



**UNIVERSIDADE FEDERAL DO TOCANTINS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BIODIVERSIDADE
E BIOTECNOLOGIA DA REDE BIONORTE**



**MANEJO INTEGRADO DO ENFEZAMENTO DO MILHO POR MEIO
DE ÓLEOS ESSENCIAIS E SEUS EFEITOS NA BIOLOGIA DE
*Dalbulus maidis***

BRUNA LETICIA DIAS

**GURUPI – TO
2024**

BRUNA LETICIA DIAS

**MANEJO INTEGRADO DO ENFEZAMENTO DO MILHO POR MEIO
DE ÓLEOS ESSENCIAIS E SEUS EFEITOS NA BIOLOGIA DE
*Dalbulus maidis***

Tese de doutorado apresentada ao Curso de Doutorado do Programa de Pós-Graduação em Biodiversidade e Biotecnologia da Rede BIONORTE, na Universidade Federal do Tocantins, como requisito parcial para a obtenção do Título de Doutor em Biodiversidade e Biotecnologia.

Orientador: Prof. Dr. Gil Rodrigues dos Santos

Coorientador: Prof. Dr. Renato de Almeida Sarmento

**GURUPI – TO
SETEMBRO/2024**

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)
Sistema de Bibliotecas da Universidade Federal do Tocantins

D541m Dias, Bruna Leticia.
 MANEJO INTEGRADO DO ENFEZAMENTO DO MILHO POR MEIO DE
 OLEOS ESSENCIAIS E SEUS EFEITOS NA BIOLOGIA DE *Dalbulus maidis*. /
 Bruna Leticia Dias. – Palmas, TO, 2024.
 100 f.

 Tese (Doutorado) - Universidade Federal do Tocantins – Câmpus
 Universitário de Palmas - Curso de Pós-Graduação (Doutorado) em
 Biodiversidade e Biotecnologia, 2024.
 Orientador: Gil Rodrigues dos Santos
 Coorientador: Renato de Almeida Sarmiento

 1. Biotecnologia. 2. Manejo integrado de pragas e doenças. 3. Controle
 alternativo. 4. Nanoformulações. I. Título

CDD 660.6

TODOS OS DIREITOS RESERVADOS – A reprodução total ou parcial, de qualquer
 forma ou por qualquer meio deste documento é autorizado desde que citada a fonte.
 A violação dos direitos do autor (Lei nº 9.610/98) é crime estabelecido pelo artigo 184
 do Código Penal.

**Elaborado pelo sistema de geração automática de ficha catalográfica da
 UFT com os dados fornecidos pelo(a) autor(a).**

BRUNA LETICIA DIAS

**MANEJO INTEGRADO DO ENFEZAMENTO DO MILHO POR MEIO
DE ÓLEOS ESSENCIAIS E SEUS EFEITOS NA BIOLOGIA DE
*Dalbulus maidis***

Tese de doutorado apresentada ao Curso de
Doutorado do Programa de Pós-Graduação em
Biodiversidade e Biotecnologia - Rede BIONORTE,
na Universidade Federal do Tocantins, como
requisito parcial para a obtenção do Título de Doutor
em Biodiversidade e Biotecnologia.

Aprovada em 16/09/2024

Banca examinadora

Documento assinado digitalmente
 **GIL RODRIGUES DOS SANTOS**
Data: 20/10/2024 21:27:41-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Prof. Dr. Gil Rodrigues dos Santos (Orientador)
Universidade Federal do Tocantins

Documento assinado digitalmente
 **LUCAS SAMUEL SOARES DOS SANTOS**
Data: 18/10/2024 15:47:58-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Prof. Dr. Lucas Samuel Soares dos Santos
Universidade Federal do Tocantins

Documento assinado digitalmente
 **LUIS OSWALDO VITERI JUMBO**
Data: 17/10/2024 17:25:55-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Prof. Dr. Luis Oswaldo Viteri Jumbo
Universidade Federal do Tocantins

Documento assinado digitalmente
 **DALMARCIA DE SOUZA CARLOS MOURAO**
Data: 17/10/2024 16:13:55-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Dra. Dalmarcia de Souza Carlos Mourão
Universidade Federal do Tocantins

Documento assinado digitalmente
 **RENATO DE ALMEIDA SARMENTO**
Data: 20/10/2024 07:31:42-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Prof. Dr. Renato de Almeida Sarmento
Universidade Federal do Tocantins

TERMO DE AUTORIZAÇÃO PARA PUBLICAÇÃO

Eu, Bruna Leticia Dias, (x) autorizo () não autorizo a publicação da versão final aprovada de minha Tese de Doutorado intitulada “Manejo integrado do enfezamento do milho por meio de óleos essenciais e seus efeitos na biologia de *Dalbulus maidis*” no Portal do Programa de Pós-Graduação em Biodiversidade e Biotecnologia – Rede BIONORTE (PPG-BIONORTE), bem como no repositório de Teses da CAPES ou junto à biblioteca da Instituição Certificadora.

Gurupi, 16 de Outubro de 2024

 Documento assinado digitalmente
BRUNA LETICIA DIAS
Data: 17/10/2024 15:58:26-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Bruna Leticia Dias

CPF: 059.820.431-84

RG: 1.221.605

AGRADECIMENTOS

A Deus, agradeço pela vida, saúde, paz e força para superar desafios e conhecer pessoas indispensáveis na minha jornada.

À minha pequena Marina, que chegou ao mundo durante este desafio profissional. Sua presença, desde a gravidez, trouxe um novo significado à minha jornada. Nos dias mais difíceis, você é meu alento. Você é a força que me impulsiona a ser melhor a cada dia. Ao meu amor, Mateus, agradeço por estar sempre ao meu lado, pela confiança depositada em mim e pelo carinho incondicional. Você torna cada momento em família um refúgio seguro e acolhedor. Obrigada por serem minha inspiração constante.

Aos meus pais, Mosair e Adelaide, e ao meu irmão, Paulo Victor, e comadre, Nathane, agradeço por serem a minha base, por estarem sempre presentes e por compartilharem comigo o amor em sua forma mais pura. Juntos, vivenciamos cada esforço dedicado às conquistas em nossas vidas e saber que posso contar com vocês me proporciona uma força inigualável.

À minha família e amigos, que sempre estão ao meu lado, agradeço o carinho e apoio constante. Em especial, às tias Thay e Dal, que nunca medem esforços, amor e carinho e se dedicam a cuidar de nossa família. Aos meus sogros, Celso e Neura, compadres e Livia agradeço por me acolherem e por torcerem pelo meu sucesso.

Aos pesquisadores e amigos dos laboratórios, agradeço pela dedicação, parceria e troca de conhecimentos. Em especial, agradeço a Dalmarcia, Taíla, Paulo, Ângela, Juliana, Dheime, João, Rosi, Vitória, Manuel e Osmany. Minhas amigas Raquel, Mirelle e Naira que sempre estiveram ao meu lado e sempre torceram por cada passo acertado.

Aos professores Gil, Lucas, Luis, Renato, agradeço pelos ensinamentos, orientações e paciência. A todos os professores e colegas que têm contribuído para minha formação profissional e amadurecimento pessoal, minha gratidão.

E aos membros da banca, agradeço a dedicação e disponibilidade.

Agradeço também à fonte de financiamento desta pesquisa, CNPq (Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico, Brasil). Apoio à formação de doutores em áreas estratégicas, processo: 142523/2020-8. Formação de recursos humanos em produção vegetal e Biotecnologia e Biodiversidade na Amazônia (BIONORTE), projeto: 400859/2019-0; e Universidade Federal do Tocantins (UFT).

DIAS, Bruna Leticia. **Manejo integrado do enfezamento do milho por meio de óleos essenciais e seus efeitos na biologia de *Dalbulus maidis***. 2024. 105 f. Tese (Doutorado em Biodiversidade e Biotecnologia) - Universidade Federal do Tocantins, Gurupi, TO- Brasil, 2024.

RESUMO

Garantir alta produtividade, controle fitossanitário e segurança alimentar em grandes cultivos é um desafio, principalmente devido à resistência das pragas aos pesticidas convencionais e ao impacto ambiental desses produtos. O potencial dos compostos vegetais no controle alternativo tem sido amplamente pesquisado. Este trabalho teve por objetivo avaliar a utilização do óleo essencial de *Morinda citrifolia* L. (noni) puro e em nanoformulações, para o controle da cigarrinha do milho, *Dalbulus maidis* e da Mancha de Curvularia, doenças consideradas emergentes na cultura do milho. Métodos *in silico* foram utilizados para investigar os modos de ação do principal componente do óleo essencial contra os patógenos. Foram investigados os efeitos dos produtos na aplicação foliar em plantas de milho, analisando a indução de resistência por meio das atividades enzimáticas, quantificação de fitoalexinas, fitotoxicidade e produtividade em campo. Também foram avaliados efeitos tóxicos e repelência sobre o *D. maidis* em condições controladas e em campo, além do controle da doença e crescimento micelial de *Curvularia lunata*. As caracterizações químicas dos compostos naturais e produtos formulados incluíram análise cromatográfica, UV-Vis, TGA e DSC, FTIR e MET para nanopartículas. O ácido octanóico, que constitui 58% do óleo essencial, promoveu o controle da mancha de *Curvularia* sem efeitos fitotóxicos. Interações estáveis entre ácido octanóico a tirosina tRNA-ligase de *C. lunata* e *D. maidis* sugerem o comprometimento da síntese de proteínas. Plantas tratadas com ácido octanóico e *M. citrifolia* apresentaram indução de fitoalexinas, aumento da defesa por ação das enzimas antioxidantes, quitinase e no controle de Mancha de Curvularia. O óleo essencial inibiu 51% do crescimento micelial, e esse efeito foi aumentado para 75% com a adição de adjuvantes (por exemplo, goma angico). O óleo essencial reduziu 76% da população de adultos de *D. maidis* e repeliu 50% do número de *D. maidis* após 48 h em condições de campo. Análises termogravimétricas indicaram perda de massa nos componentes, sugerindo um controle alternativo de rápida manipulação. Os resultados do UV-Vis mostraram que estabilidade das nanopartículas reduzidas pela goma angico foi notável, mesmo considerando que é um agente não padronizado. A mistura com óleo e surfactante manteve a ação biocida, mas acelerou a degradação das nanopartículas esféricas de 13 nm. Este estudo abre novas possibilidades para o controle biorracional de pragas, doenças,

além de atuar como indutor de resistência, com implicações significativas para sistemas de agricultura sustentável.

Palavras-chave: Ativadores de resistência; Controle alternativo; Complexo de enfezamentos; Docking molecular; Mancha de *Curvularia*; *Morinda citrifolia*.

DIAS, Bruna Leticia. **Integrated corn stunt management using essential oils and their effects on the *Dalbulus maidis* biology.** 2024. 105 p. Thesis (PhD in Biodiversity and Biotechnology) – Federal University of Tocantins, Gurupi, TO- Brazil, 2024.

ABSTRACT

Ensuring high productivity, phytosanitary control, and food safety in large crops is a challenge, mainly due to pest resistance to conventional pesticides and the environmental impact of these products. The potential of plant compounds in alternative control has been widely researched. This study aimed to evaluate the use of *Morinda citrifolia* L. (noni) essential oil, pure and in nanoformulations, for the control of corn leafhopper, *Dalbulus maidis*, and Curvularia leaf spot, diseases considered emerging in corn crops. *In silico* methods were used to investigate the modes of action of the main component of the essential oil against pathogens. The effects of the products in foliar application on corn plants were investigated, and the induction of resistance through enzymatic activities, quantification of phytoalexins, phytotoxicity, and productivity in the field were analyzed. Toxic effects and repellency on *D. maidis* were also evaluated under controlled and field conditions, in addition to disease control and mycelial growth of *Curvularia lunata*. Chemical characterizations of the natural compounds and formulated products included chromatographic analysis, UV-Vis, TGA and DSC, FTIR, and TEM for nanoparticles. Octanoic acid, which constitutes 58% of the essential oil, promoted control of Curvularia leaf spot without phytotoxic effects. Stable interactions between octanoic acid and tyrosine-tRNA ligases of *C. lunata* and *D. maidis* suggest impairment of protein synthesis. Plants treated with octanoic acid and *M. citrifolia* showed induction of phytoalexins, increased defense by the action of antioxidant enzymes, chitinase, and control of Curvularia leaf spot. The essential oil inhibited 51% of mycelial growth, and this effect was increased to 75% by adding adjuvants (e.g., angico gum). The essential oil reduced 76% of the adult population of *D. maidis* and repelled 50% of the number of *D. maidis* after 48 h under field conditions. Thermogravimetric and UV-Vis analyses indicated a mass loss in the components, suggesting an alternative control of rapid manipulation. The stability of the nanoparticles reduced by angico gum was remarkable, even considering that it is a non-standardized agent. The mixture with oil and surfactant maintained the biocidal action but accelerated the degradation of the 13 nm spherical nanoparticles. This study opens new possibilities for the biorational control of pests and diseases, in addition to acting as an inducer of resistance, with significant implications for sustainable agriculture systems.

Keywords: Alternative control; *Curvularia* leaf spot; Molecular docking; *Morinda citrifolia*; Resistance activator; Stunting complex.

LISTA DE FIGURAS E TABELAS

CAPÍTULO 1

Tabela 1 – Cromatografia acoplada a espectrometria de massa (CG-MS).	15
Figura 1 – Toxicidade do óleo essencial de <i>Morinda citrifolia</i> em plantas de milho.	16
Figura 2 – Indução de fitoalexinas por meio dos componentes de <i>Morinda citrifolia</i> .	16
Figura 3 – Toxicidade do óleo essencial de <i>Morinda citrifolia</i> sobre <i>Dalbulus maidis</i> .	17

CAPÍTULO 2

Tabela 1 – Componentes do óleo essencial de <i>Morinda citrifolia</i>	32
Figura 1 – Atividades enzimáticas em plantas de milho	34
Figura 2 – Fitotoxicidade de <i>Morinda citrifolia</i> e <i>Anadenanthera colubrina</i> em plantas de milho	35
Figura 3 – Docking molecular ácido octanóico com tirosina tRNA ligase de <i>Curvularia lunata</i>	36
Figura 4 – Área abaixo da curva de progresso da doença Mancha de curvularia	37
Tabela 2 – Velocidade de crescimento micelial de <i>Curvularia lunata</i>	37
Figura 5 – Crescimento micelial de <i>Curvularia lunata</i>	38
Figura 6 – Mortalidade do inseto vetor <i>Dalbulus maidis</i>	39
Figura 7 – Repelência em adultos de <i>Dalbulus maidis</i> em diferentes estágios vegetativos	39

CAPÍTULO 3

Figura 1 – Esquema da formulação dos produtos	51
Figura 2 – Análise de Termogravimetria e Calorimetria diferencial exploratória	58
Figura 3 – Espectroscopia de infravermelho por transformada de Fourier e UV-visível	59
Figura 4 – UV-visível dos bioprodutos	60
Figura 5 – Microscopia eletrônica de transmissão das nanopartículas de prata	61
Tabela 1 – Modelo alvo selecionado para o docking molecular	61
Figura 6 - Docking molecular ácido octanóico com tirosina tRNA ligase de <i>Dalbulis maidis</i>	62
Tabela 2 – Análise estatística mortalidade de <i>Dalbulus maidis</i>	63
Figura 7 – Toxicidade dos produtos sobre <i>Dalbulus maidis</i>	64
Tabela 3 – Análise estatística da repelência sobre <i>Dalbulus maidis</i>	65

Figura 8 – Repelência dos produtos sobre ninfas de <i>D. maidis</i>	65
Figura 9 – Fitotoxicidade dos produtos em plantas de milho	66
Figura 10 – Produtividade em plantas tratadas com os produtos	67

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

AACPD	Área abaixo da curva de progresso da doença
AgNO₃	Nitrato de prata
AgNP	Nanopartícula de prata
APX	Ascorbato peroxidase
CAT	Catalase
CG-EM	Cromatografia gasosa- espectrometria de massa
DSC	Calorimetria diferencial exploratória
EDTA	Ácido etilenodiamino tetra-acético
FTIR	Espectroscopia de infravermelho por transformada de fourier
IUPAC	União Internacional de Química Pura e Aplicada
MET	Microscopia eletrônica de transmissão
NBT	Nitroblue tetrazolium
POX	Peroxidase de fenóis
QUIT	Quitinase
RMSD	Distância média quádrlica mínima
SOD	Superóxido dismutase
TGA	Análise termogravimétrica
UV-Vis	Espectroscopia no ultravioleta visível
VCM	Velocidade de crescimento micelial

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO GERAL	1
2. OBJETIVOS	4
2.1 OBJETIVO GERAL	4
2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS	4
3. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	5
3.1 MILHO	5
3.2 PRAGAS E DOENÇAS	5
3.3 TÉCNICAS DE CONTROLE E MANEJO FITOSSANITÁRIO	6
3.4 USO DE BIORRACIONAIS	8
3.5 NANOTECNOLOGIA	9
CAPÍTULO 1	10
1. INTRODUÇÃO	11
2. MATERIAIS E MÉTODOS	12
2.1 HIDRODESTILAÇÃO E PREPARO DAS AMOSTRAS	12
2.2 CROMATOGRAFIA GASOSA-ESPECTROMETRIA DE MASSA (CG-EM)	12
2.3 FITOTOXICIDADE DO ÓLEO ESSENCIAL DE <i>M. citrifolia</i>	12
2.4 EFEITO DOS COMPOSTOS NA INDUÇÃO DE FITOALEXINAS	13
2.5 TOXICIDADE DE <i>M. citrifolia</i> EM <i>D. maidis</i>	13
2.6 ANÁLISE ESTATÍSTICA	14
3. RESULTADOS	15
4. DISCUSSÃO	18
5. CONCLUSÃO	21
CAPÍTULO 2	22
1. INTRODUÇÃO	23
2. MATERIAIS E MÉTODOS	25
2.1 OBTENÇÃO DO ÓLEO ESSENCIAL DE <i>Morinda citrifolia</i>	25
2.2 CROMATOGRAFIA GASOSA-ESPECTROMETRIA DE MASSA (CG-EM) ..	25
2.3 PURIFICAÇÃO DA GOMA DE ANGICO	25
2.4 FITOTOXICIDADE DE <i>M. citrifolia</i> E <i>A. colubrina</i> EM MILHO	26
2.5 EFEITOS BIOQUÍMICOS EM PLANTAS DE MILHO	26
2.6 DOCKING MOLECULAR	27
2.6.1 Ligantes	27
2.6.2 Modelagem de alvos	28
2.6.3 Cálculos do docking molecular	28
2.6.4 Simulação dinâmica molecular	28
2.7 CONTROLE PREVENTIVO DA MANCHA DE CURVULARIA	29
2.8 INIBIÇÃO DO CRESCIMENTO MICELIAL <i>Curvularia lunata</i>	29
2.9 EFEITO DO ÓLEO ESSENCIAL E DA GOMA EM <i>Dalbulus maidis</i>	30
2.9.1 Toxicidade	30
2.9.2 Repelência em campo	31
2.10 ANÁLISE ESTATÍSTICA	31
3. RESULTADOS	32
3.1 CROMATOGRAFIA DO ÓLEO ESSENCIAL DE <i>Morinda citrifolia</i>	32
3.2 EFEITOS BIOQUÍMICOS	32
3.3 FITOTOXICIDADE DE <i>M. citrifolia</i> E <i>A. colubrina</i> EM MILHO	34
3.4 DOCKING MOLECULAR	35
3.4.1 Interações dos componentes de <i>M. citrifolia</i> e enzima fúngica	35
3.4.2 Simulação da dinâmica molecular	36
3.5 CONTROLE DE MANCHA DE CURVULARIA	36
3.6 EFEITO DO ÓLEO ESSENCIAL E GOMA NO CRESCIMENTO MICELIAL ..	37

3.7. MEDIDAS PREVENTIVAS	38
3.7.1. Toxicidade do vetor <i>Dalbulus maidis</i> em campo	38
3.7.2. Repelência em campo	39
4. DISCUSSÃO	40
5. CONCLUSÃO	45
CAPÍTULO 3	46
1. INTRODUÇÃO	47
2. MATERIAIS E MÉTODOS	49
2.1 OBTENÇÃO DOS MATERIAIS VEGETAIS	49
2.1.1 Óleo essencial de <i>M. citrifolia</i>	49
2.1.2 Goma de <i>A. colubrina</i>	49
2.2 FORMULAÇÃO DOS PRODUTOS	49
2.2.1 Mistura de noni	49
2.2.2 Nanopartícula	50
2.2.3 Mistura nanopartícula-noni	50
2.3. CARACTERIZAÇÃO DOS PRODUTOS	51
2.3.1 TGA e DSC	51
2.3.2 FTIR	52
2.3.3 UV-Visível	52
2.3.4 MET	52
2.4 DOCKING MOLECULAR	53
2.4.1 Ligantes e modelagem de alvos	53
2.4.2 Cálculos do docking molecular	53
2.5 TOXICIDADE DOS BIOPRODUTOS EM <i>Dalbulus maidis</i>	54
2.6 FITOTOXICIDADE EM MILHO	54
2.7 EFEITOS DOS BIOPRODUTOS EM CAMPO	55
2.7.1 Repelência em ninfas	55
2.7.2 Produtividade	56
3. RESULTADOS	57
3.1 CARACTERIZAÇÃO DOS PRODUTOS	57
3.1.1 Análise Termogravimétrica e Calorimetria Diferencial Exploratória	57
3.1.2. FTIR e UV-Vis de <i>Anadenanthera colubrina</i>	58
3.1.3 Estabilidade dos sistemas	59
3.1.4. Microscopia eletrônica de transmissão de nanopartículas de prata	60
3.2. DOCKING MOLECULAR	61
3.3. TOXICIDADE SOBRE <i>Dalbulus maidis</i>	62
3.4. REPELÊNCIA SOBRE NINFAS DE <i>Dalbulus maidis</i>	64
3.5. FITOTOXICIDADE DOS BIOPRODUTOS EM PLANTAS DE MILHO	65
3.6. EFEITO DOS BIOPRODUTOS SOBRE A PRODUTIVIDADE	66
4. DISCUSSÃO	68
5. CONCLUSÃO	72
4. DISCUSSÃO INTEGRADORA	73
5. CONCLUSÕES	75
REFERÊNCIAS	76
ANEXOS	90