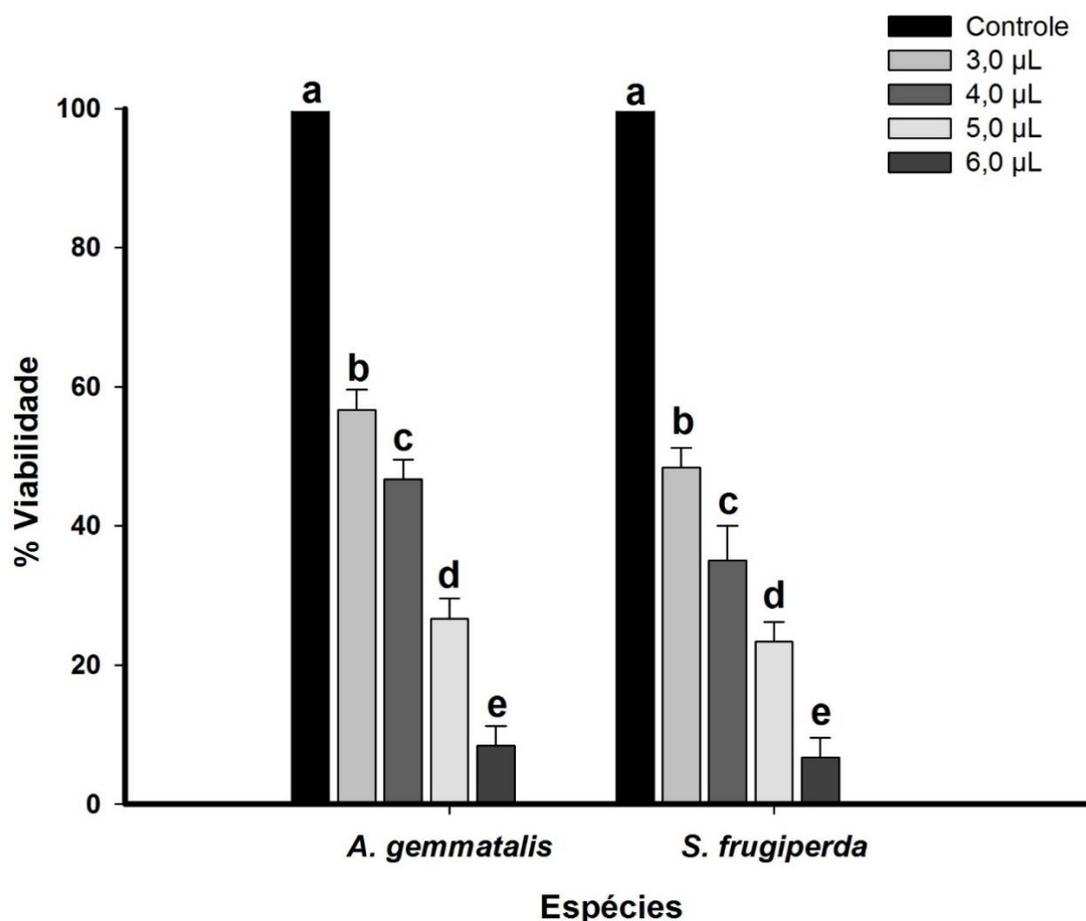


Figura 9. Efeito da aplicação tópica do óleo essencial de *S. guianensis* sobre pupas de *A. gemmatalis* e *S. frugiperda*. Médias seguidas por letras diferentes diferem estatisticamente entre si, pelo teste Tukey, ao nível de 5% de probabilidade. ($P < 0,05$).



Figura 10. Aspectos em *S. frugiperda* e *A. gemmatalis* em bioensaios realizados com aplicação tópica do óleo essencial de *S. guianensis* na fase de pupa. Pupas mortas (A), insetos presos aos casulos (B) e mariposas *S. frugiperda* com deformações morfológicas nas asas (C).

3.8. Teste Inibitório de Oviposição

Os resultados obtidos demonstram que o óleo essencial de *S. guianensis* teve forte efeito sobre preferência de oviposição de *S. frugiperda* e *A. gemmatalis*. As gaiolas tratadas com a menor concentração 0,1mL / 20mL (óleo à 0,5%) apresentaram uma redução no número de ovos de 80 e 86% em relação as áreas não tratadas com óleo essencial de *S. guianensis*, para *A. gemmatalis* e *S. frugiperda*, respectivamente (Fig. 11). Desse modo, as gaiolas tratadas com óleo essencial nas concentrações 0,1mL, 0,2mL, 0,3mL e 0,4mL de óleo / 20 mL de solução (óleo à 0,5%, 1%, 1,5% e 2%) apresentaram diferenças significativas ($p < 0,05$) no número de ovos, quando comparadas com as partes não tratadas. Além disso, observa-se que mesmo as mariposas tendo a chance de escolha para oviposição, o óleo essencial de *S. guianensis* influenciou grandemente o percentual de oviposição, demonstrando assim, o forte efeito repelente de *S. guianensis*. Conforme observado por AGUIAR et al. (2015), o óleo essencial *S. guianensis* demonstrou forte efeito inibitório para oviposição de mosquitos na concentração 0,5 ug de óleo essencial em 500 uL de DMSO, com redução de 45 e 54 % na oviposição de *Aedes aegypti* e *Culex quinquefasciatus*, respectivamente.

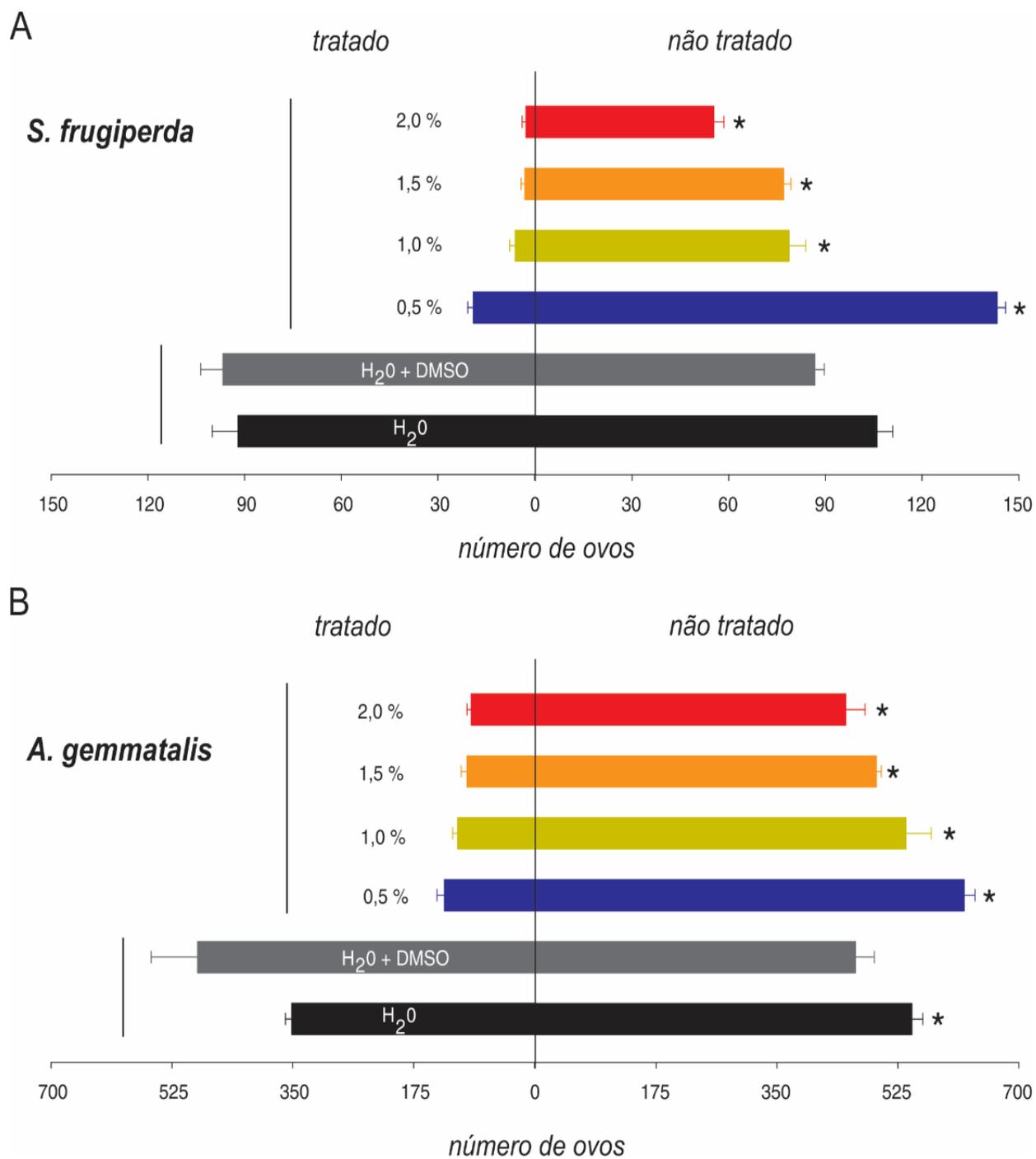


Figura 11. Proporção média de ovos depositados por *S. frugiperda* (A) e *A. gemmatalis* (B) em gaiolas em que metade delas eram tratadas (em diferentes concentrações) com óleo essencial de *S. guianensis*.

Os resultados observados em nossos experimentos evidenciam que o óleo essencial de *S. guianensis* apresenta uma elevada toxicidade para todos os estádios de desenvolvimento e forte potencial repelente para a lagarta do cartucho do milho (*S. frugiperda*) e a lagarta da soja (*A. gemmatalis*). Dessa forma, considerando-se os elevados níveis de resistência aos inseticidas em Lepidopteras e o enorme potencial de uso de extratos de plantas com bioatividade, pode-se inferir que uso do óleo essencial de *S. guianensis* pode ser uma alternativa para utilização dos programas de manejo de resistência a inseticidas convencionais. Conforme SOUSA et al. (2008), uma das prerrogativas para diminuir a velocidade de estabelecimento de populações resistentes a um determinado agente de controle, é o emprego da mistura de inseticidas, uso alternado ou em mosaico de dois ou mais inseticidas. Assim, com o uso de diferentes agentes de controle, os genótipos resistentes apresentam desvantagem reprodutiva na ausência do agente seletivo, permitindo o aumento da frequência dos genótipos suscetíveis. Dessa forma, pode-se afirmar que o óleo essencial de *S. guianensis* apresenta-se como uma alternativa complementar para o controle de *A. gemmatalis* e *S. frugiperda*. Nossos resultados evidenciam ainda o forte efeito do óleo essencial de *S. guianensis* como fagoinibidor alimentar, reduzindo em até 100% o consumo das seções tratadas, além do elevado efeito inibitório da oviposição de insetos adultos. Os resultados obtidos nesta pesquisa vão de encontro aos objetivos esperados, evidenciando assim, a qualidade e eficácia do óleo essencial de *S. guianensis* e a sua relevância dentro de um Programa de Manejo Integrado de Pragas.

4. CONCLUSÕES

O óleo essencial de *S. guianensis* é altamente tóxico para todos os estágios de desenvolvimento de *A. gemmatalis* e *S. frugiperda*. Além disso, o óleo essencial de *S. guianensis* apresenta uma elevada atividade repelente contra essas espécies, demonstrando também atividade deterrente e ação anti alimentar. Estas propriedades do óleo essencial de *S. guianensis* demonstram o seu potencial para o uso como um inseticida natural contra a lagarta da soja *A. gemmatalis* e a lagarta do cartucho do milho *S. frugiperda*.

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AGUIAR, R.W.S.; SANTOS, S.F.; MORGADO, F.S.; ASCENCIO, S.D.; LOPES, M.M.; VIANA, K.F.; DIDONET, J.; RIBEIRO, B.M. Insecticidal and repellent activity of *Siparuna guianensis* Aubl. (Negramina) against *Aedes aegypti* and *Culex quinquefasciatus*. **PLOS ONE** | DOI:10.1371/journal.pone.0116765 February 3, 2015.

ANDRADE, M.A.; CARDOSO, M.G.; ANDRADE, J.; SILVA, L.F.; TEIXEIRA, M.L. Chemical composition and antioxidant activity of essential oils from *Cinnamodendron dinisii* Schwacke and *Siparuna guianensis* Aublet. **Antioxidantes**, v. 2, p. 384-397, 2013.

BAKKALI, F.; AVERBECK, S.; AVERBECK, D.; IDAOMAR, M. Biological effects of essential oils – a review. **Food and Chemical Toxicology**, v. 46, p. 446–475. 2008.

BATISH, D.R. et al. Eucalyptus essential oil as a natural pesticide. **Forest Ecology and Management**, v. 256, p. 2166-2174, 2008.

BOYER, S.; ZHANG, H.; LEMPÉRIÈRE, G. A review of control methods and resistance mechanisms in stored-product insects. **Bulletin of Entomological Research**, v. 102, p. 213–229. 2012.

BUND, C.S.; MCPHERSON, R.M. Cropping preferences of common lepidopteran pests in a cotton/soybean cropping system. **Journal of Entomological Science**, v. 42, p. 105–118, 2000.

CARSON, C.F.; HAMMER, K.A.; RILEY, T.V. *Melaleuca alternifolia* (Tea Tree) oil: a review of antimicrobial and other medicinal properties. **Clinical Microbiology Reviews**, v. 19, p. 50–62, 2006.

CASTRO, D.P.; CARDOSO, M. G.; MORAES, J. C.; SANTOS, N. M.; BALIZA, D. P. Não preferência de *Spodoptera frugiperda* (Lepidóptera: *Noctuidae*) por óleos essenciais de *Achillea millefolium* L. e *Thymus vulgaris* L. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v. 8, p. 27-32, 2006.

CHAUBEY, M.K. Insecticidal activity of *Trachyspermum ammi* (Umbelliferae), *Anethum graveolens* (Umbelliferae) and *Nigella sativa* (Ranunculaceae) essential oils against stored-product beetle *Tribolium castaneum* Herbst (Coleoptera: Tenebrionidae). **African Journal of Agricultural Research**, v. 2, p. 596–600, 2007.

DINIZ, J.A. *Siparuna guianensis* Aublet como nova fonte de α -bisabolol para o controle de *Rhipicephalus microplus*. 2014, 94p. **Dissertação** (Mestrado em Agroquímica), Universidade Federal de Viçosa, Minas Gerais, Brasil.

ESTRELA, J.L.V. et al. Toxicidade de amidas análogas à piperina a larvas de *Ascia monuste* orseis Godart (Lepidoptera: Pieridae) e *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith) (Lepidoptera: Noctuidae). **Neotropical Entomology**, v. 32, p.343-346, 2003.

ENNAN, E.; BEIGLER, M.; KENDE, A. Insecticidal action of terpenes and phenols to cockroaches: effects on octopamine receptors. In: International Symposium on Plant Protection. European and Mediterranean Plant Protection Organization. Gent, Belgium. 1998.

FARIAS, A.M. Bioatividade do óleo essencial de *Piper tuberculatum* Jacq sobre a lagarta-do-cartucho-do-milho *Spodoptera frugiperda* (Smith, 1797) (Lepidoptera: Noctuidae). 2012, 66 p. **Dissertação** (Mestrado em Produção Vegetal), Universidade Federal do Piauí, Brasil.

FERREIRA, D.F. SISVAR: um programa para análises e ensino de estatística. **Revista Científica Symposium**, v. 6, n. 2, p. 36-41, 2008.

FINNEY, D.J. Probit analysis. 3^a ed. London: **Cambridge University Press**, 1971.

FOUAD, H.A.; FARONI, L.R.D.; TAVARES, W.S.; RIBEIRO, R.; FREITAS, S.S.; ZANUNCIO, J.C. Botanical extracts of plants from the Brazilian Cerrado for the integrated management of *Sitotroga cerealella* (Lepidoptera: Gelechiidae) in stored grain. **Journal of Stored Products Research**, v. 57, p. 6–11. 2014.

GONÇALVES, G.R.C.R.; VENDRAMIM, J.D. Modo de ação de extratos de meliáceas sobre *Tuta absoluta* (Meyrick, 1917) (Lepidoptera: Gelechiidae). **Arquivos do Instituto Biológico, São Paulo**, v.71, p.215-220, 2004.

GOUSSAIN, M. M.; Efeito da Aplicação do Silício em Plantas de milho no desenvolvimento biológico da lagarta-do-cartucho *Spodoptera frugiperda* (J. E. Smith, 1797) e do pulgão-da-folha *Rhopalosiphum maidis* (Fitch, 1856) (Hemiptera: Aphididae). 2001, 64 p. **Dissertação** (Mestrado em Entomologia) - Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG.

GURUSUBRAMANIAN, G.; KRISHNA, S.S. The effect of exposing eggs of four cotton insect pests to volatiles of *Allium sativum* (Liliaceae), **Entomological Research**, v.86, p.29-31, 1996.

HEONG, K.L.; TAN, K.H.; GARCIA, C.P.F; FABELLAR, L.T; LU, Z. Research Methods in Toxicology and Insecticide Resistance Monitoring of Rice Plant hoppers. **Inter-national Rice Research Institute**, p. 37–42, 2011.

HUSSAIN, A.I.; ANWAR, F.; HUSSAINSHERAZI, S.T.; PRZYBYLSKI, R. Chemical composition, antioxidant and antimicrobial activities of basil (*Ocimum basilicum*) essential oils depends on seasonal variations. **Food Chemistry**, v. 108, p. 986–995. 2008.

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.

JAYASSEKARA, T.K.; STEVENSON, P.C.; HALL, D.R. & BELMAIN, S.R. Effect of volatile constituents from *Securidaca longepedunculata* on insect pests of stored grain. **Journal of Chemical Ecology**, v. 31, p. 303-313, 2005.

KASTEN- JUNIOR, P.; PRECETTI, A. A. C. M.; PARRA, J. R. P. Dados biológicos comparativos de *Spodoptera frugiperda* (J. E. Smith, 1797) em duas dietas artificiais e substrato natural. **Revista de Agricultura**, v. 53, p. 68-78, 1978.

KATHURIA, V.; KAUSHIK, N. Evaluation of insecticidal property of some plant species against *Helicoverpa armigera*. **Indian Journal of Agricultural Sciences**, v. 76, p. 614–617. 2006.

KOSTYUKOVSKY, M.; RAFAELI, A.; GILEADI, C.; DEMCHENKO, N.; SHAAAYA, E. Activation of octopaminergic receptors by essential oil constituents isolated from aromatic plants: possible mode of action against insect pests. **Pest Management Science**, v. 58, p. 1101–1106. 2002.

LABINAS, M.A.; CROCOMO, W.B. Effect of java grass (*Cymbopogon winteranus*) essential oil on fall armyworm *Spodoptera frugiperda* (J. E. Smith, 1797) (Lepidoptera, Noctuidae). **Acta Scientiarum**, v.24, p. 1401-1405, 2002.

LIMA, R.K.; CARDOSO, M.G.; SANTOS, C.D.; MORAES, J.C.; NÉRI, D.K.P.; NASCIMENTO, E.A. Caracterização química do óleo essencial de folhas de goiabeira (*Psidium guajava* L.) e seus efeitos no comportamento da lagarta-do-cartucho do milho *Spodoptera frugiperda* (J. E. Smith, 1797) (Lepidoptera: Noctuidae). **Ciência e Agrotecnologia**, v. 33, p. 1777 -1781, 2009.

NÉRI, D.K.P. et al. Interação silício com inseticida regulador de crescimento no manejo da lagarta-do-cartucho *Spodoptera frugiperda* (J. E. Smith, 1797) (Lepidoptera: Noctuidae) em milho. **Ciência e Agrotecnologia**, v.29, p.1167-1174, 2005.

OBENG-OFORI, D. & AMITEYE, S. Efficacy of mixing vegetable oils with pirimiphos methyl against the maize weevil, *Sitophilus zeamais* Motschulsky in stored maize. **Journal Stored Products Research**, v.41, p.57-66, 2005.

OLIVEIRA, M.S.S. et al. Eficiência de produtos vegetais no controle da lagarta-do-cartucho-do-milho *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith, 1797) (Lepidoptera: Noctuidae). **Ciência e Agrotecnologia**, v.31, p.326-331, 2007.

OLIVEIRA, M.S.S.; ROEL, A.R.; ARRUDA, E.J. & MARQUES, A.S. Efficiency of extracts of plants in control fall armyworm in corn *Spodoptera frugiperda* (J. E. Smith, 1797) (Lepidoptera: Noctuidae). **Ciências Agrotécnicas**, v. 31, p. 326-331, 2006.

OOTANI, M.A.; Atividade inseticida, antifúngica e herbicida dos óleos essenciais de *Eucalyptus citriodora* e *Cymbopogon nardus*. 2010, 121p. **Dissertação** (Mestrado em Produção Vegetal) - Universidade Federal do Tocantins, Tocantins.

PINHEIRO, J.N.; FREITAS, B.M. Efeitos letais dos pesticidas agrícolas sobre polinizadores e perspectivas de manejo para os agroecossistemas brasileiros. **Oecologia Australis**, v. 14, p. 266-281, 2010.

REGNAULT-ROGER, C.; VINCENT, C.; ARNASON, J.T. Essential oils and insect control: Low-risk products in a high-stakes world. **Annual Review Entomology**, v. 57, p. 405–424. 2012.

RYAN, M.F. & BYRNE, O. Plant–insect coevolution and inhibition of acetylcholinesterase. **Journal of Chemical Ecology**, v. 14, p. 1965–1975. 1988.

SCAPINELLO, J. OLIVEIRA, V.; RIBEIROS, M.L.; TOMAZELLI JR, O.; CHIARADIA, L.A.; MAGRO, J.D. Effects of supercritical CO₂ extracts of *Melia azedarach* L. on the control of fall armyworm (*Spodoptera frugiperda*). **The Journal of Supercritical Fluids**, v. 93, p. 20–26. 2014.

SCHMIDT, G.H.; RISHA, E.M.; NAHAL, A.K.M. Reduction of progeny of some stored product Coleoptera by vapors of *Acorus calamus* oil, **Journal Stored Products Research**, v.27, p.121-127, 1991.

SIMÕES, C. M.; SPITZER, V. Óleos voláteis. In: SIMÕES, C. M. O.; SCHENKEL, E. P.; GOSMANN, G.; MELLO, J. C. P.; MENTZ, L. A.; PETROVICK, P. R. **Farmacognosia: da planta ao medicamento**. 5. ed. Porto Alegre: UFSC, 2004.

SOUSA, A. H.; FARONI, L. R. A.; GUEDES, R. N. C.; TÓTOLA, M. R.; URRUCHI, W. I. Ozone as a management alternative against phosphine-resistant insect-pests of stored products, **Journal of Stored Products Research**, v.44, p.379-385, 2008.

TAVARES, W.S.; CRUZ, I.; FONSECA, F.G.; GOUVEIA, N.L.; SERRÃO, J.E.; ZANUNCIO, J.C. Deleterious activity of natural products on postures of *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae) and *Diatraea saccharalis* (Lepidoptera: Pyralidae). **Zeitschrift fur Naturforschung C**, v. 65, 412–418. 2010.

TAVARES, W.S.; FREITAS, S.S.; GRAZZIOTTI, G.H.; PARENTE, L.M.L.; LIÃO, L.M.; ZANUNCIO, J.C. Ar-turmerone from *Curcuma longa* (Zingiberaceae) rhizomes and effects on

Sitophilus zeamais (Coleoptera: Curculionidae) and *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae). **Industrial Crops and Products**, v. 46, p. 58– 164. 2013.

TEIXEIRA, B.; MARQUES, A.; RAMOS, C.; NENG, N.R.; NOGUEIRA, J.M.; SARAIVA, J.A.; NUNES, M.L. Chemical composition and antibacterial and antioxidant properties of commercial essential oils. **Industrial Crops and Products**, v. 43, p. 587–595. 2013.

VIANA, P. A. & PRATES, H. T. Desenvolvimento e mortalidade larval de *Spodoptera frugiperda* em folhas de milho tratadas com extrato aquoso de folhas de *Azadirachta indica*. **Bragantia**, v.62, p.69-74. 2003.

Yang, K.; Wang, C.F.; You, C.X.; Geng, Z.F.; Sun, R.Q.; Guo, S.S.; Du, S.S.; Liu, Z.L.; Deng, Z.W. Bioactivity of essential oil of *Litsea cubeba* from China and its main compounds against two stored product insects. **Journal of Asia-Pacific Entomology**, v.17, p.459-466. 2014.

WATERS, D.J. & BARFIELD, C.S. 1989. Larval development and consumption by *Anticarsia gemmatalis* (Lepidoptera: Noctuidae) fed various legume species. **Environmental Entomology**, v. 18, 1006–1010.

CAPITULO II

DETERRÊNCIA E REPELÊNCIA NO COMPORTAMENTO LOCOMOTOR DE *Spodoptera frugiperda* E *Anticarsia gemmatalis* AO ÓLEO DE *Siparuna guianensis* AUBLET (NEGRAMINA)

RESUMO

Spodoptera frugiperda e *Anticarsia gemmatalis* são importantes pragas nas culturas do milho e soja, respectivamente. Por causarem grandes perdas à produtividade, o principal método de controle dessas pragas ainda é a utilização de inseticidas sintéticos. No entanto, devido à problemas de contaminação ambiental e indução de populações resistentes, a utilização de bioinseticidas ou óleos essenciais surge como uma ferramenta alternativa de controle. *Siparuna guianensis* Aublet (negramina) é uma planta medicinal com diversas finalidades farmacológicas, porém, sem nenhum relato de sua utilização como bioinseticida nessas espécies. Além da toxicidade, ainda é desconhecido se o óleo de *S. guianensis* é capaz de modificar o comportamento locomotor de *Spodoptera frugiperda* e *Anticarsia gemmatalis*. O presente trabalho teve como objetivo verificar os padrões comportamentais de caminhamento de *S. frugiperda* e *A. gemmatalis* submetidas às concentrações do óleo de *S. guianensis*. Bioensaios comportamentais de atividade em grupo foram conduzidos com todos os instares larvais das duas espécies, submetidos à CL₁₀ e CL₅₀ do óleo. Além disso, ensaios individuais foram conduzidos permitindo a avaliação de parâmetros relacionados a locomoção como distância percorrida, número de paradas, tempo parado, velocidade média e repelência. Nossos resultados demonstraram que a atividade de grupo foi significativamente reduzida nas duas espécies após exposição à CL₅₀ de *S. guianensis*. No entanto, a atividade das larvas expostas a CL₁₀ foi variável com o tempo de exposição. Nos bioensaios em larvas individualizadas, a distância percorrida em áreas tratadas com o óleo foi significativamente menor que em áreas não tratadas para as duas espécies. Nos bioensaios com chance de escolha, as larvas de ambas espécies preferiram permanecer em áreas não tratadas, demonstrando um significativo efeito repelente do óleo de *S. guianensis*. Nosso estudo é o

primeiro a demonstrar o potencial de uso do óleo de *S. guianensis* no controle de *S. frugiperda* e *A. gemmatalis* devido às suas propriedades arrestantes do comportamento locomotor e repelente à esses insetos.

Palavras chave: bioinseticidas, repelência, locomoção.

ABSTRACT

Spodoptera frugiperda and *Anticarsia gemmatalis* are important pests in crops of corn and soybeans, respectively. To cause great losses to productivity, the main method of control of these pests is still the use of synthetic insecticides. However, due to environmental contamination and induction of resistant populations, bioinsecticides or essential oils appears as a control alternative tool. *Siparuna guianensis* Aublet (negramina) is a medicinal plant with several pharmacological purposes, but without any reports of its use as a biopesticide in these species. In addition to the toxicity, it is still unknown whether the oil *S. guianensis* is able to modify the locomotor behavior of *Spodoptera frugiperda* and *Anticarsia gemmatalis*. This study aimed to determine the behavioral patterns of traversal of *S. frugiperda* and *A. gemmatalis* submitted to *S. guianensis* oil concentrations. Behavioral bioassays of group activity were conducted for all larval instars of both species undergoing CL10 and CL50 oil. In addition, individual tests were conducted enabling the assessment of parameters related to mobility as distance traveled, number of stops, stopped time, average speed and resistance. Our results showed that gang activity was significantly reduced in both species after exposure to LC50 *S. guianensis*. However, the activity of the larvae exposed to CL10 varied with time of exposure. In bioassays in individual larvae, the distance traveled in areas treated with the oil was significantly lower than in untreated areas for both species. In bioassays free choice, the larvae of both species preferred to remain in untreated areas, demonstrating a significant repellent effect of *S. guianensis* oil. Our study is the first to demonstrate the potential of *S. guianensis* oil use in the control of *S. frugiperda* and *A. gemmatalis* due to its arrestant properties of locomotor behavior and repelling these insects.

Keywords: biopesticides, repellency , locomotion .

1. INTRODUÇÃO

O milho (*Zea mays* L.) e a soja (*Glycine max* L.) estão entre as culturas de maior interesse em todo o mundo, contribuindo com aproximadamente 80% da produção de grãos, e dessa forma, consideradas de grande importância econômica e social (OLIVEIRA et al., 2006). Condições climáticas, tais como, temperatura, disponibilidade de água e radiação solar são fatores limitantes para o desenvolvimento dessas culturas. No entanto, outro fator que tem contribuído significativamente para a redução da produtividade é a ocorrência de pragas agrícolas.

A lagarta do cartucho do milho (*Spodoptera frugiperda*) e a lagarta da soja (*Anticarsia gemmatalis*) destacam-se como pragas principais das culturas do milho e soja, respectivamente. Ambas apresentam ampla distribuição geográfica e podem atacar as culturas durante todo o estágio de crescimento, ocasionando perdas significativas na produtividade (DEQUECH et al., 2013; CARVALHO et al., 2013). As perdas podem ser variáveis de acordo com a cultivar, local de semeadura e práticas agrônômicas (MATOS NETO et al., 2004; SILVA et al., 2008).

Atualmente, a agricultura convencional utiliza como principal método de controle destas pragas, os produtos fitossanitários sintéticos (GUERREIRO et al., 2014; LIMA et al., 2009). No entanto, o uso exclusivo e constante desses produtos tem causado diversos problemas, como contaminação ambiental, desenvolvimento de populações resistentes e eliminação de inimigos naturais (SILVA-FILHO et al., 2014; YAZDANI et al., 2013). No entanto, dentre os principais efeitos desses produtos químicos sobre o meio ambiente, destaca-se o impacto sobre os polinizadores, tanto na sua diversidade quanto na sua abundância e eficiência de polinização, o que conseqüentemente, pode acarretar perdas ainda mais significativas na produtividade (PINHEIRO & FREITAS, 2010).

Diante desses problemas, tem-se verificado um crescente interesse por compostos alternativos, como o uso de bioinseticidas ou óleos essenciais (AGUIAR et al., 2014; ISMAN & GRIENEISEN, 2014). Alguns produtos de origem botânica já fazem parte de formulações comerciais de inseticidas, por serem geralmente seletivos, de baixa toxicidade ao homem e animais e por apresentarem eficiência contra várias espécies de pragas (FOUAD et al., 2014; JINDAL et al., 2013). Dentro desse contexto, a adoção de alternativas aos métodos

tradicionais no controle de *S. frugiperda* e *A. gemmatalis* são perfeitamente justificáveis dentro de uma estratégia adequada de Manejo Integrado de Pragas (MIP).

A *Siparuna guianensis* Aublet (negramina), pertencente ao gênero *Siparuna* Aublet e família *Siparunaceae*, é uma planta medicinal e aromática que vem sendo apontada como espécie prioritária de conservação para a região do cerrado (RENNER & HAUSNER, 2005). É muito utilizada para diversas finalidades farmacológicas; porém, não há relatos de sua utilização como bioinseticidas no controle de pragas agrícolas (DINIZ, 2014; ANDRADE et al., 2013). Sabe-se que os efeitos mais frequentes dos bioinseticidas em larvas de lepidópteras é o comprometimento do desenvolvimento larval. No entanto, não se conhece os efeitos comportamentais do óleo essencial de *Siparuna guianensis* sobre lagartas de *Spodoptera frugiperda* e *Anticarsia gemmatalis*.

Os mecanismos comportamentais são determinados por ações que influenciam a resposta do organismo a pressões seletivas exercidas por um determinado inseticida. Esses mecanismos, por sua vez, aumentam a capacidade dos insetos escaparem dos efeitos letais do inseticida, podendo estar relacionados à capacidade de aprendizagem, de forma a evitar o contato com determinado produto (LOCKWOOD et al., 1984; HOY et al., 1998). De acordo com GEORGHIOU (1972), os mecanismos comportamentais podem ser estímulo-independentes, os quais incluem um comportamento padrão, onde o indivíduo não necessita de contato prévio com a substância tóxica (LOCKWOOD et al., 1984); ou podem ser estímulo-dependentes, onde há um aumento na habilidade do inseto de detectar o inseticida, excitando a resposta de fuga após a detecção da substância, devido suas propriedades irritante e repelente (LOCKWOOD et al., 1984).

No entanto, os estudos sobre a ação dos inseticidas usualmente priorizam os efeitos de caráter fisiológico e bioquímico, dando pouca atenção às respostas comportamentais do organismo resultantes da exposição ao inseticida (GUEDES et al., 2009). Dessa forma, o presente trabalho teve como objetivo verificar os padrões comportamentais de caminamento dos indivíduos de duas populações de *Spodoptera frugiperda* e uma população de *Anticarsia gemmatalis* quando submetidas às concentrações do óleo essencial de *Siparuna guianensis*.

2. MATERIAL E MÉTODOS

2.1 Insetos e inseticida

Duas populações de *Spodoptera frugiperda* e uma de *Anticarsia gemmatalis* foram usadas nesse estudo. A população de *S. frugiperda* resistente às toxinas Cry1A105 e Cry2Ab2 de *B. thuringiensis* e a população de *A. gemmatalis* susceptível às toxinas Bt foram fornecidas pelo Laboratório de Interação Inseto-Planta da Universidade Federal de Viçosa, Viçosa-MG. A população de *S. frugiperda* susceptível às toxinas Bt foi cedida pelo Laboratório de Manejo Integrado de Pragas da Universidade Federal do Tocantins, Gurupi-TO.

Plantas de *Siparuna guianensis* (*Siparunaceae*) situadas em Gurupi-TO, Brasil (11° 43'45" S, 49° 04'07" W) foram utilizadas para a extração do óleo. A identificação taxonômica foi confirmada por peritos no herbário da Universidade Federal do Tocantins (Campus Porto Nacional), onde as amostras foram depositadas com número de referência 10,496. As coleções foram aprovadas pelo Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico, CNPq, nº 010580 / 2013-1. As folhas foram coletadas preferencialmente no período da manhã e o óleo essencial foi extraído por hidrodestilação em Clevenger modificado (AGUIAR *et al.*, 2014). O óleo foi diluído em água destilada e detergente DMSO e suas concentrações foram estabelecidas com base nos valores de CL₁₀ e CL₅₀ de cada população de *S. frugiperda* e *A. gemmatalis*.

2.2 Bioensaio de atividade de grupo

Bioensaios de atividade de grupo de *ambas espécies* foram realizadas 3, 6 e 16 horas após a exposição por contato dos insetos às respectivas CL₁₀ e CL₅₀ do óleo de *S. guianensis*. Os insetos foram expostos em papel filtro após a secagem do mesmo. As concentrações do óleo foram aplicadas no volume de 1 mL de solução em papel filtro (Whatman No. 1), enquanto os controles utilizaram somente água destilada e DMSO. Foram realizados bioensaios para 2º, 3º, 4º e 5º instar de cada população. Os insetos expostos e não expostos ao óleo foram transferidos para placas de Petri (9,0 cm de diâmetro e 2 cm de altura), em grupos

de 10 indivíduos de mesmo instar. A parte inferior de cada placa de Petri foi revestida com papel de filtro não-contaminado e coberta com vidro transparente de 1 cm de espessura para impedir a fuga de insetos. A atividade geral dos insetos como locomoção, interações entre os insetos e movimentos das partes corporais foi gravada durante 10 minutos e digitalmente transferidos para um computador através de um sistema de monitoramento de vídeo equipado com uma câmera digital CCD (ViewPoint LifeSciences, Montreal, QC, Canadá). Nos intervalos entre os ensaios de 3, 6 e 16 h após a exposição, as larvas foram devolvidas às placas com seus respectivos tratamentos. Os bioensaios foram realizados em salas com temperatura controlada ($25 \pm 2^\circ\text{C}$) e luz fluorescente artificial e repetidos dez vezes para cada instar.

2.3 Bioensaio de locomoção individual sem escolha

Larvas de 4º instar de cada população estudada foram expostas por contato à CL_{50} de *S. guianensis* durante 3 h e posteriormente submetidas a bioensaios de caminhamento individual. O 4º instar foi escolhido por apresentar maior movimentação entre os demais instares. Nenhuma mortalidade foi observada durante o período de 3 h de exposição ao óleo. Os insetos foram transferidos individualmente para uma placa de Petri (9 cm de diâmetro e 2 cm de altura) com papel filtro (Whatman n.º 1) tratado com resíduo seco do óleo em seu interior. Insetos do grupo controle foram expostos a papel filtro seco exposto previamente com água e DMSO. Um vidro transparente de 1 cm de espessura cobriu as placas para evitar o escape dos insetos. Após 3 h de exposição, o movimento de cada inseto dentro da arena foi gravado durante 30 minutos e digitalmente transferidos para um computador através de um sistema de monitoramento de vídeo automatizado equipado com uma câmera CCD (ViewPoint Life Sciences Inc., de Montreal, Canadá). Os parâmetros gravados em cada arena foram a distância percorrida (cm), velocidade (cm / s), o tempo (s) parado e o número de paradas. O bioensaio foi repetido 20 vezes, sendo cada repetição constituída de um único inseto. A cada repetição as placas de Petri e os papéis-filtro foram trocados. O bioensaio comportamental foi realizado em sala com luz incandescente artificial e uma temperatura média de $25 \pm 3^\circ\text{C}$.

2.4 Bioensaio de locomoção individual com escolha (repelência)

Larvas de 4º instar de cada população, por serem mais ativas que os demais instares larvais, foram usadas para avaliar o potencial repelente de *S. guianensis*, seguindo os métodos adaptados de GUEDES et al. (2009). Após a secagem em temperatura ambiente, metade dos

papéis filtro contendo resíduo do óleo foi colada por cima do disco tratado com água e DMSO. Nenhuma mortalidade foi observada durante o experimento. Cada larva foi lançada no meio da arena com somente metade tratada com o óleo. A característica comportamental avaliada foi a proporção do tempo total de permanência do indivíduo em cada metade da arena. O movimento de cada inseto dentro da arena foi gravado durante 30 minutos e digitalmente transferidos para um computador através de um sistema de monitoramento de vídeo automatizado equipado com uma câmera CCD (ViewPoint Life Sciences Inc., de Montreal, Canadá). Foram realizadas 40 repetições, onde cada repetição constituiu-se de um único inseto. A cada repetição, as placas de Petri e os papéis-filtro foram trocados. Os testes comportamentais foram realizados em sala com iluminação artificial, cuja temperatura média foi de $25 \pm 3^\circ\text{C}$.

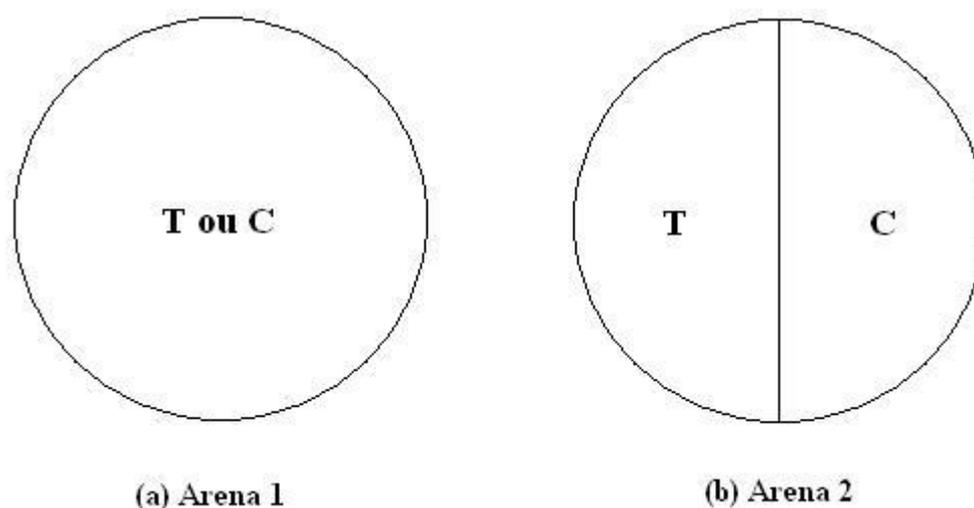


Figura 1 - Representação esquemática das arenas utilizadas nos estudos de comportamento locomotor de *Spodoptera frugiperda* e *Anticarsia gemmatalis*. (A) Arenas com disco impregnado com resíduo seco do óleo essencial de *S. guianensis* (Tratado - T) ou sem a presença do óleo essencial de *S. guianensis* (controle - C); (B) Arenas cuja metade da área era tratada (Tratado - T) com óleo essencial de *S. guianensis*.

2.5 Análises Estatísticas

Os dados do bioensaio de atividade em grupo foram submetidos à análises de variância com medidas repetidas no tempo para testar o efeito das concentrações do óleo (CL_{10} e CL_{50}) considerando os tempos de exposição como pseudorepetições. Eventuais diferenças no tempo foram testadas pelo teste de Fisher (PROC ANOVA with the PROFILE statement; SAS Institute 2008). As análises foram realizadas de forma separada para cada instar em cada população (*S. frugiperda* resistente a Bt, *S. frugiperda* susceptível a Bt e A.

gemmatalis susceptível a Bt). Os dados dos bioensaios individuais sem escolha foram submetidos à análise multivariada (PROC MANOVA; SAS Institute 2008). As médias dos parâmetros avaliados entre as populações foram comparadas pelo teste de Tukey. Dados dos bioensaios individuais com escolha (repelência) foram sujeitos ao teste-t. As pressuposições de normalidade e homocedasticidade foram checadas antes das análises (UNIVARIATE procedure in SAS).

3. RESULTADOS

3.1 Atividade de grupo

Nossos resultados demonstraram que a atividade geral de grupo dos insetos foi influenciada significativamente pelos tratamentos contendo óleo essencial de *S. guianensis*. A população de *Anticarsia gemmatalis* (susceptível à Bt), quando submetida à concentração CL₅₀ do óleo, apresentou alterações no comportamento de grupo ao longo do tempo (pixels⁻¹ × 10⁻²) para todos os instares avaliados. Os resultados demonstraram que larvas de 2º instar de *A. gemmatalis* expostas por três horas à CL₅₀ do óleo, exibiram uma atividade média do grupo de quase cinco vezes menor que as larvas expostas somente à água e DMSO (Fig. 2 A).

Após seis horas de exposição, os insetos tratados apresentaram atividade média três vezes menor que a dos insetos não expostos ao óleo. Após 16 horas de exposição houve uma redução ainda maior na atividade de caminhamento dos insetos expostos ao óleo quando comparada ao controle. Portanto, observa-se que, independentemente do tempo de exposição de lagartas de 2º instar de *A. gemmatalis* à CL₅₀ de *S. guianensis*, as alterações na atividade de caminhamento foram significativamente reduzidas, quando comparada aos grupos não expostos ao óleo. Quando submetidas à concentração CL₁₀ do óleo de *S. guianensis*, as larvas de 2º instar de *A. gemmatalis* também apresentaram reduções na atividade. No entanto, essas diferenças foram variáveis de acordo com o tempo de exposição ao óleo, onde a maior diferença foi observada após o período de 16 horas de exposição (Fig. 2A). O padrão da atividade de grupos tratados com CL₅₀ do óleo em *A. gemmatalis* foi o mesmo para todos os instares avaliados (Figs. 2B, 2C E 2D). Para os grupos tratados com CL₁₀, as diferenças aparecem entre os indivíduos tratados e não tratados somente após 6 e 16h de exposição, independentemente do instar (Figs. 2B, 2C E 2D).

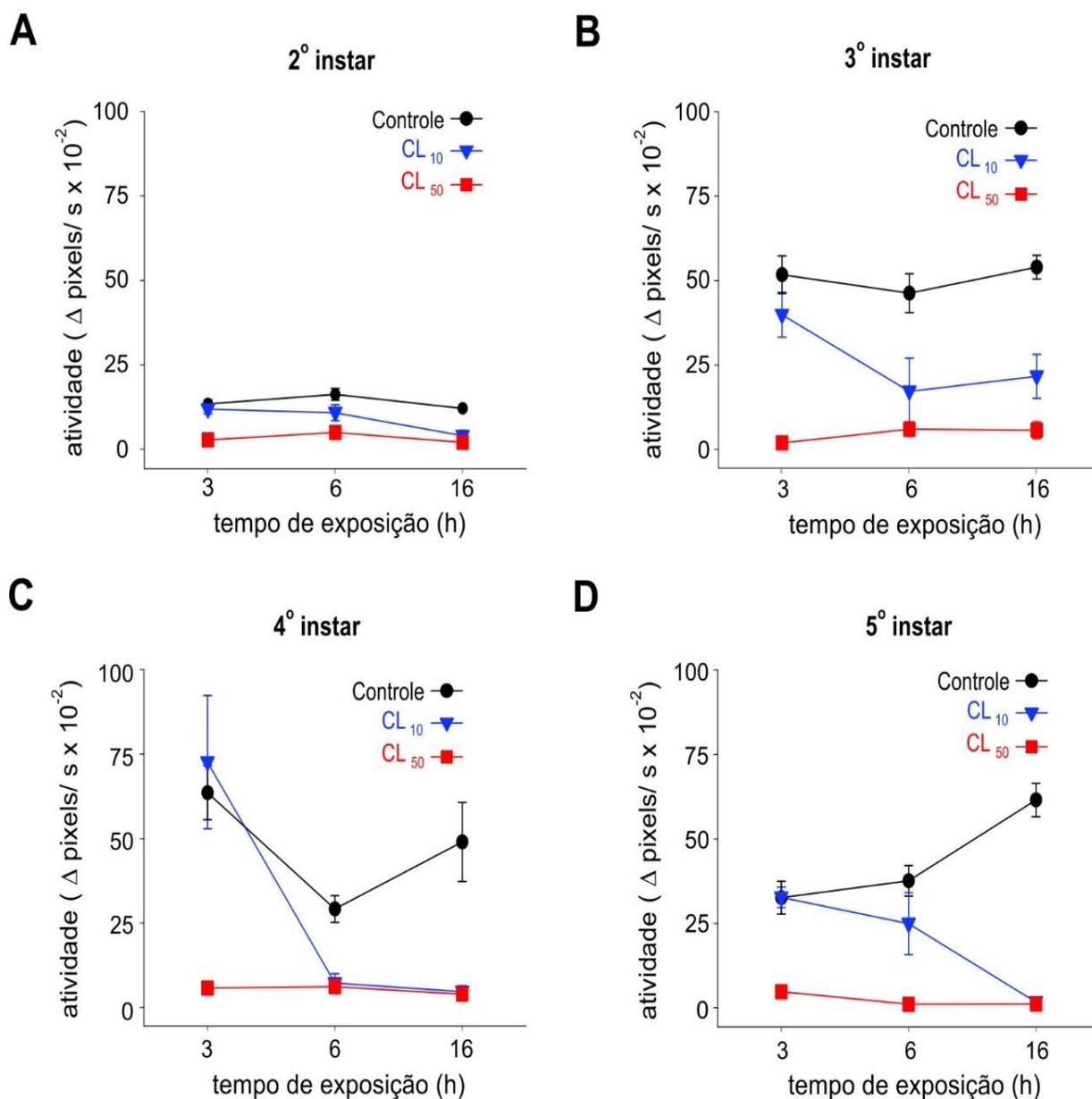


Figura 2. Efeitos do óleo essencial de *S. guianensis* (CL₁₀ e CL₅₀) na atividade locomotora (pixels⁻¹ × 10⁻²) de grupos de *A. gemmatalis* (susceptível à *Bt*). 2° instar (A), 3° instar (B), 4° instar (C) e 5° instar (D).

As larvas de 2° instar de *S. frugiperda*, quando submetidas à concentração CL₅₀ de *S. guianensis*, apresentaram diferenças significativas em sua atividade de caminhada, quando comparado às lagartas não expostas ao óleo. As lagartas expostas por três horas, apresentaram uma atividade quase 3 vezes menor que das lagartas não expostas (Fig. 3A). Nas avaliações após 6 e 16h de exposição, a atividade média dos insetos expostos também foi significativamente reduzida. As lagartas expostas à CL₁₀ do óleo apresentaram diferenças no

caminhamento principalmente após 16 horas de exposição. Para os outros instares, o padrão da atividade de grupos tratados com CL10 e CL₅₀ do óleo em *A. gemmatalis* foi o mesmo (Figs. 2B, 2C E 2D).

A atividade de grupo para a população *S. frugiperda* (resistente à *Bt*) submetida à CL₁₀ e CL₅₀ de *S. guianensis*, foram semelhantes às populações susceptíveis às proteínas Bt. Quando expostas à CL₅₀ a atividade das larvas resistente às proteínas Bt foi significativamente menor que o controle independentemente do tempo de exposição e dos instares avaliados. Quando expostas à CL₁₀ do óleo de *S. guianensis*, as larvas apresentaram diferenças comportamentais de caminhamento principalmente após 16 horas de exposição (Fig. 4).

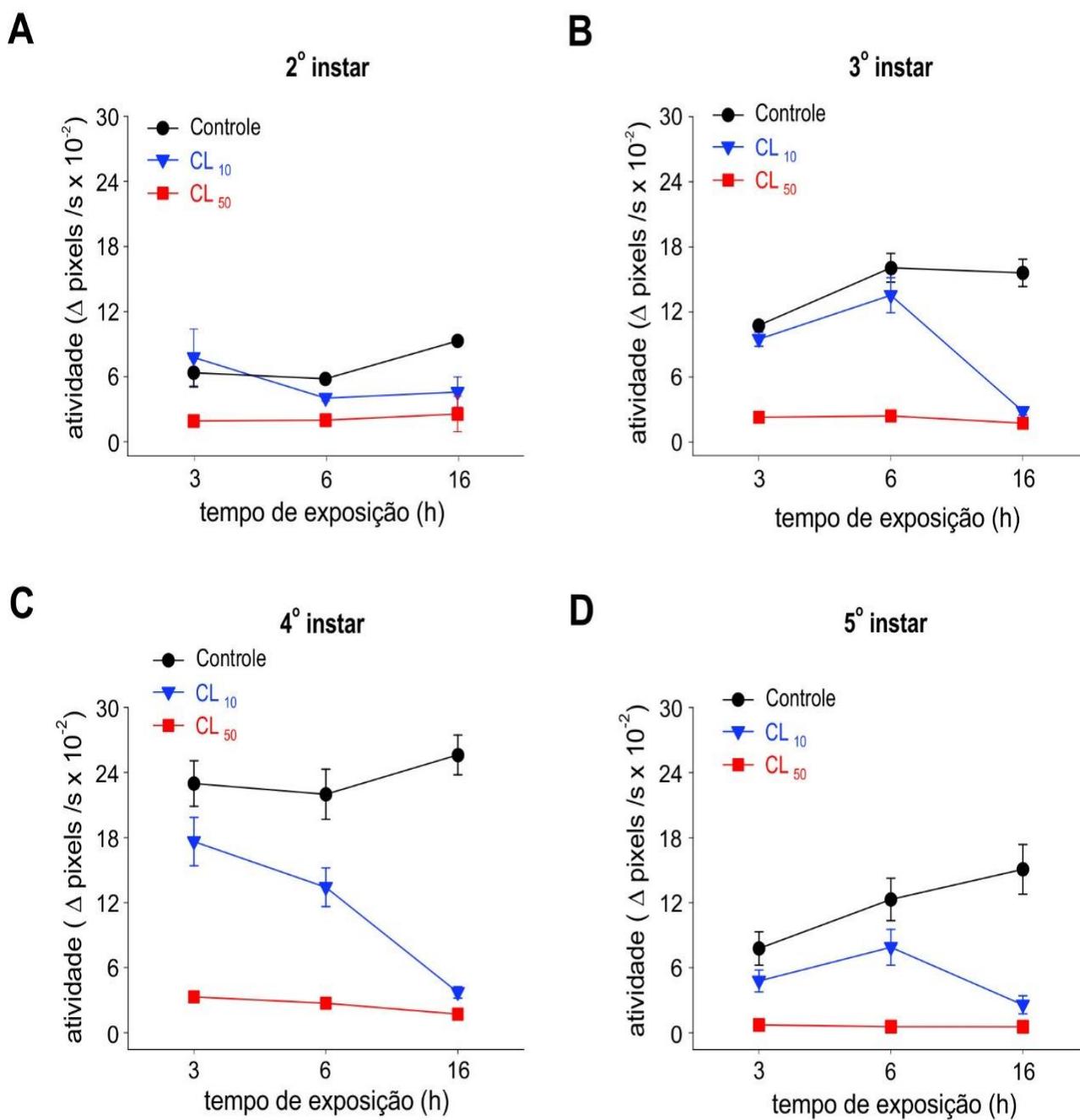


Figura 3. Efeitos do óleo essencial de *S. guianensis* (CL₁₀ e CL₅₀) na atividade locomotora ($\text{pixels}^{-1} \times 10^{-2}$) de grupos de *S. frugiperda* (susceptível à *Bt*). 2° instar (A), 3° instar (B), 4° instar (C) e 5° instar (D).

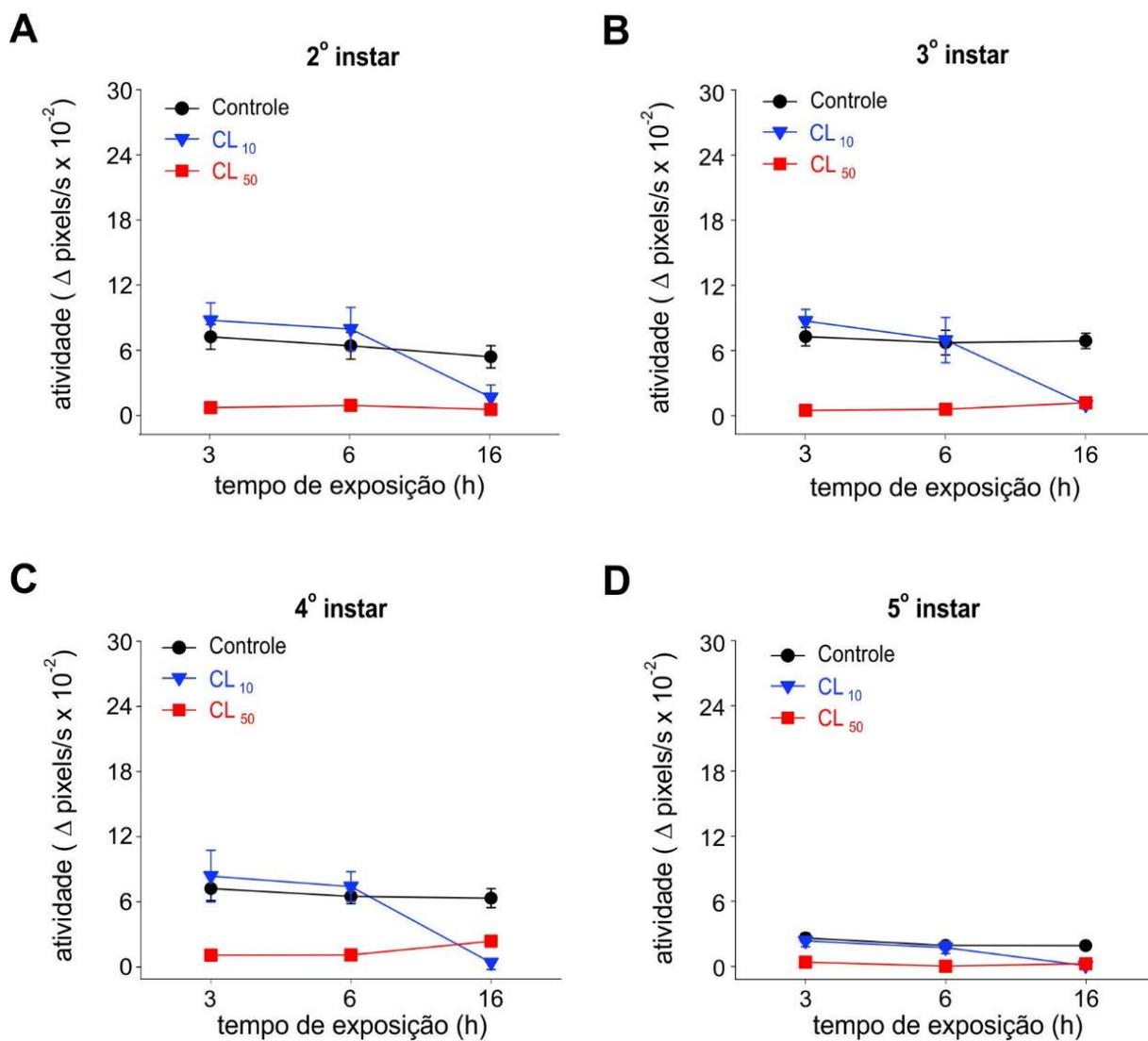


Figura 4. Efeitos do óleo essencial de *S. guianensis* (CL₁₀ e CL₅₀) na atividade locomotora ($\Delta \text{ pixels/s} \times 10^{-2}$) de grupos de *S. frugiperda* (resistente à *Bt*). 2° instar (A), 3° instar (B), 4° instar (C) e 5° instar (D).

3.2 Locomoção individual sem escolha

Através da Análise Multivariada, foi observado que o comportamento de caminhada dos insetos foi influenciado significativamente pela CL_{50} do óleo de *S. guianensis*. Também ocorreu diferença significativa entre as populações para as características distância percorrida e número de paradas.

Para a variável número de paradas, houve diferença significativa entre os tratamentos somente para a população *S. frugiperda* (susceptível à *Bt*). Entre as populações, não houve diferença entre *S. frugiperda* (resistente à *Bt*) e *S. frugiperda* (susceptível à *Bt*), mas ambas diferiram da população *A. gemmatalis* (susceptível à *Bt*), a qual apresentou o maior número de paradas (Fig. 5B). No tempo parado houve diferença significativa entre os tratamentos somente para a população *A. gemmatalis* (susceptível à *Bt*), não havendo diferenças significativas entre as populações (Fig. 5E). Para a velocidade média observou-se diferença significativa entre os tratamentos somente na população *S. frugiperda* (susceptível à *Bt*), não havendo diferença significativa entre as populações (Fig. 5D). Os mapas com o rastreamento dos insetos em arenas tratadas e não tratadas ao óleo demonstram significativa modificação do comportamento locomotor dos insetos expostos ao óleo de *S. guianensis* em cada população (Fig. 5A).

Para a distância percorrida, as diferenças foram significativas para todas as populações. A distância percorrida pelas lagartas na arena tratada foi relativamente menor que a distância percorrida em arenas não tratadas. Para esse parâmetro não se observou diferenças significativas entre as populações *S. frugiperda* (resistente à *Bt*) e *A. gemmatalis* (susceptível à *Bt*). No entanto ambas diferiram da população *S. frugiperda* (susceptível à *Bt*) a qual apresentou menor espaço percorrido (Fig. 5C).

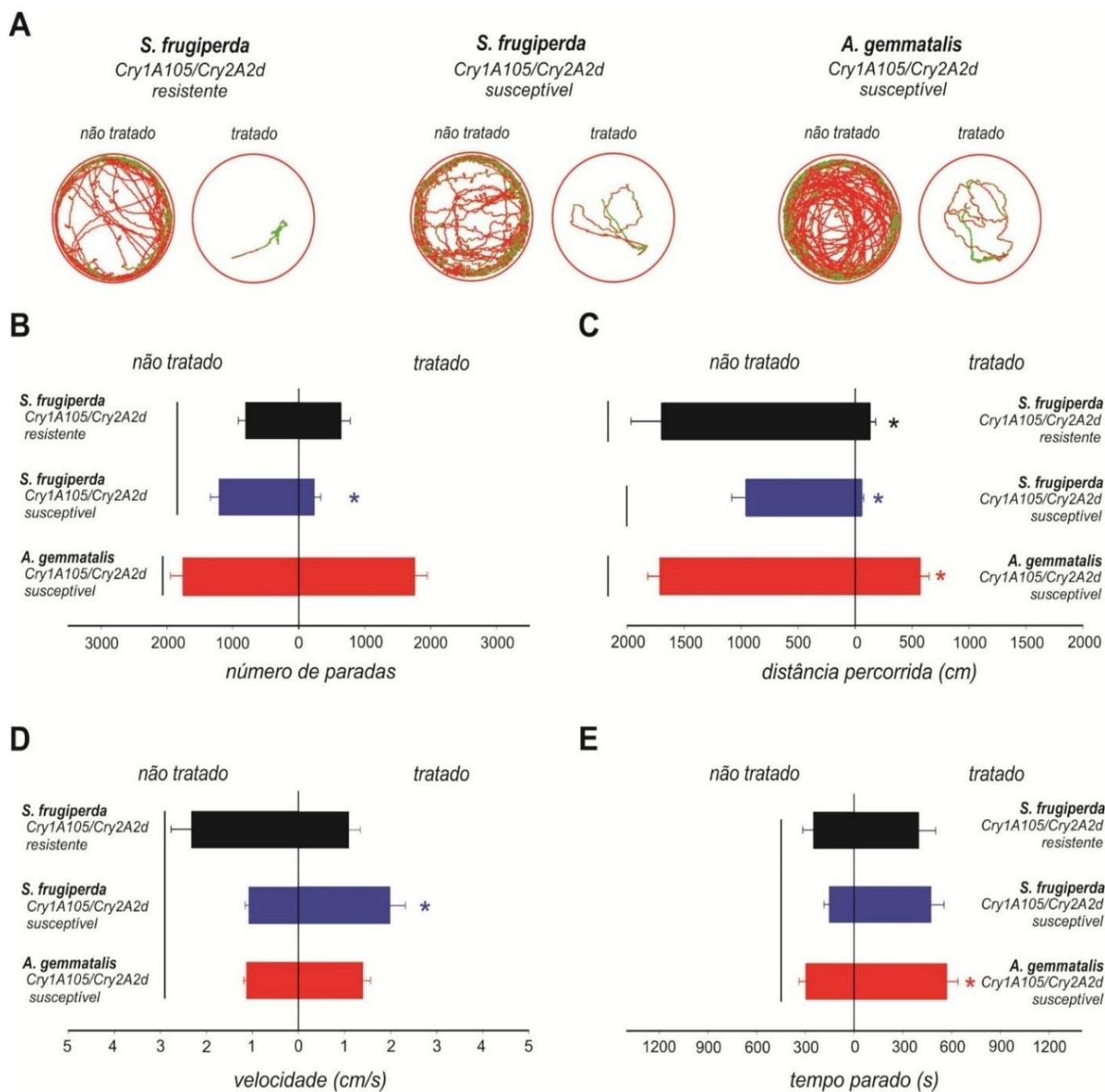


Figura 5. Efeitos do óleo essencial de *S. guianensis* (CL₅₀) na locomoção de indivíduos de *S. frugiperda* (resistentes ou susceptíveis à Bt) e de *A. gemmatalis* (susceptível à Bt). (A) Mapas com rastreamento do comportamento locomotor de *S. frugiperda* e de *A. gemmatalis*. (B-E) Efeitos da exposição ao óleo essencial de *S. guianensis* no número de paradas, na distância percorrida (cm), na velocidade média (cm/s) e nos tempos de caminhada e de repouso.

3.3 Bioensaio de locomoção individual com escolha (repelência)

Através do Teste t, observou-se que a concentração CL_{50} de *S. guianensis* reduziu significativamente o tempo de permanência das larvas de todas as populações em arenas tratadas com o óleo de *S. guianensis* (Fig. 6).

Em outras palavras, notou-se um significativo efeito repelente do óleo de *S. guianensis* aos insetos, de maneira que os insetos de todas as populações evitaram as áreas tratadas. Não houve diferença significativa no tempo na área tratada com óleo entre as populações. Os mapas com o rastreamento dos insetos em áreas tratadas e não tratadas ao óleo em cada população demonstram significativo efeito repelente do óleo de *S. guianensis* aos insetos (Fig. 6A).

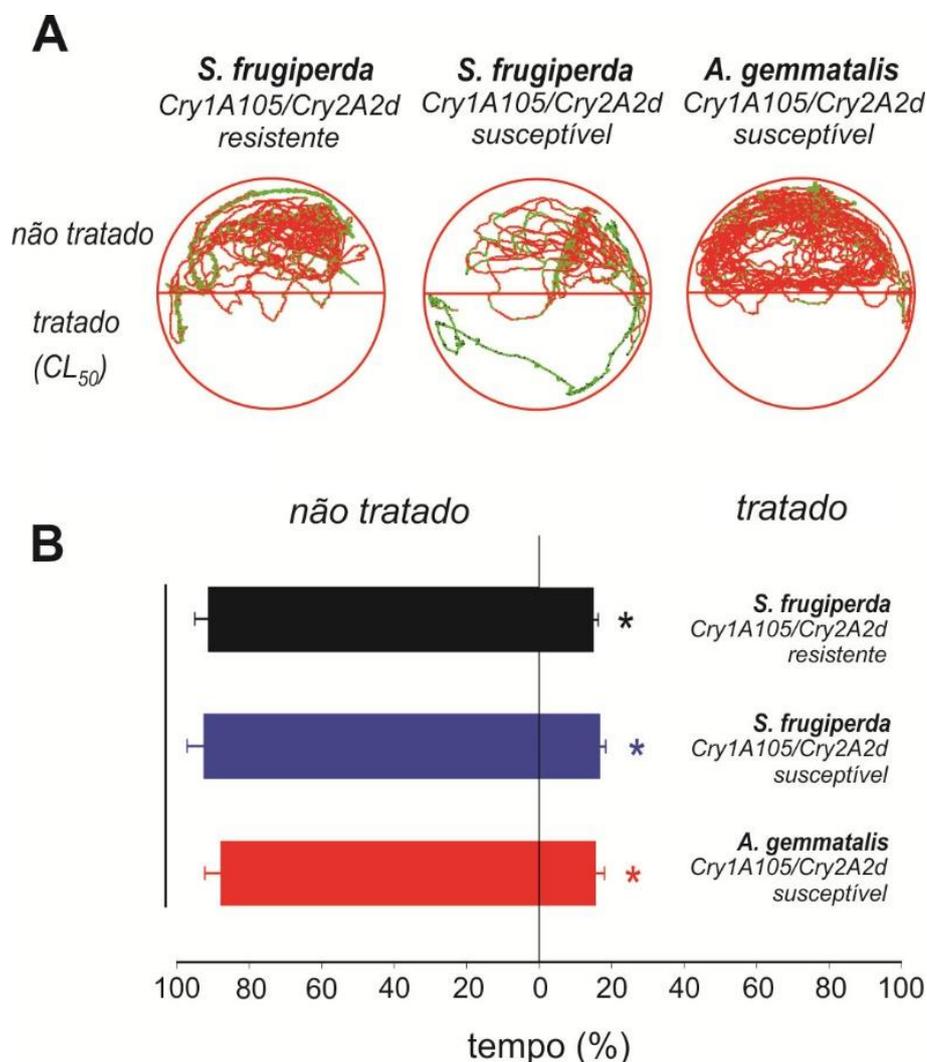


Figura 6. (A) Mapas com rastreamento do comportamento locomotor de *S. frugiperda* (resistentes ou susceptíveis à Bt) e de *A. gemmatalis* (susceptível à Bt). (B) Percentual do tempo de permanência das lagartas em áreas tratadas (CL_{50}) com óleo essencial de *S. guianensis*.

4. DISCUSSÃO

Os resultados da avaliação em grupo, através do contato de larvas de *S. frugiperda* (susceptível e resistente a toxinas Bt) e *A. gemmatalis* (susceptível a toxinas Bt) à superfície tratada com óleo essencial de *S. guianensis* (CL₁₀ e CL₅₀) apresentaram diferenças significativas no comportamento de caminhamento percorrido na arena, quando comparado aos controles. Todas as populações tiveram uma redução drástica no deslocamento quando expostas a CL₁₀ e CL₅₀ do óleo essencial de *S. guianensis*. No contexto geral, os padrões de caminhamento destas populações demonstram que o óleo essencial de *S. guianensis* afeta diretamente o comportamento locomotor das populações, não havendo diferenças entre os estádios larvais. Outro ponto importante está relacionado com a exposição à CL₁₀, onde as larvas expostas à essa concentração apresentam efeitos em seu padrão de caminhamento ao longo do tempo de exposição. Independente do estágio larval e da população, observou-se redução na atividade de caminhamento após 16 horas de exposição.

Neste contexto, os padrões de caminhamento observado entre as populações de *S. frugiperda* e *A. gemmatalis* pode estar relacionado à produção de compostos intermediários, capazes de influenciar no comportamento do inseto conforme relatado por GUEDES (2009), avaliando padrões comportamentais de populações de *Sitophilus zeamais* (Coleoptera: Curculinoidea). Dessa forma, pode-se inferir que as diferenças comportamentais das populações analisadas podem estar associadas com diferenças de metabolismo, associado à produção de compostos intermediários capazes de influenciar os padrões comportamentais.

Entre as populações *S. frugiperda* (susceptível e resistente a toxinas Bt) e *A. gemmatalis* não houve diferenças significativas em relação a distância percorrida na arena. Isto pode estar relacionado com alta taxa de absorção do óleo essencial de *S. guianensis* pela cutícula dos insetos expostos, devido às suas características lipofílicas. Conforme descrito na literatura, correlaciona-se que a maior penetração de composto na cutícula está associado com as características lipofílicas do composto, bem como espessura e composição lipídica da cutícula do inseto (BACCI et al., 2006). Além disso, observa-se que além das características lipofílicas do óleo essencial de *S. guianensis*, os compostos derivados de plantas apresentam uma alta volatilidade, favorecendo o maior contato e absorção pelos insetos quando expostos em contato ao óleo, elevando a exposição dos insetos aos compostos do óleo essencial, de forma a favorecer a ligação aos receptores em Lepidopteras.

Nos bioensaios comportamentais com arena dividida em área tratada e não tratada, foi observada redução no tempo de permanência dos insetos na área tratada com óleo essencial de *S. guianensis* (20% do tempo) em relação a área não tratada (80% do tempo) para estádio larval de 4^o instar de *S. frugiperda* (susceptível e resistente a toxinas de Bt) e *A. gemmatalis* (susceptível). De modo geral, observa-se que os padrões sensoriais das populações *S. frugiperda* e *A. gemmatalis* foram semelhantes e promoveram mudanças comportamentais, principalmente em relação a velocidade percorrida na arena (cm/s) para população de *S. frugiperda* resistente às toxinas de Bt. De maneira geral, a literatura relata que todo comportamento tem uma base fisiológica, sendo uma manifestação física das características fisiológicas dos organismos, podendo existir um único mecanismo fisiológico ou comportamental (LOOCKWOOD 1984, apud CORRÊA 2009). Sendo assim, as populações de *S. frugiperda* e *A. gemmatalis* diferem do comportamento apresentado pela população de *Rhyzoperta dominica* (Fabricius) (Coleoptera: Bostrichidae) resistente a deltametrina, a qual apresentou redução da velocidade na área tratada com este inseticida.

No contexto geral, ambas as populações de *S. frugiperda* e *A. gemmatalis*, que são os principais insetos-praga de importância econômica para cultura do milho e soja no Brasil, foram altamente susceptíveis ao óleo essencial de *S. guianensis*, influenciando diretamente no comportamento dos insetos quando exposto ao óleo essencial. Destaca-se os resultados obtidos para a população *S. frugiperda* resistente às toxinas Bt, a qual respondeu à pressão seletiva com milho Cry1F após seis gerações (SANTOS-AMAYA et al., 2015); e nos ensaios de comportamento com óleo essencial de *S. guianensis* demonstrou grande susceptibilidade e alterações em seu padrão comportamental. Desta forma, observa-se que o óleo essencial de *S. guianensis* pode ser um forte candidato para prospecção de produtos bioativos para *S. frugiperda* e *A. gemmatalis* ou para ser empregado como adjuvante em formulações comerciais.

5. CONCLUSÕES

Os resultados permitem as seguintes conclusões:

1. A atividade geral de grupo dos insetos de *A. gemmatalis* e *S. frugiperda* foi drasticamente influenciada pelos tratamentos contendo óleo essencial de *S. guianensis*, para os estádios larvais de 2, 3, 4 e 5 instar.
2. O óleo essencial de *S. guianensis* exerceu forte influência sobre os padrões de caminhamento entre as populações de *S. frugiperda* e *A. gemmatalis*, sendo muito eficaz no controle das larvas de *A. gemmatalis* e *S. frugiperda*.
3. Nos bioensaios comportamentais, o efeito do óleo essencial de *S. guianensis* reduziu drasticamente o tempo de permanência das larvas de todas as populações em arenas tratadas com o óleo, observando efeito repelente do óleo de *S. guianensis* aos insetos, de maneira que os insetos de todas as populações evitaram as áreas tratadas.

6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AGUIAR, R.W.S.; OOTANI, M.A.; ASCENCIO, S.D.; FERREIRA, T.P.S.; SANTOS, M.M. e outros. Fumigant Antifungal Activity of *Corymbia citriodora* and *Cymbopogon nardus* Essential Oils and Citronellal against Three Fungal Species. **Scientific World Journal**, ID492138, p. 1–8, 2014.

ANDRADE; M.A.; CARDOSO, M.G.; ANDRADE, J.; SILVA, L.F.; TEIXEIRA, M.L. Chemical Composition and Antioxidant Activity of Essential Oils from *Cinnamodendron dinisii* Schwacke and *Siparuna guianensis* Aublet. **Antioxidants**, v. 2, p. 384–397. 2013.

BACCI, L.; PEREIRA E.J.G.; FERNANDES, F.L., PICANÇO, M.C.; CRESPO, A.L.B.; CAMPOS, M.R. Seletividade fisiológica de inseticidas a vespas predadoras (Hymenoptera: Vespidae) de *Leucoptera coffeella* (Lepidoptera: Lyonetiidae). **BioAssay**, v.1, p.1-7, 2006.

CARVALHO, R.A.; OMOTO, C.; FIELD, L.M.; WILLIAMSON, M.S.; BASS, C. Investigating the molecular mechanisms of organophosphate and pyrethroid resistance in the fall armyworm *Spodoptera frugiperda*. **Plos One**, v. 8, p. 1–9. 2013.

CORRÊA, A.S. Resistência fisiológica e comportamental de populações de *Sitophilus zeamais* à permetrina, esfenvalerato e esfenvalerato + fenitrotona. 2009, 54p. **Dissertação** (Mestrado em Entomologia), Universidade Federal de Viçosa, Minas Gerais, Brasil.

DEQUECH, S.T.B.; CAMERA, C.; STURZA, V.S.; RIBEIRO, L.P.; QUERINO, R.B.; PONCIO, S. Population fluctuation of *Spodoptera frugiperda* eggs and natural parasitism by *Trichogramma* in maize. **Acta Scientiarum Agronomy**, v. 35, p. 295–300. 2013.

DINIZ, J.A. *Siparuna guianensis* Aublet como nova fonte de α -bisabolol para o controle de *Rhipicephalus microplus*. 2014, 94p. **Dissertação** (Mestrado em Agroquímica), Universidade Federal de Viçosa, Minas Gerais, Brasil.

FOUAD, H.A., FARONI, L.R.D., TAVARES, W.S., RIBEIRO, R., FREITAS, S.S., ZANUNCIO, J.C. Botanical extracts of plants from the Brazilian Cerrado for the integrated management of *Sitotroga cerealella* (Lepidoptera: Gelechiidae) in stored grain. **Journal of Stored Products Research**, v. 57, p. 6–11, 2014.

GEORGHIOU, G.P. The evolution of resistance to pesticides. **Annual Review of Ecology and Systematics**, v. 3, p. 133-168. 1972.

GUEDES, N.M.P.; GUEDES, R.N.C.; FERREIRA, G.H.; SILVA, L.B. Flight take-off and walking behavior of insecticide-susceptible and resistant strains of *Sitophilus zeamais* exposed to deltamethrin. **Agricultural and Forest Entomology**, 2009.

GUERRERO, A.; EDI, A.; MALO, J.; COLL, C.; QUERO, A. Semiochemical and natural product-based approaches to control *Spodoptera* spp. (Lepidoptera: Noctuidae). **Journal of Pest Science**, v. 87, p. 231–247. 2014.

HOY, C.W.; HEAD, G.P.; HALL, F.R. Spatial heterogeneity and insect adaptation to toxins. **Annual Review of Entomology**, v. 33, p.149-168, 1988.

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

JINDAL, V.; DHALIWAL, G.S.; KOUL, O. Pest management in 21st century: roadmap for future. **Biopesticides International**, v. 9, p. 1–22. 2013.

LIMA, M.P., J.V. OLIVEIRA & E.J. MARQUES. Manejo da lagarta-do-cartucho em milho com formulações de nim e *Bacillus thuringiensis* subsp. *Aizawai*. **Ciência Rural**, v. 39, p. 1227-1230, 2009.

LOCKWOOD, J. A.; SPARKS, T. C.; STORY, R. N. Evolution of insect resistance to insecticides: a reevaluation of the roles of physiology and behavior. **Bulletin of the Entomological Society of America**, v. 30, p. 41-51. 1984.

MATOS NETO, F.C.; I. CRUZ, J.C. ZANUNCIO; C.H.O. SILVA & M.C. PICANÇO. Parasitism by *Campoletis flavicincta* on *Spodoptera frugiperda* in corn. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 39, p. 1077- 1081, 2004.

OLIVEIRA, M.S.S.; ROEL, A.R.; ARRUDA, E.J. & MARQUES, A.S. Efficiency of extracts of plants in control of fall armyworm in corn *Spodoptera frugiperda* (J. E. Smith, 1797) (Lepidoptera: Noctuidae). **Ciência e Agrotecnologia**, v. 31, p. 326-331, 2006.

PINHEIRO, J.N.; FREITAS, B.M. Efeitos letais dos pesticidas agrícolas sobre polinizadores e perspectivas de manejo para os agroecossistemas brasileiros. **Oecologia Australis**, v. 14, p. 266-281, 2010.

RENNER, S.S.; HAUSNER, G. Monograph of Siparunaceae: Flora Neotropica 95. New York: **New York Botanical Garden**, 2005. 256p.

SANTOS-AMAYA, O.F.; RODRIGUES, J.V.C.; SOUZA, T.C.; TAVARES C.S.; CAMPOS, S.O. ; GUEDES, R.N.C.; PEREIRA, E.J.G. Resistance to dual-gene Bt maize in *Spodoptera frugiperda*: selection, inheritance, and cross-resistance to other transgenic events. **Scientific Reports** | 5:18243 | DOI: 10.1038/srep18243, 2015.

SILVA, A.B.; E.B. BESERRA & J.P. DANTAS. Utilização de *Metarhizium anisopliae* e extratos vegetais para o controle de *Spodoptera frugiperda* e *Helicoverpa zea* (Lepdoptera: Noctuidae) em milho. **Engenharia Ambiental**, v. 5, p. 77-85, 2008.

SILVA-FILHO, R.; SANTOS, R.H.S.; TAVARES, W.S.; LEITE, G.L.D.; WILCKEN, C.F.; SERRÃO, J.E.; ZANUNCIO, J.C. Rice–straw mulch reduces the green peach aphid,

Myzuspersicae (Hemiptera: Aphididae) populations on Kale, *Brassica oleracea* var. *acephala* (Brassicaceae) plants. **PLoS One** 9, e4174. 2014.

YAZDANI, E.; SENDI, J.J.; ALIAKBAR, A.; SENTHIL-NATHAN, S. **Pesticide Biochemistry and Physiology**, v. 107, p. 250–257, 2013.