

BRUNO PANDELÓ BRÜGGER

**BIOATIVIDADE DO ÓLEO ESSENCIAL DE *Cymbopogon citratus*
(Poaceae) E SEUS CONSTITUINTES EM LAGARTAS DE *Anticarsia
gemmatalis* (Lepidoptera: Noctuidae) E NO PREDADOR *Podisus nigrispinus*
(Heteroptera: Pentatomidae)**

Tese apresentada à Universidade Federal de Viçosa, como parte das exigências do programa de Pós-Graduação em Entomologia, para obtenção do título de *Doctor Scientiae*.

VIÇOSA
MINAS GERAIS-BRASIL
2018

Ficha catalográfica preparada pela Biblioteca Central da Universidade
Federal de Viçosa - Câmpus Viçosa

T

B891b
2018

Brügger, Bruno Pandeló, 1984-
Bioatividade do óleo essencial de *Cymbopogon citratus*
(Poaceae) e seus constituintes em lagartas de *Anticarsia*
gemmatalis (Lepidoptera: Noctuidae) e no predador *Podisus*
nigrispinus (Heteroptera: Pentatomidae) / Bruno Pandeló
Brügger. – Viçosa, MG, 2018.
vi, 65 f. : il. (algumas color.) ; 29 cm.

Orientador: José Cola Zanuncio.
Tese (doutorado) - Universidade Federal de Viçosa.
Inclui bibliografia.

1. Pragas agrícolas - Controle biológico. 2. Inseticidas.
3. Soja - Doenças e pragas - Controle biológico. I. Universidade
Federal de Viçosa. Departamento de Entomologia. Programa de
Pós-Graduação em Entomologia. II. Título.

CDD 22. ed. 632.96

BRUNO PANDELÓ BRÜGGER

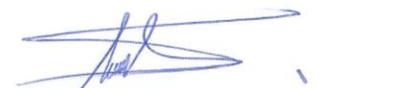
**BIOATIVIDADE DO ÓLEO ESSENCIAL DE *Cymbopogon citratus*
(Poaceae) E SEUS CONSTITUINTES EM LAGARTAS DE *Anticarsia
gemmatilis* (Lepidoptera: Noctuidae) E NO PREDADOR *Podisus nigrispinus*
(Heteroptera: Pentatomidae)**

Tese apresentada à Universidade Federal de Viçosa, como parte das exigências do programa de Pós-Graduação em Entomologia para obtenção do título de *Doctor Scientiae*.

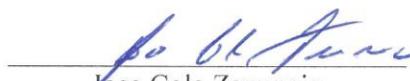
APROVADA: 28 de fevereiro de 2018.


Rosa Angelica Plata Rueda


Luis Carlos Martinez Castrillon


Ricardo Alcántara-de la Cruz


Pedro Guilherme Lemes Alves


Jose Cola Zanuncio
(Orientador)

AGRADECIMENTOS

A Deus pelo dom da vida.

Aos meus pais, Márcio e Gilda, pela dedicação, carinho, exemplo e confiança, pois sem eles este sonho não seria possível.

Aos meus irmãos Aline e Rodolfo, pelo companheirismo e amizade durante minha caminhada.

A minha noiva Laila, pelo apoio e momentos felizes proporcionados durante o doutorado.

Ao professor e orientador Dr. José Cola Zanuncio pela atenção, paciência, incentivo e confiança, acreditando no meu esforço e trabalho.

Aos professores do programa de Pós-Graduação em Entomologia, que contribuíram para meu crescimento acadêmico, profissional e pessoal.

Aos colegas do laboratório, especialmente Rosa Angelica Plata Rueda e Luis Carlos Martínez pelos ensinamentos, convivência, troca de experiências e momentos de diversão.

Ao laboratório de controle biológico juntamente com a Universidade Federal de Viçosa por proporcionar toda a estrutura para realização da pesquisa.

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) pelo apoio financeiro.

Aos membros da banca por aceitarem o convite.

Com Grande honra e satisfação, que termino o doutorado em entomologia pela Universidade Federal de Viçosa, permitindo maior preparo profissional.

RESUMO

BRÜGGER, Bruno Pandeló, D.Sc., Universidade Federal de Viçosa, fevereiro de 2018. **Bioatividade do óleo essencial de *Cymbopogon citratus* (Poaceae) e seus constituintes em lagartas de *Anticarsia gemmatalis* (Lepidoptera: Noctuidae) e no predador *Podisus nigrispinus* (Heteroptera: Pentatomidae).** Orientador: Jose Cola Zanuncio.

Anticarsia gemmatalis Hübner (Lepidoptera: Noctuidae) é o principal desfolhador da soja, causando prejuízos na produção. O controle químico é a principal estratégia de controle desta praga, podendo afetar os inimigos naturais, o controle biológico é uma alternativa, reduzindo os impactos negativos nos inimigos naturais. *Podisus nigrispinus* (Dallas) (Heteroptera: Pentatomidae), inimigo natural é utilizado em programas de controle biológico. Os óleos essenciais podem substituir os produtos químicos causando menor impacto ambiental e, facilitando a transição da agricultura convencional para a orgânica. O objetivo foi avaliar a atividade inseticida do óleo essencial de capim-limão (*Cymbopogon citratus*) (Poaceae) e seus constituintes contra lagartas de *A. gemmatalis* e o predador *P. nigrispinus*. Foi realizado cromatografia para análise dos constituintes do óleo essencial de capim-limão. Seis concentrações de óleo essencial de capim-limão e de seus constituintes foram aplicados no tórax das lagartas de *A. gemmatalis* e ninfas de *P. nigrispinus*. Avaliou se o comportamento locomotor das lagartas e ninfas com sistema de vídeo rastreado e a taxa respiratória, com os constituintes do óleo essencial nas doses DL₅₀ e DL₉₀, com respirometro. A toxicidade do óleo essencial foi crescente entre os instares de lagartas de *A. gemmatalis* e ninfas de *P. nigrispinus*. Os principais constituintes desse óleo incluem neral (31,5%), citral (26,1%) e acetato de geranila (2,27%). Os ensaios de dose resposta, com os constituintes mostraram ser o acetato de geranila mais tóxico que o citral em *A. gemmatalis* e o inverso para *P. nigrispinus*. As taxas de respiração ($\mu\text{L de CO}_2 \text{ h}^{-1}/\text{inseto}$) de *A. gemmatalis* e *P. nigrispinus* com o acetato de geranila e citral, com doses estimadas para os valores de DL₅₀ e DL₉₀, diferiram. Lagartas e ninfas reduziram a mobilidade após a exposição aos constituintes do óleo em superfícies tratadas apresentando repelência e/ou hiperatividade. Óleos essenciais e seus constituintes são eficientes no controle de pragas, porém os consórcios com a utilização de inimigos naturais devem ser realizados com cautela.

ABSTRACT

BRÜGGER, Bruno Pandeló, D.Sc., Universidade Federal de Viçosa, February, 2018. **Bioactivity of the essential oil of *Cymbopogon citratus* (Poaceae) and its constituents in *Anticarsia gemmatalis* caterpillars (Lepidoptera: Noctuidae) and in the predator *Podisus nigrispinus* (Heteroptera: Pentatomidae).** Advisor: Jose Cola Zanuncio.

Anticarsia gemmatalis Hübner (Lepidoptera: Noctuidae) is a main leaf defoliator of soybean, causing production losses. Chemical control is the main strategy to control these pests, but may affect natural enemies. Biological control has become an alternative, reducing negative impacts on natural enemies. *Podisus nigrispinus* (Dallas) (Heteroptera: Pentatomidae), general natural enemy is used in biological control programs. Essential oils can replace chemicals causing less environmental impact and facilitating the transition from conventional to organic agriculture. The objective was to evaluate the insecticidal activity of lemon grass essential oil (*Cymbopogon citratus*) (Poaceae) and its constituents against *A. gemmatalis* caterpillars and the predator *P. nigrispinus*. Chromatography was performed to analyze the essential constituents of lemongrass. Six concentrations of lemon grass essential oil and its constituents were applied to the thorax of *A. gemmatalis* caterpillars and *P. nigrispinus* nymphs. It was evaluated the locomotor behavior of the nymphal and caterpillars with a video system traced and respiratory rate, with the constituents of the essential oil at doses DL₅₀ and DL₉₀, with respirometer. The toxicity of the essential oil was increasing among instars of *A. gemmatalis* caterpillars and *P. nigrispinus* nymphs. The main constituents of this oil include neral (31.5%), citral (26.1%) and geranyl acetate (2.27%). Dose response assays with the constituents of lemongrass essential oil showed to be geranyl acetate more toxic than citral in *A. gemmatalis* and the inverse for *P. nigrispinus*. The rates of respiration ($\mu\text{L of CO}_2 \text{ h}^{-1} / \text{insect}$) of *A. gemmatalis* and *P. nigrispinus* with geranyl and citral acetate, with estimated doses for LD₅₀ and DL₉₀, differed. Caterpillars and nymphs reduced mobility after exposure to essential oil constituents on treated surfaces exhibiting repellency and / or hyperactivity. Essential oils and their constituents are efficient in pest control, but consortia with the use of natural enemies should be carried out with caution.

SUMARIO

INTRODUÇÃO GERAL	1
REFERÊNCIAS	3
Capitulo 1	8
Bioatividade do óleo essencial de <i>Cymbopogon citratus</i> (Poaceae) e seus constituintes contra lagartas de <i>Anticarsia gemmatalis</i> (Lepidoptera: Noctuidae)	8
RESUMO	9
1 INTRODUÇÃO	10
2 MATERIAL E MÉTODOS	12
2.1 Criação de insetos	12
2.2 Toxicidade do óleo essencial de capim-limão em <i>Anticarsia gemmatalis</i>	13
2.3 Identificação dos constituintes do óleo essencial de capim-limão	13
2.4 Toxicidade dos constituintes comerciais do óleo essencial de capim-limão em <i>A. gemmatalis</i>	14
2.5 Taxa de respiração	15
2.6 Comportamento locomotor.....	16
2.7 Análise estatística	16
3. RESULTADOS	17
3.1 Toxicidade de óleo essencial de capim-limão	17
3.2 Composição do óleo essencial de capim-limão	19
3.3 Toxicidade dos constituintes comerciais de capim-limão.....	21
3.4 Taxa respiratória	21
3.5 Comportamento locomotor.....	22

4. DISCUSSÃO	24
5. REFERÊNCIAS	27
Capítulo 2	37
Bioatividade do óleo essencial de <i>Cymbopogon citratus</i> (Poaceae) e seus constituintes em <i>Podisus nigrispinus</i> (Heteroptera: Pentatomidae)	37
RESUMO	38
1. INTRODUÇÃO	39
2. MATERIAL E MÉTODOS	40
2.1 Criação de insetos	40
2.2 Toxicidade do óleo essencial de capim-limão em <i>Podisus nigrispinus</i>	40
2.3 Identificação dos constituintes do óleo essencial de capim-limão	41
2.4 Toxicidade dos constituintes comerciais do óleo essencial do capim-limão em <i>P. nigrispinus</i>	42
2.5 Taxa de respiração	43
2.6 Análise estatística	43
3. RESULTADOS	44
3.1 Toxicidade de óleo essencial de capim-limão	44
3.2 Composição do óleo essencial de capim-limão	45
3.3 Toxicidade dos constituintes comerciais do capim-limão.....	48
3.4 Taxa respiratória	49
3.5 Comportamento locomotor.....	49
4. DISCUSSÃO	51
5. REFERÊNCIAS	55
CONCLUSÕES GERAIS	65

INTRODUÇÃO GERAL

A lagarta da soja *Anticarsia gemmatalis* Hübner (Lepidoptera: Noctuidae) é o principal desfolhador da soja, *Glycine max* (Fabaceae) no Brasil (Pastori et al. 2012, Panizzi 2013), ocorrendo anualmente durante a fase de desenvolvimento vegetativo da cultura, podendo tornar necessário o uso de inseticidas (Panizzi 2013). Os inseticidas químicos causam impactos ambientais negativos e podem afetar a ação de inimigos naturais (Desneux et al. 2007).

Controle de pragas minimizam o uso de pesticidas químicos, e sua compatibilidade com agentes de controle biológico permitem uma transição sustentável da agricultura convencional a orgânica (Gradish et al. 2011). Alternativas de menor impacto ao ambiente incluem a liberação de inimigos naturais e o uso de bioinseticidas a base de microorganismos, extratos e óleos essenciais botânicos (Tavares et al. 2009, 2010; Pavela 2007, 2011).

Dentre os inimigos naturais, os artrópodes predadores, geralmente paralisam a presa e as devoram ou sugam os fluidos do corpo, alimentando se de ovos, larvas (ou ninfas), pupas e adultos, consumindo várias presas durante seu desenvolvimento (Weseloh & Hare 2009).

Podisus nigrispinus (Heteroptera: Pentatomidae) é um predador de lagartas desfolhadoras de importância agrícola (Saavedra et al. 1997; Zanuncio et al. 2016), ocorrendo durante o cultivo de soja (Bueno et al. 2012), predando lagartas de *A. gemmatalis*, *Spodoptera cosmioides*, *frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae) e ovos de *Euschistus heros* (Heteroptera: Pentatomidae) (Denez et al. 2014), tornando se um agente biológico do agroecossistema de soja (Gontijo et al. 2018).

A utilização de inseticidas botânicos é uma alternativa limpa para o controle de pragas em diferentes ambientes (Isman 2000), sendo mais seguro para o homem e ambiente (Lenardis et al. 2011).

O capim-limão, *Cymbopogon citratus* (DC.) Stapf. (Poaceae), nativo da Índia e do Sri Lanka (Zheng et al. 1993), tem propriedades antifúngicas (Khan & Ahmad 2011), anti-inflamatória (Boukhatem et al. 2014) e antibacteriana (Santin et al. 2009). O óleo essencial dessa planta tem efeitos letais e subletais como dissuasão, repelência e deterrênte, diminuindo a capacidade de procura do hospedeiro (Deletre et al. 2016, Tak & Isman 2016).

Compostos botânicos geralmente contêm mistura de metabolitos secundários e óleos essenciais (Pavela 2007), como monoterpenos, sesquiterpenos e fenilpropanóides (Rubiolo et al. 2010). Difundem-se através da membrana celular facilitando sua penetração e as interações com seu sitio ação (Yegen et al. 1998). Interagem com o sistema nervoso (Enan 2001), favorecem as interações sinérgicas entre seus componentes (Akhtar et al. 2012), inibem o desenvolvimento (Zanuncio et al. 2016) e a oviposição (Isman et al. 2011), causam deterrência alimentar (Akhtar et al. 2012), são repelentes ou atraem outros insetos que favorecerem a defesa, dispersão de pólen e sementes da planta (Azuma & Toyota 2012).

Inseticidas naturais pulverizados sobre plantas ou insetos-praga podem afetar o terceiro nível trófico (Tavares et al. 2009, 2010). Um controle inadequado de pragas reduz a ação dos inimigos naturais (Crampton et al. 2010), os quais devem ser conservados em programas de manejo integrado de pragas (MIP) (Duso et al. 2008). Uma baixa toxicidade dos biopesticidas para os inimigos

naturais é importante (Pereira et al. 2014), pois alguns, como a azadiractina, exibiram efeitos subletais sobre os inimigos naturais, como parasitóide *Telenomus podisi* (Hymenoptera: Scelionidae) (Türchen et al. 2016) e o predador *P. nigripinus* (Zanuncio et al. 2016).

Anticarsia gemmatilis é controlada com inseticidas químicos sintéticos, podendo afetar o predador *P. nigripinus*, tornando o óleo essencial de óleo essencial de capim-limão uma alternativa para o manejo dessa praga em cultivos de soja por pequenos agricultores.

O objetivo foi avaliar a atividade inseticida do óleo essencial de *C. citratus* e seus constituintes contra lagartas de *A. gemmatilis* e seu predador *P. nigripinus*.

REFERÊNCIAS

- Akhtar YL, Pages E, Stevens A, Bradbury R, Camara CAG, Isman MB. (2012). Effect of chemical complexity of essential oils on feeding deterrence in larvae of the cabbage looper. *Physiological Entomology* 37: 81–91.
- Azuma H, Toyota, M. (2012). Floral scent emission and new scent volatiles from *Acorus* (Acoraceae). *Biochemical Systematics and Ecology* 41: 55–61.
- Boukhatem MN, Ferhat MA, Kameli A, Saidi F, Kebir HT. (2014). Lemon grass (*Cymbopogon citratus*) essential oil as a potent anti-inflammatory and antifungal drugs. *Libyan Journal of Medicine* 9: 25431.
- Bueno AF, Sosa-Gómez DR, Corrêa-Ferreira BS, Moscardi F, Bueno RCOF. (2012). Inimigos Naturais das Pragas da Soja. Cap 8: pp. 495–629.
- Crampton LA, Loeb GM, Hoelmer KA, Hoffmann MP. (2010). Effect of insecticide regimens on biological control of the tarnished plant bug,

- Lygus lineolaris*, by *Peristenus* spp. in New York State apple orchards. *Journal of Insect Science* 10: 1–13.
- Deletre E, Chandre F, Barkman B, Menut C, Martin T. (2016). Naturally occurring bioactive compounds from four repellent essential oils against *Bemisia tabaci* whiteflies. *Pest Management Science* 72: 179–189.
- Denez MD, Bueno ADF, Pasini A, Bortolotto OC, Stecca CDS. (2014). Biological parameters of *Podisus nigrispinus* (Hemiptera: Pentatomidae) fed with different soybean insect pests. *Annals of the Entomological Society of America* 107: 967–974.
- Desneux N, Decourtye A, Delpuech JM. (2007). The sublethal effects of pesticides on beneficial arthropods. *Annual Review of Entomology* 52: 81–106.
- Duso C, Malagnini V, Pozzebon A, Castagnoli M, Liguori M, Simoni, S. (2008) Comparative toxicity of botanical and reduced-risk insecticides to Mediterranean populations of *Tetranychus urticae* and *Phytoseiulus persimilis* (Acari: Tetranychidae, Phytoseiidae). *Biological Control* 147: 16–21.
- Enan E. (2001). Insecticidal activity of essential oils: octopaminergic sites of action. *Comparative Biochemistry and Physiology, Part C: Toxicology & Pharmacology* 130: 325–337.
- Gontijo PC, Neto DOA, Oliveira RL, Michaud JP, Carvalho GA. (2018). Non-target impacts of soybean insecticidal seed treatments on the life history and behavior of *Podisus nigrispinus*, a predator of fall armyworm. *Chemosphere* 191: 342–349.

- Gradish AE, Scott-Dupree CD, Shipp L, Harris CR, Ferguson G. (2011). Effect of reduced risk pesticides on greenhouse vegetable arthropod biological control agents. *Pesticide Science* 67: 82–86.
- Isman MB. (2000). Plant essential oils for pest and disease management. *Crop Protection* 19: 603–608.
- Isman MB, Miresmailli S, Machial C. (2011). Commercial opportunities for pesticides based on plant essential oils in agriculture, industry and consumer products. *Phytochemistry Reviews* 10: 197–204.
- Khan MS, Ahmad I. (2011). In vitro antifungal, anti-elastase and anti-keratinase activity of essential oils of *Cinnamomum*-, *Syzygium*-and *Cymbopogon*-species against *Aspergillus fumigatus* and *Trichophyton rubrum*. *Phytomedicine* 19: 48–55.
- Lenardis AE, Morvillo CM, Gil A, Fuente EB. (2011). Arthropod communities related to different mixtures of oil (*Glycine max* L. Merr.) and essential oil (*Artemisia annua* L.) crops. *Industrial Crops and Products* 34: 1340–1347.
- Panizzi AR. (2013). History and contemporary perspectives of the integrated pest management of soybean in Brazil. *Neotropical Entomology* 42: 119–127.
- Pastori PL, Pereira FF, Zanon JC, Oliveira HN, Calado VFR, Silva RO. (2012). Density of females of *Palmistichus elaeisis* Delvare & LaSalle, 1993 (Hymenoptera: Eulophidae) for reproduction in *Anticarsia gemmatalis* Hübner, 1818 (Lepidoptera: Noctuidae) pupae. *Arquivos do Instituto Biológico* 79: 525–532.
- Pavela R. (2007). Possibilities of botanical insecticide exploitation in plant protection. *Pest Technology* 1: 47–52.

- Pavela R. (2011). Insecticidal and repellent activity of selected essential oils against of the pollen beetle, *Meligethes aeneus* (Fabricius) adults. *Industrial Crops and Products* 34: 888–892.
- Pereira RR, Picanço, MC, Santana Júnior PA, Moreira SS, Guedes RNC, Correa AS. (2014). Insecticide toxicity and walking response of three pirate bug predators of the tomato leaf miner *Tuta absoluta*. *Agricultural and Forest Entomology* 16: 293–301.
- Rubiolo P, Gorbini B, Liberto SE, Cordero C, Bicchi C. (2010). Essential oils and volatiles: sample preparation and analysis. A review. *Flavour and Fragrance Journal* 25: 282–290.
- Santin MR, dos Santos AO, Nakamura CV, Dias Filho BP, Ferreira ICP, Ueda-Nakamura T. (2009). In vitro activity of the essential oil of *Cymbopogon citratus* and its major component (citral) on *Leishmania amazonensis*. *Parasitology Research* 105: 1489–1496.
- Tavares WS, Cruz I, Petacci F, Assis Júnior SL, Freitas SS, Zanuncio JC, Serrão JE. (2009). Potential use of Asteraceae extracts to control *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae) and selectivity to their parasitoids *Trichogramma pretiosum* (Hymenoptera: Trichogrammatidae) and *Telenomus remus* (Hymenoptera: Scelionidae). *Industrial Crops and Products* 30: 384–388.
- Tavares WS, Cruz I, Fonseca FG, Gouveia NL, Serrão JE, Zanuncio JC. (2010). Deleterious activity of natural products on postures of *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae) and *Diatraea saccharalis*

(Lepidoptera: Pyralidae). Zeitschrift fuer Naturforschung, C: Journal of Biosciences 65: 412–418.

Türchen LM, Golin V, Butnariu AR, Guedes RNC, Pereira MJB. (2016). Lethal and sublethal effects of insecticides on the egg parasitoid *Telenomus podisi* (Hymenoptera: Platygasteridae). Journal of Economic Entomology 109: 84–92.

Weseloh RM, Hare JD. (2009). Predation/Predatory Insects. In Encyclopedia of Insects (Second Edition) (pp. 837–839).

Yegen O, Unlu A, Berger BM. (1998). Einsatz und Nebenwirkungen auf bodenmikrobielle Aktivitäten des ätherischen Öls aus *Thymbra spicata* bei der Bekämpfung der Wurzelhalskrankheit an Paprika *Phytophthora capsici*. Zeitschrift fuer Pflanzenkrankheiten und Pflanzenschutz 105: 602–610.

Zanuncio JC, Morão SA, Martínez LC, Wilcken CF, Ramalho FS, Plata-Rueda A, Soares MA, Serrão JE. (2016). Toxic effects of the neem oil (*Azadirachta indica*) formulation on the stink bug predator, *Podisus nigrispinus* (Heteroptera: Pentatomidae). Scientific Reports 6: 30261.

Zheng G, Kenney PM, Lam LKT. (1993). Potential anticarcinogenic natural products isolated from lemongrass oil and galanga root oil. Journal of Agricultural and Food Chemistry 41: 153–156.

Capítulo 1

**Bioatividade do óleo essencial de *Cymbopogon citratus* (Poaceae) e seus
constituintes contra lagartas de *Anticarsia gemmatalis* (Lepidoptera:
Noctuidae)**

1 Bruno Pandelo Brügger

1 Departamento de Entomologia/BIOAGRO, Universidade Federal de Viçosa,
36.570 900, Viçosa, Minas Gerais, Brasil

RESUMO

BRÜGGER, Bruno Pandeló, D.Sc., Universidade Federal de Viçosa, fevereiro de 2018. **Bio-atividade do óleo essencial de *Cymbopogon citratus* (Poaceae) e seus constituintes contra lagartas de *Anticarsia gemmatalis* (Lepidoptera: Noctuidae)**. Orientador: José Cola Zanuncio.

A lagarta-da-soja, *Anticarsia gemmatalis* Hübner (Lepidoptera: Noctuidae), a principal praga desfolhadora da soja no Brasil, é controlada, principalmente, com inseticidas sintéticos. Isto pode causar resistência, toxicidade para mamíferos e organismos não-alvo, problemas de resíduos e poluição ambiental, tornando necessário o desenvolvimento de alternativas de controle desse inseto. O objetivo foi avaliar a toxicidade do óleo essencial de capim-limão (*Cymbopogon citratus* (DC.) Stapf.) e de seus principais constituintes para lagartas de *A. gemmatalis*. Foi realizado cromatografia para análise dos constituintes do óleo essencial de capim limão. Seis concentrações de óleo essencial de capim-limão e de seus constituintes foram aplicados no tórax das lagartas desse inseto. Analisou se o comportamento locomotor das lagartas com um sistema de vídeo rastreado e a taxa respiratória, com os constituintes do óleo essencial nas doses DL₅₀ e DL₉₀, com respirometro. O óleo essencial foi mais tóxico em lagartas de primeiro instar de *A. gemmatalis*, seguido daquelas de segundo, terceiro, quarto e quinto instares. Os principais constituintes desse óleo incluem neral (31,5%), citral (26,1%) e acetato de geranila (2,27%). Os ensaios de dose resposta, com os constituintes do óleo essencial de capim-limão mostraram ser o acetato de geranila mais tóxico que o citral em *A. gemmatalis*. As taxas de respiração ($\mu\text{L de CO}_2 \text{ h}^{-1}/\text{inseto}$) de *A. gemmatalis* com o acetato de geranila e citral, com doses estimadas para os valores de DL₅₀ e DL₉₀, diferiram. Lagartas reduziram a mobilidade após a exposição aos constituintes do óleo essencial em superfícies tratadas.

1 INTRODUÇÃO

A lagarta-da-soja, *Anticarsia gemmatalis* (Lepidoptera: Noctuidae) é a principal praga desfolhadora da soja, *Glycine max* (Fabaceae) no Brasil (Panizzi 2013). Esse inseto ocorre da região central dos Estados Unidos à Argentina (Hoffmann-Campo et al. 2003). Esta praga danifica outras culturas como amendoim, (*Arachis hypogaea*), alfafa, (*Medicago sativa*), arroz (*Oryza sativa*) feijão, (*Phaseolus vulgaris*), ervilha, (*Pisum sativum*) (Fabaceae) e trigo, (*Triticum aestivum*) (Poaceae) (Greene et al. 1976). Folhas superiores e inferiores são as mais consumidas e a planta pode ser completamente desfolhada (Waters & Barfield 1989), deixando apenas as nervuras das folhas (Bundy & McPherson 2007).

No Brasil, *A. gemmatalis* ocorre durante o ano todo, especialmente, na fase vegetativa das plantas de soja e seu controle é conduzido, principalmente, com inseticidas sintéticos (Panizzi 2013). Esses produtos podem induzir a resistência de insetos (Qayyum et al. 2015), causar toxicidade à mamíferos (Arslan et al. 2016) e organismos não-alvo (Pereira et al. 2009), problemas de resíduos (Liu et al. 2011) e poluição ambiental (Wan et al. 2015), tornando necessário o desenvolvimento de métodos alternativos para o manejo de *A. gemmatalis*. O manejo integrado e ecológico de pragas busca o uso de produtos mais seguros à saúde do homem e ao ambiente que os químicos sintéticos (Isman 2006; Martínez et al. 2015; Plata-Rueda et al. 2017).

Substâncias bioativas de inseticidas botânicos podem reduzir o potencial de resistência de pragas (Isman 2006; Zanuncio et al. 2016; Martínez et al. 2017).

Extratos e óleos essenciais de origem vegetal apresentam compostos aromáticos, hidrocarbonetos oxigenados, monoterpenos, sesquiterpenos alifáticos como compostos majoritários que atuam em sinergismo com outras substâncias presentes em menores quantidades e podem ter propriedades biológicas contra diferentes organismos (Bakkali et al. 2008; Martínez et al. 2015; Zanuncio et al. 2016). Esses compostos atuam como repelentes, deterrentes de oviposição e alimentação, reguladores de crescimento e tóxicos para larvas e adultos de pragas com baixa poluição e degradação no ambiente (Chermenskaya et al. 2010; Plata-Rueda et al. 2017). A busca por substâncias naturais para proteção de plantas, especialmente, na agricultura orgânica aumenta o interesse por inseticidas botânicos (Isman et al. 2011; Martínez et al. 2017).

O capim-limão (*Cymbopogon citratus* (DC.) Stapf.) (Poaceae), nativo da Índia e do Sri Lanka (Zheng et al. 1993), tem propriedades antifúngica (Khan & Ahmad 2011), anti-inflamatória (Boukhatem et al. 2014) e antibacteriana (Santin et al. 2009). O óleo essencial dessa planta tem efeitos letais e subletais como dissuasão, repelência e deterrência, diminuindo a capacidade de procura do hospedeiro por insetos como *Aedes albopictus* (Diptera: Culicidae) (Hao et al. 2008), *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae) (Oyedele et al. 2002), *Bemisia tabaci* (Hemiptera: Aleyrodidae) (Deletre et al. 2016), *Grapholita molesta* (Lepidoptera: Tortricidae) (Sant'Ana & Gregório 2016), *Lycoriella ingenua* (Diptera: Sciaridae) (Park et al. 2008), *Sitophilus oryzae* (Coleoptera: Curculionidae) *Tribolium castaneum* (Coleoptera: Tenebrionidae) (Stefanazzi et al. 2011) e *Trichoplusia ni* (Lepidoptera: Noctuidae) (Tak & Isman 2016).

Anticarsia gemmatalis é controlada com inseticidas químicos sintéticos e o óleo essencial de capim-limão pode ser uma alternativa para o manejo dessa praga em cultivos de soja e milho. O objetivo foi avaliar a atividade inseticida do óleo essencial de capim-limão e de seus constituintes majoritários contra lagartas de *A. gemmatalis*.

2 MATERIAL E MÉTODOS

2.1 Criação de insetos

Indivíduos de *A. gemmatalis* foram obtidos do Laboratório de Controle Biológico de Insetos (LCBI) do Instituto de Biotecnologia Aplicada à Agropecuária (BIOAGRO) da Universidade Federal de Viçosa (UFV) em Viçosa, Estado de Minas Gerais, Brasil. Adultos de *A. gemmatalis* foram mantidos em gaiolas cúbicas de madeira de 30 cm com as laterais teladas, tampa de vidro e recobertas, internamente, com papel para oviposição em sala climatizada (temperatura de $25 \pm 1^\circ\text{C}$, umidade relativa de $70 \pm 10\%$ e 12 h fotoperíodo) e alimentados com solução nutritiva embebida em algodão colocado no fundo das gaiolas. A cada dois dias, os papéis contendo posturas foram retirados, cortados em tiras ($2,5 \times 10$ cm) e transferidos para recipientes de poliestireno de 1000 mL. Lagartas de *A. gemmatalis* foram alimentadas com cubos de dieta artificial constituída por 10 g de ágar, 15,6 g levedura de cerveja, 25 g gérmen de trigo, 25 g proteína de soja, 31,2 g de feijão, 12,5 g de caseína e 2,5 ml de solução vitamínica (ácido ascórbico 1,2%, pantotenato de cálcio 0,03%, niacina 0,015%, riboflavina 0,008%, tiamina 0,004% e HCl 0,004%) (Greene et al. 1976). Grupos de vinte lagartas de *A. gemmatalis* foram acondicionados por recipiente de

poliestireno até a pupação. A assepsia dos recipientes foi realizada a cada 48 horas. Indivíduos imaturos de *A. gemmatalis*, sem amputações ou más formações aparentes, foram utilizados nos bioensaios.

2.2 Toxicidade do óleo essencial de capim-limão em *Anticarsia gemmatalis*

O óleo essencial de capim-limão foi adquirido da empresa Destilaria Bauru Ltda. (Catanduva, São Paulo, Brasil), extraído pelo fornecedor em escala industrial por hidrodestilação. A eficácia do óleo essencial de capim-limão foi determinada calculando-se a DL_{50} e DL_{90} em laboratório. Seis concentrações de óleo de capim-limão foram ajustadas, além do controle (acetona), em 1 mL de solução-mãe (óleo essencial e acetona): 1,62, 3,12, 6,25, 12,5, 25 e 50% (v/v) e misturado com acetona em frascos de vidro de 5 mL. Alíquotas de 1 μ L das concentrações foram aplicadas no tórax das lagartas de primeiro, segundo, terceiro, quarto e quinto instares de *A. gemmatalis*, utilizando uma micropipeta. Trinta lagartas em grupos de 10 foram utilizadas por concentração e instar, individualizadas em potes plásticos (100 mL) com dieta artificial. O número de lagartas mortas foi contado 36 h após a aplicação do óleo e de seus constituintes.

2.3 Identificação dos constituintes do óleo essencial de capim-limão

As análises quantitativas do óleo essencial de *C. citratus* foram realizadas por triplicata com cromatógrafo gasoso (GC-17A, Shimadzu, Kyoto, Japão) equipado com detector de ionização de chama (FID). As condições cromatográficas utilizadas foram: uma coluna capilar de sílica fundida (30 m \times 0,22 mm) com uma fase ligada DB-5 (0,25 μ m de espessura de película); gás transportador N_2 a uma taxa de fluxo de 1,8 mL min^{-1} ; temperatura do injetor 220

°C; temperatura do detector 240 °C; temperatura da coluna programada para começar a 40 °C (isotérmica restante durante 2 min) e aumento de 3 °C min⁻¹ a 240 °C (isotérmica restante a 240 °C durante 15 min); volume de injeção 1 µL (1% p/v em diclorometano); razão de divisão 1:10 e pressão da coluna de 115 kPa.

Os constituintes do óleo essencial de *C. citratus* foram identificados com cromatógrafo gasoso acoplado a detector de massas CG/MS (CGMS-QP 5050A; Shimadzu, Kyoto, Japão). As temperaturas do injetor e do detector foram de 220 °C e 300 °C, respectivamente. A temperatura inicial da coluna foi de 40 °C durante 3 min, com aumento de temperatura programado de 3 °C/min para 300 °C e mantido durante 25 min. A proporção modo “*split*” foi de 1:10. Um microlitro do óleo essencial de capim-limão contendo 1% (p/v em diclorometano) foi injetado e o hélio utilizado como gás transportador com uma constante de taxa de fluxo de 1,8 mL⁻¹ na coluna capilar Rtx[®]-5MS (30 m, 0,25 mm × 0,25 µm; Bellefonte, EUA), utilizando a fase estacionária Crossbond[®] (35% difenil, 65% dimetil polissiloxano). O espectrômetro foi programado para detectar massas na gama de 29-450 DA com 70 eV de energia de ionização. Os constituintes foram identificados por comparação com os espectros de massa disponíveis nas bibliotecas do “*National Institute of Standards and Technology*” (NIST08, NIST11), na base de dados Wiley Spectroteca e índices de retenção.

2.4 Toxicidade dos constituintes comerciais do óleo essencial de capim-limão em *A. gemmatalis*

O acetato de geranila (pureza 97,0%) e citral (pureza 95,0%), identificados como constituintes do óleo essencial de capim-limão, foram obtidos da Sigma

Aldrich (Darmstadt, Alemanha). A eficácia dos constituintes foi determinada calculando-se as doses letais (DL_{50} e DL_{90}) em laboratório. Seis concentrações de cada composto comercial, além do controle (acetona), foram ajustadas em 1 mL de solução-mãe (tratamento e acetona) para se calcular as doses letais: 1,62, 3,12, 6,25, 12,5, 25 e 50% e misturadas com acetona em frascos de vidro de 5 mL. Alíquotas de 1 μ L das doses foram aplicadas no tórax das lagartas de segundo instar de *A. gemmatalis* utilizando uma micropipeta. Trinta lagartas em grupos de 10 foram utilizadas por concentração e composto, sendo colocadas individualmente em potes plásticos (100 mL), alimentadas com dieta artificial e o número de indivíduos mortos contados após 36 h da aplicação das concentrações.

2.5 Taxa de respiração

Os bioensaios de respirometria foram realizados 3 h após as lagartas serem expostas ou não ao acetato de geranila e citral. As doses utilizadas corresponderam a DL_{50} e DL_{90} dos constituintes, além do controle (água destilada). A produção de dióxido de carbono (CO_2) (μ L de CO_2 h^{-1} /inseto) foi medida com respirômetro do tipo analisador de CO_2 TR3C (Sable System International, Las Vegas, EUA). Cada respirômetro (25 mL), continha três lagartas de segundo instar de *A. gemmatalis*, sendo conectado a um sistema fechado. A produção de CO_2 foi medida depois que os insetos foram aclimatados nas câmaras por 12 h a temperatura de 27 ± 2 °C. O gás oxigênio comprimido (99,99% puro) foi passado através da câmara a um fluxo de 100 mL min^{-1} durante dois minutos para quantificar o CO_2 produzido em cada câmara. Esse fluxo de ar força as moléculas de CO_2 , produzidas, a passarem por um leitor de infravermelho

acoplado ao sistema, o qual mede o CO₂ produzido pelos insetos em cada câmara. Dez câmaras de respirômetro foram utilizadas por tratamento.

2.6 Comportamento locomotor

As arenas foram confeccionadas com disco de papel filtro (9 cm em diâmetro com porosidade de 3 µm, 0,5% de teor de cinzas, e densidade de 80 g/m²; Nalgon Equip. Científicos, Itupeva, São Paulo, Brasil) fixado no fundo de uma placa de Petri usando cola (sintética) à base de água. Cada arena continha um disco impregnado com 1 mL de acetato de geranila ou citral (DL₅₀ ou DL₉₀) (metade superior de cada arena) e no tratamento controle as duas metades foram tratadas com água. As paredes internas das placas de Petri foram revestidas com Teflon TPFE® (DuPont, Wilmington, DE, EUA) para evitar que as lagartas escapassem. Uma lagarta foi liberada no centro de cada arena e suas atividades locomotoras gravadas (ViewPoint LifeSciences, Montreal, Quebec, Canadá) por 10 min por tratamento, permitindo o cálculo da distância de caminhada (repelência) e o tempo de parada (hiperatividade). Quarenta e oito lagartas foram utilizadas nos bioensaios de caminhada, 16 por tratamento (controle, acetato de geranila ou citral).

2.7 Análise estatística

A dose letal (DL₅₀ e DL₉₀) e seus limites de confiança, para o óleo essencial capim-limão e do acetato de geranila e citral foram determinados por regressão logística em ensaios dose-resposta com base na concentração de Probit-mortalidade usando o programa XLSTAT-PRO (v.7.5) para Windows. A taxa de respiração foi submetida à análise de variância (tempo x tratamento com o

constituente) e as médias comparadas com o teste HSD de Tukey ($P < 0,05$). Os dados de resposta do comportamento locomotor foram analisados por análise de variância unidirecional e as médias dos tratamentos comparadas com o teste de Tukey (HSD) a 5% de significância. A toxicidade, taxa de respiração e comportamento locomotor foram analisadas usando o software SAS User (v. 9.0) para Windows (SAS, 2002).

3. RESULTADOS

3.1 Toxicidade de óleo essencial de capim-limão

A mortalidade de *A. gemmatalis* foi maior com 25 e 50% do óleo essencial do capim-limão. As doses letais foram crescentes entre os instares, onde DL_{50} variaram de 3,15 a 90,23 μg e DL_{90} de 3,92 a 115 μg . Os valores de DL_{50} e DL_{90} para lagartas de segundo instar foram 10,17 e 17,24 μg de óleo, respectivamente (Tabela 1).

Tabela 1. Doses letais do óleo essencial de capim-limão em diferentes instar de *Anticarsia gemmatalis* (Lepidoptera: Noctuidae) após 36 horas de exposição

Instar	DL	VE	IC	X^2
I	DL ₅₀	3,1	2,8 – 3,3	44,8
	DL ₉₀	3,9	3,6 – 4,3	
II	DL ₅₀	10,1	9,4 – 11,4	64,1
	DL ₉₀	13,8	12,9 – 16,0	
III	DL ₅₀	14,7	14,1 – 15,3	56,3
	DL ₉₀	17,2	16,5 – 18,3	
IV	DL ₅₀	38,3	37,1 – 40,0	3,9
	DL ₉₀	43,6	41,4 – 48,2	
V	DL ₅₀	90,2	78,3 – 164,7	6,8
	DL ₉₀	115,0	93,2 – 262,0	

DL, dose letal (DL₅₀ e DL₉₀) correspondente a 50 e 90% de mortalidade; VE, valor estimado; IC, intervalo de confiança; X^2 , O valor do qui-quadrado para as concentrações letais e limites fiduciais baseados em escala de log com nível de significância em $P < 0,001$.

3.2 Composição do óleo essencial de capim-limão

Treze substâncias presentes no óleo essencial de capim-limão corresponderam a 95,64% de sua composição. Os principais constituintes, desse óleo, foram os neral (31,5%), citral (26,1%), acetato de geranila (Figura 1, Tabela 2).

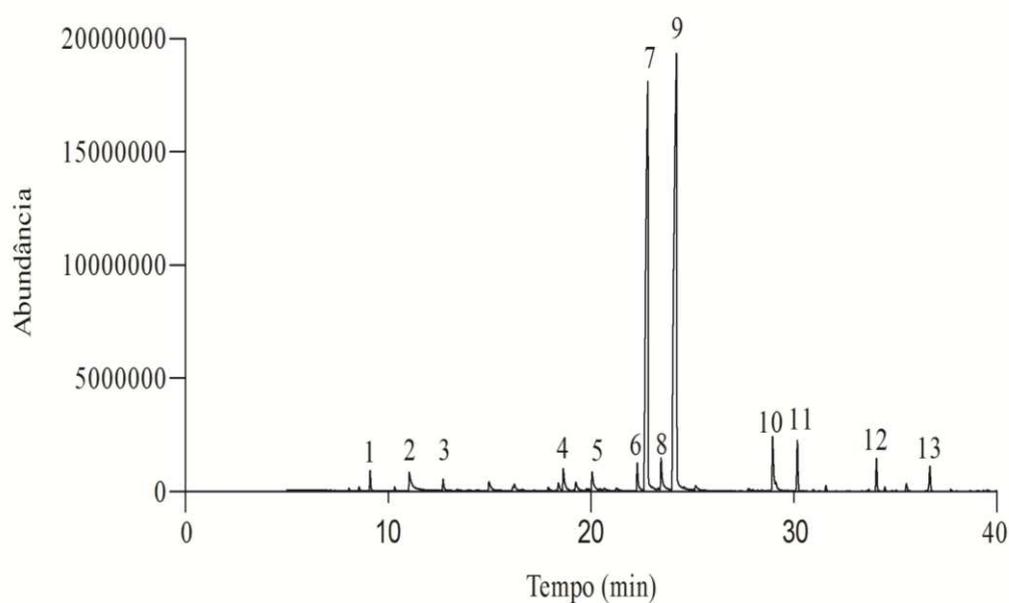


Figura 1. Cromatograma gasoso dos picos com tempo de retenção dos constituintes do óleo essencial de capim-limão: canfeno (1), 6-metil-hept-5-en-2-one (2), limoneno (3), Nonan-4-ol (4), citronelal (5), citronelol (6), neral (7), geraniol (8), citral (9), acetato de geranila (10), β -cariofileno (11), γ -muroleno (12) e óxido de cariofileno (13).

Tabela 1. Massa molecular (Mm), intensidade relativa (Ir), índice de retenção (IR), tempo de retenção (Rt) e peso molecular (p/m) das moléculas presentes no óleo essencial do capim-limão

Picos	Composto	Rt	Fórmula	Mm	Ir	IR	p/m
1	Canfeno	8,9	C ₁₀ H ₁₆	130	16.1	943	121.1
2	6-metil-hept-5-en-2-one	10,8	C ₈ H ₁₄ O	126	13.8	938	108.1
3	Limoneno	12,4	C ₁₀ H ₁₆	136	19.6	1030	94.1
4	nonan-4-ol	14,7	C ₉ H ₂₀ O	142	7.0	1052	86.1
5	Citronelal	18,5	C ₁₀ H ₁₈ O	154	11.6	1125	121.1
6	Citronelol	19,8	C ₁₀ H ₂₀ O	152	28.0	1136	109.1
7	Neral	22,1	C ₁₀ H ₁₆ O	156	12.3	1179	95.1
8	Geranial	22,5	C ₁₀ H ₁₈ O	152	9.7	1174	109.1
9	Citral	23,2	C ₁₀ H ₁₆ O	154	6.1	1228	123.1
10	acetato de geranila	23,8	C ₁₂ H ₂₀ O	152	4.3	1174	137.1
11	β-cariofileno	28,8	C ₁₅ H ₂₄	196	5.4	1352	136.1
12	γ-muroloeno	29,9	C ₁₅ H ₂₄	204	28.8	1494	133.1
13	óxido de cariofileno	33,8	C ₁₅ H ₂₄ O	204	12.1	1435	204.1

3.3 Toxicidade dos constituintes comerciais de capim-limão

Ensaio biológico de dose resposta com acetato de geranila mostraram maior toxicidade com $DL_{50} = 4,56$ (3,94–5,08) μg e $DL_{90} = 7,29$ (6,66–8,21) μg que o citral com $DL_{50} = 15,99$ (15,22–16,72) μg e $DL_{90} = 19,73$ (18,73 – 21,34) μg (Figura 2).

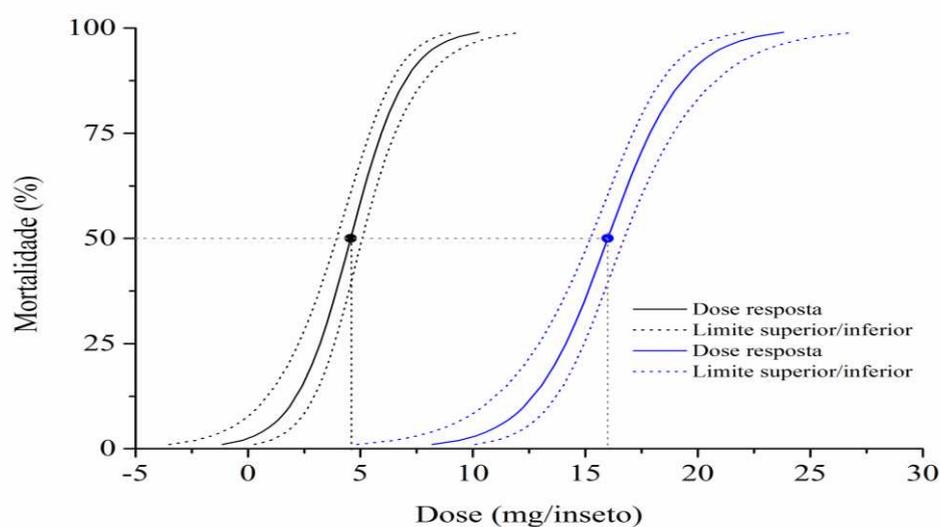


Figura 2. Curva de mortalidade estimada pelo ensaio dose-resposta (Probit) em lagartas de *Anticarsia gemmatalis* (Lepidoptera: Noctuidae) por acetato de geranila e citral em diferentes doses letais (DL_{50} e DL_{90}) (X^2 ; $P < 0,001$). Linhas pontilhadas denotam intervalos de confiança de 95%. Ponto preto representa DL_{50} (acetato de geranila) e azul DL_{50} (citral) selecionados para avaliar os efeitos tóxicos.

3.4 Taxa respiratória

A taxa de respiração (μL de CO_2 h^{-1} /inseto) de *A. gemmatalis* diferiu com as doses de acetato de geranila com DL_{50} e DL_{90} ($F_{2,48} = 5,85$; $P < 0,001$) (Figura 3A)

e citral com DL_{50} e DL_{90} ($F_{2,48}=6,05$; $P < 0,001$) (Figura 3B). A taxa de respiração entre 1 e 3 h foram diferentes nas lagartas entre tratamentos com acetato de geranila ($F_{2,48}=6,06$; $P < 0,001$) e citral ($F_{2,48}=4,83$; $P < 0,001$).

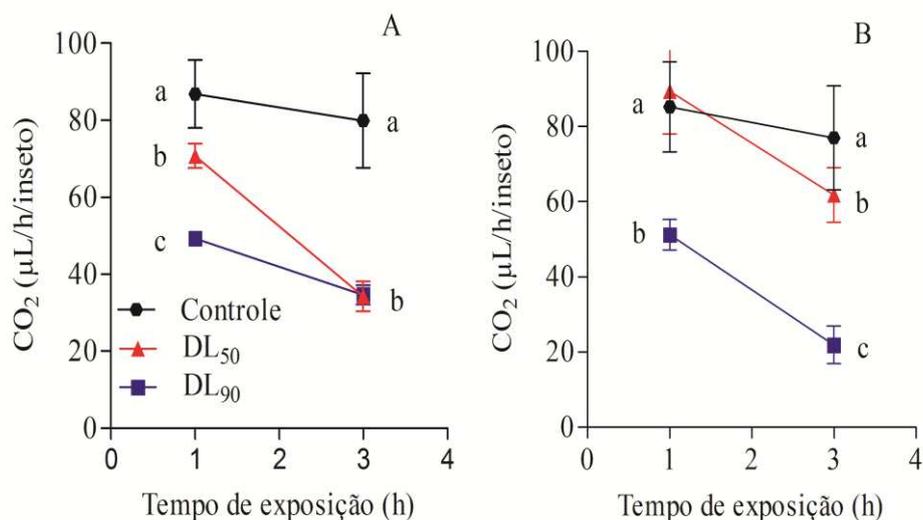


Figura 3. Taxa de respiração (média ± desvio padrão) de *Anticarsia gemmatalis* (Lepidoptera: Noctuidae) após exposição aos constituintes comerciais para os níveis de aplicação DL_{50} e DL_{90} em lagartas: (A) acetato de geranila, (B) citral. Tratamentos (médias ± desvio padrão) diferem em $P < 0,05$ (teste médio de separação de Tukey).

3.5 Comportamento locomotor

As faixas representativas de caminhada de *A. gemmatalis*, em arenas meio tratadas com os constituintes, demonstraram repelência e hiperatividade (Figura 4). No acetato de geranila a distância de caminhada não foi significativa entre tratamentos ($F_{2,15}= 1,13$; $P= 0,376$), enquanto o tempo de parada foi significativo ($F_{2,15}= 5,63$; $P < 0,008$), (Figura 4B, C). No citral, a

distância de caminhada ($F_{2,15} = 3,77$; $P < 0,034$) e tempo de parada ($F_{2,15} = 7,06$; $P < 0,001$), (Figura 4E, F) diferiram entre tratamentos. A distância de caminhada, de lagartas de *A. gemmatalis*, foi maior na DL₉₀ para acetato de geranila e citral, enquanto o tempo de parada foi maior para o controle do que para os constituintes do óleo essencial de capim-limão (Figura 5).

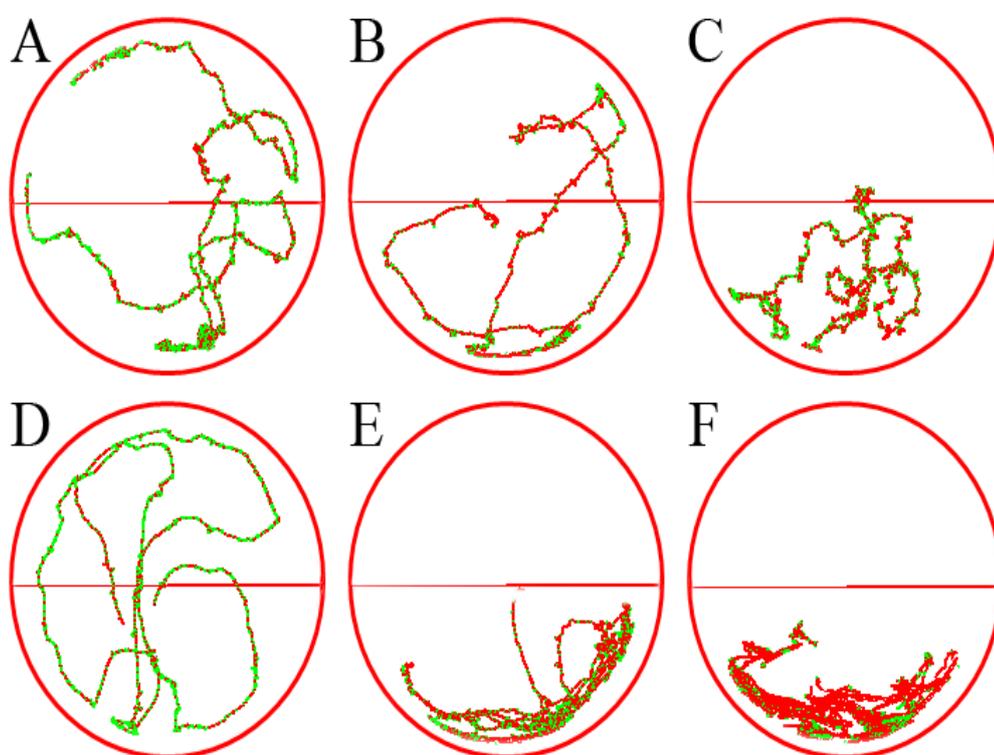


Figura 4. Faixas representativas da atividade locomotora de lagartas de *Anticarsia gemmatalis* (Lepidoptera: Noctuidae) durante 10 minutos em arenas de papel filtro (9 cm de diâmetro) impregnadas com acetato de geranila (A: Controle, B: DL₅₀ e C: DL₉₀) e citral (D: Controle, E: DL₅₀ e F: DL₉₀) (metade superior de cada arena). Faixas vermelhas indicam alta velocidade de caminhada e trilhas verdes baixa velocidade (inicial).

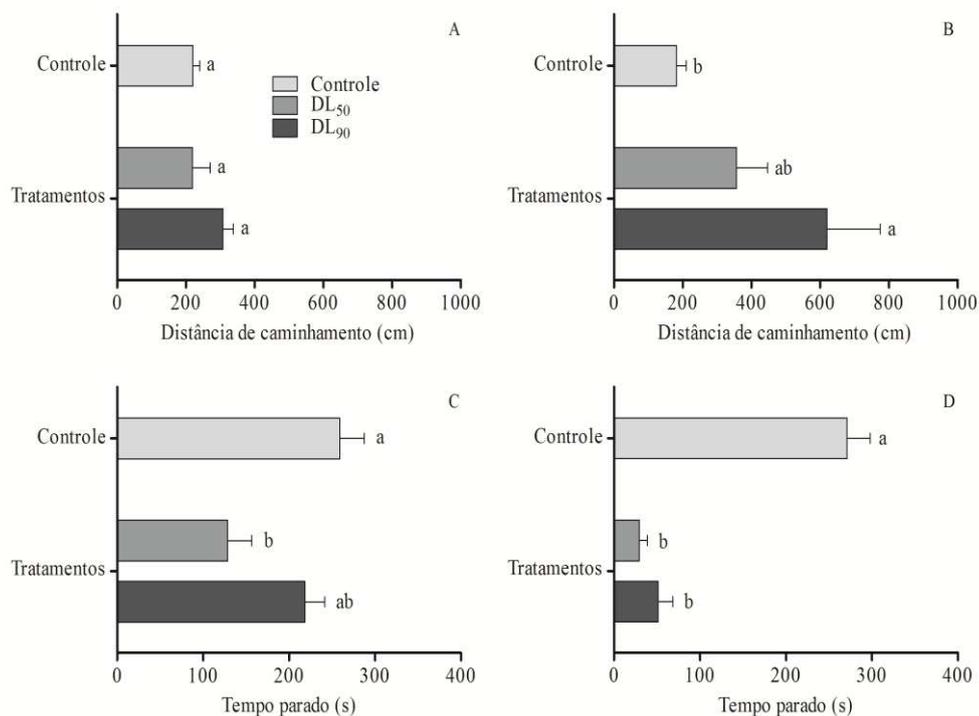


Figura 5. Distância de caminhada (A e B) e tempo de parada (C e D) (média \pm erro padrão da média) de lagartas *Anticarsia gemmatalis* (Lepidoptera: Noctuidae) com DL₅₀ e DL₉₀. Tratamentos (médias \pm desvio padrão) diferem em $P < 0,05$ (teste médio de separação de Tukey). A e C= Acetato de geranila, B e D= Citral.

4. DISCUSSÃO

A mortalidade das lagartas de *A. gemmatalis* com 25 e 50% do óleo essencial de capim-limão comprova a atividade inseticida desse óleo, como relatado para *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae) (Furtado et al. 2005), *Callosobruchus maculatus* (Coleoptera: Bruchidae) (Singh et al. 2016), *Musca domestica* (Diptera: Muscidae) (Pinto et al. 2015), *Thyrintina arnobia* (Lepidoptera: Geometridae) (Soares et al. 2011) e *Tribolium castaneum*

(Coleoptera: Tenebrionidae) (Bossou et al. 2015). A mortalidade de lagartas de *A. gemmatalis* por concentrações reduzidas do óleo de capim-limão, após 36 h de exposição indicaram atividade inseticida, podendo ser atribuído à interação dos constituintes com sítios de ação na acetilcolinesterase no sistema nervoso das lagartas (Ryan & Byrne 1988).

Os 13 constituintes do óleo essencial de capim-limão particularmente, o citral e neral em maior abundância concorda com outros estudos (Samarasekera et al. 2006; Bossou et al. 2015). A composição química do óleo essencial de capim-limão varia bastante, dependendo do órgão extraído, idade da planta, área geográfica da coleta e método de extração (Negahban et al. 2006; Olivero-Verbel et al. 2010). Os principais constituintes do óleo essencial de capim-limão são terpenoides com potencial inseticida.

A maior toxicidade do acetato de geranila que citral à *A. gemmatalis* concorda com o fato deste primeiro ter sido o mais tóxico em aplicação tópica para *M. domestica* entre 45 monoterpenos (Rice & Coats 1994) e seus óleos essenciais correspondentes (Samarasekera et al. 2006). A toxicidade do citral e neral, os principais constituintes tóxicos do óleo essencial de capim-limão (Green & Berenbaum 1994), aplicados topicamente em lagartas de terceiro instar de *T. ni* foi semelhante à do óleo essencial (Tak & Isman 2016). O mecanismo de ação tóxica dos terpenoides como acetato de geranila e citral é desconhecido, mas insetos expostos a esses constituintes exibiram atividade de locomoção alterada, e contrações musculares em pernas e abdômen em altas concentrações no teste DL₅₀. A paralisia e contrações musculares em lagartas de *A. gemmatalis* com a DL₅₀, seguido de morte, podem ser explicadas pela interação dos efeitos tóxicos

no sistema nervoso desse inseto. Efeitos neurotóxicos em insetos expostos para terpenoides podem causar bloqueio do sítio de ligação do receptor da octopamina (Livingstone et al. 1980; Enan 2001), induzindo a hiperextensão das pernas e do abdômen aumentando a frequência de postsináptica excitatória potenciais recebidos pelos neurônios motores abdominais apropriados (Livingstone et al. 1980; Enan 2001).

A redução da respiração de lagartas de segundo instar de *A. gemmatalis* até 3 h após a exposição ao acetato de geranila com doses DL_{50} e DL_{90} e citral com doses DL_{50} e DL_{90} mostra que substâncias voláteis entram pelos espiráculos dos insetos como parte de seu processo respiratório (Wasserthal 1996) diminuindo a quantidade de oxigênio como relatado para insetos expostos a óleos, resultando em custos fisiológicos devido à realocação de energia de outros processos fisiológicos básicos essenciais (Mansour et al. 2012; Haddi et al. 2015; Plata-Rueda et al. 2017). A baixa taxa de respiração é um indicador do estresse fisiológico e os óleos essenciais comprometem a respiração dos insetos (Guedes et al. 2006; De Araújo et al. 2017) devido à interrupção dos processos de fosforilação oxidativa, desregulação das atividades respiratórias (Sousa et al. 2012; Corrêa et al. 2014; Nicodemo et al. 2014) além, da obstrução dos espiráculos ou penetração pelos os canais traqueais (Colpo et al. 2014). Porém, a redução na taxa respiratória diminui a exposição dos insetos aos fumigantes tóxicos, pois o sistema respiratório é a principal via de entrada desses compostos (Chaudhry 1997; Pimentel et al. 2009).

A maior distância, percorrida nas arenas em direção ao lado oposto dos constituintes e menor tempo parado, pelas lagartas de *A. gemmatalis* sugere

atividade repelente e induz hiperatividade como relatado para terpenoides (Alzogaray et al. 2013; Moretti et al. 2013), aumentando a exposição aos efeitos deletérios dos compostos (Sousa et al. 2016). A hiperatividade nos insetos é um dos primeiros sintomas de intoxicação (Alzogaray et al. 2013) e mudanças no comportamento podem ocorrer devido à ação de compostos tóxicos no sistema nervoso, estimulando ou reduzindo a mobilidade dos insetos, afetando os padrões de caminhamento (Moretti et al. 2015; Ryglewski et al. 2017) Voláteis de plantas e seus constituintes podem interromper o processo de reconhecimento do substrato pelo hospedeiro, influenciando o comportamento locomotor em insetos (Verheggen et al. 2007; Germinara et al. 2015). As respostas comportamentais das lagartas de *A. gemmatalis* ao acetato de geranila e o citral sugerem efeito dissuasório por esses constituintes.

O óleo essencial de capim-limão e seus constituintes possuem atividade inseticida contra *A. gemmatalis*. Esses constituintes podem ser utilizados, individualmente, ou em mistura para o manejo de suas populações visando prevenir ou retardar o desenvolvimento de resistência a inseticida e os efeitos tóxicos no ambiente.

5. REFERÊNCIAS

- Alzogaray RA, Sfara V, Moretti AN, Zerba EN. (2013). Behavioural and toxicological responses of *Blattella germanica* (Dictyoptera: Blattellidae) to monoterpenes. *European Journal of Entomology* 110: 247–252.
- Arslan M, Sevgiler Y, Buyukleyla M, Yardimci M, Yilmaz M, Rencuzogullari E. (2016). Sex-related effects of imidacloprid modulated by piperonyl butoxide

- and menadione in rats. Part II: genotoxic and cytotoxic potential. *Drug and Chemical Toxicology* 39: 81–86.
- Bakkali F, Averbeck S, Averbeck D, Idaomar M. (2008). Biological effects of essential oils-a review. *Food and Chemical Toxicology* 46: 446–475.
- Bossou AD, Ahoussi E, Ruysbergh E, Adams A, Smaghe G, De Kimpe N, Félicien A, Sohounhloue DCK, Mangelinckx S. (2015). Characterization of volatile compounds from three *Cymbopogon* species and *Eucalyptus citriodora* from Benin and their insecticidal activities against *Tribolium castaneum*. *Industrial Crops and Products* 76: 306–317.
- Boukhatem MN, Ferhat MA, Kameli A, Saidi F, Kebir HT. (2014). Lemon grass (*Cymbopogon citratus*) essential oil as a potent anti-inflammatory and antifungal drugs. *Libyan Journal of Medicine* 9: 25431.
- Bundy CS, McPherson RM. (2007). Cropping preferences of common lepidopteran pests in a cotton/soybean cropping system. *Journal of Entomological Science* 42: 105–118.
- Chaudhry MQ. (1997). Review a review of the mechanisms involved in the action of phosphine as an insecticide and phosphine resistance in stored-product insects. *Pest Management Science* 49: 213–228.
- Chermenskaya TD, Stepanycheva EA, Shchenikova AV, Chakaeva AS. (2010). Insectoacaricidal and deterrent activities of extracts of Kyrgyzstan plants against three agricultural pests. *Industrial Crops and Products* 32: 157–163.
- Colpo JF, Jahnke SM, Füller TN. (2014). Potencial inseticida de óleos de origem vegetal sobre *Grapholita molesta* (Busck) (Lepidoptera: Tortricidae). *Revista Brasileira de Plantas Mediciniais* 16: 182–188.

- Corrêa AS, Tomé HVV, Braga LS, Martins GF, De Oliveira LO, Guedes RNC. (2014). Are mitochondrial lineages, mitochondrial lysis and respiration rate associated with phosphine susceptibility in the maize weevil *Sitophilus zeamais*? *Annals of Applied Biology* 165: 137–146.
- Deletre E, Chandre F, Barkman B, Menut C, Martin T. (2016). Naturally occurring bioactive compounds from four repellent essential oils against *Bemisia tabaci* whiteflies. *Pest Management Science* 72: 179–189.
- De Araújo AMN, Faroni LRDA, De Oliveira JV, Navarro DMDAF, Breda MO. De França SM. (2017). Lethal and sublethal responses of *Sitophilus zeamais* populations to essential oils. *Journal of Pest Science* 90: 589–600.
- Enan E. (2001). Insecticidal activity of essential oils: octopaminergic sites of action. *Comparative Biochemistry and Physiology Part C: Toxicology and Pharmacology* 130: 325–337.
- Furtado RF, de Lima MG, Andrade Neto M, Bezerra JN, Silva MGDV. (2005). Larvicidal activity of essential oils against *Aedes aegypti* L. (Diptera: Culicidae). *Neotropical Entomology* 34: 843–847.
- Germinara GS, Cristofaro A, Rotundo G. (2015). Repellents effectively disrupt the olfactory orientation of *Sitophilus granarius* to wheat kernels. *Journal of Pest Science* 88: 675–684.
- Green ES, Berenbaum MR. (1994). Phototoxicity of citral to *Trichoplusia ni* (Lepidoptera: Noctuidae) and its amelioration by vitamin A. *Photochemistry Photobiology* 60: 459–462.

- Greene GL, Leppla NC, Dickerson WA. (1976). Velvetbean caterpillar: a rearing procedure and artificial medium. *Journal of Economic Entomology* 69: 487–488.
- Guedes RNC, Oliveira EE, Guedes NMP, Ribeiro B, Serrão, J. E. (2006). Cost and mitigation of insecticide resistance in the maize weevil, *Sitophilus zeamais*. *Physiological Entomology* 31: 30–38.
- Haddi K, Oliveira EE, Faroni LR, Guedes DC, Miranda NN. (2015). Sublethal exposure to clove and cinnamon essential oils induces hormetic-like responses and disturbs behavioral and respiratory responses in *Sitophilus zeamais* (Coleoptera: Curculionidae). *Journal of Economic Entomology* 108: 2815–2822.
- Hao H, Wei J, Dai J, Du J. (2008). Host-seeking and blood-feeding behavior of *Aedes albopictus* (Diptera: Culicidae) exposed to vapors of geraniol, citral, citronellal, eugenol, or anisaldehyde. *Journal of Medical Entomology* 45: 533–539.
- Hoffmann-Campo CB, Oliveira LJ, Moscardi F, Gazzoni DL, Corrêa-Ferreira BS, Lorini IA, Corso IC. (2003). Integrated pest management in Brazil. *Integrated pest management in the global arena*. CABI Publishing, Wallingford and Cambridge 285–299.
- Isman MB. (2006). Botanical insecticides, deterrents, and repellents in modern agriculture and an increasingly regulated world. *Annual Review of Entomology* 51: 45–66.

- Isman MB, Miresmailli S, Machial C. (2011). Commercial opportunities for pesticides based on plant essential oils in agriculture, industry and consumer products. *Phytochemistry Reviews* 10: 197–204.
- Khan MS, Ahmad I. (2011). In vitro antifungal, anti-elastase and anti-keratinase activity of essential oils of *Cinnamomum*-, *Syzygium*-and *Cymbopogon*-species against *Aspergillus fumigatus* and *Trichophyton rubrum*. *Phytomedicine* 19: 48–55.
- Liu X, Xu J, Dong F, Li Y, Song W, Zheng Y. (2011). Residue analysis of four diacylhydrazine insecticides in fruits and vegetables by quick, easy, cheap, effective, rugged, and safe (QuEChERS) method using ultra-performance liquid chromatography coupled to tandem mass spectrometry. *Analytical and Bioanalytical Chemistry* 401: 1051–1058.
- Livingstone M, Harria-Warrick R, Kravitz EA. (1980). Serotonin and octopamine produce opposite postures in lobsters. *Science* 208: 76–79.
- Mansour EE, Mi F, Zhang G, Jiugao X, Wang Y, Kargbo A. (2012). Effect of allylisothiocyanate on *Sitophilus oryzae*, *Tribolium confusum* and *Plodia interpunctella*: Toxicity and effect on insect mitochondria. *Crop Protection* 33: 40–51.
- Martínez LC, Plata-Rueda A, Zanuncio JC, Serrão JE. (2015). Bioactivity of six plant extracts on adults of *Demotisca neivai* (Coleoptera: Chrysomelidae). *Journal of Insect Science* 15: 1–5.
- Martínez LC, Plata-Rueda A, Dos Santos MH, Fernandes FL, Serrão JE, Zanuncio JC (2017) Toxic effects of two essential oils formulation and their

- constituents on the mealworm beetle, *Tenebrio molitor*. Bulletin of Entomological Research 1: 1–10.
- Moretti AN, Zerba EN, Alzogaray RA. (2015). Lethal and sublethal effects of eucalyptol on *Triatoma infestans* and *Rhodnius prolixus*, vectors of Chagas disease. Entomologia Experimentalis et Applicata 154: 62–70.
- Negahban M, Moharramipour S, Sefidkon F. (2006). Insecticidal activity and chemical composition of *Artemisia sieben* Besser essential oil from Karaj, Iran. Journal of Asia-Pacific Entomology 9: 61–66.
- Nicodemo D, Maioli MA, Medeiros HC, Guelfi M, Balieira KV, De Jong D, Mingatto FE. (2014). Fipronil and imidacloprid reduce honeybee mitochondrial activity. Environmental Toxicology and Chemistry 33: 2070–2075.
- Olivero-Verbel J, Nerio LS, Stashenko EE. (2010). Bioactivity against *Tribolium castaneum* Herbst (Coleoptera: Tenebrionidae) of *Cymbopogon citratus* and *Eucalyptus citriodora* essential oils grown in Colombia. Pest Management Science 66: 664–668.
- Oyedele AO, Gbolade AA, Sosan MB, Adewoyin FB, Soyelu OL, Orafidiya OO. (2002). Formulation of an effective mosquito-repellent topical product from lemongrass oil. Phytomedicine 9: 259–262.
- Panizzi AR. (2013). History and contemporary perspectives of the integrated pest management of soybean in Brazil. Neotropical Entomology 42: 119–127.
- Park IK, Kim JN, Lee YS, Lee SG, Ahn YJ, Shin SC. (2008). Toxicity of plant essential oils and their components against *Lycoriella ingenua* (Diptera: Sciaridae). Journal of Economic Entomology 101: 139–144.

- Pereira JL, Antunes SC, Castro BB, Marques CR, Gonçalves AM, Gonçalves F, Pereira R. (2009). Toxicity evaluation of three pesticides on non-target aquatic and soil organisms: commercial formulation versus active ingredient. *Ecotoxicology* 18: 455–463.
- Pimentel MAG, Faroni LDA, Guedes RNC, Sousa AH, Tótola MR. (2009). Phosphine resistance in Brazilian populations of *Sitophilus zeamais* Motschulsky (Coleoptera: Curculionidae). *Journal of Stored Products Research* 45: 71–74.
- Pinto ZT, Sánchez FF, Santos ARD, Amaral ACF, Ferreira JLP, Escalona-Arranz JC, Queiroz MMDC. (2015). Chemical composition and insecticidal activity of *Cymbopogon citratus* essential oil from Cuba and Brazil against housefly. *Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária* 24: 36–44.
- Plata-Rueda A, Martínez LC, Dos Santos MH, Zanuncio JC, Mourão SA, Wilcken CF, Ramalho FS, Serrão JE. (2017). Insecticidal activity of garlic essential oil constituents against the mealworm beetle, *Tenebrio molitor* Linnaeus (Coleoptera: Tenebrionidae). *Scientific Reports* 7: 46406.
- SAS Institute. (2002). The SAS System for Windows, release 9.0. SAS Institute, Cary, N.C.
- Sousa AH, Faroni LRA, Silva GN, Guedes RNC. (2012). Ozone toxicity and walking response of populations of *Sitophilus zeamais* (Coleoptera: Curculionidae). *Journal of Economic Entomology* 105: 2187–2195.
- Sousa AH, Faroni LRA, Pimentel MAG, Silva GN, Guedes RNC. (2016). Ozone toxicity to *Sitophilus zeamais* (Coleoptera: Curculionidae) populations

- under selection pressure from ozone. *Journal of Stored Products Research* 65: 1–5.
- Qayyum MA, Wakil W, Arif MJ, Sahi ST, Saeed NA, Russell DA. (2015). Multiple resistances against formulated organophosphates, pyrethroids, and newer-chemistry insecticides in populations of *Helicoverpa armigera* (Lepidoptera: Noctuidae) from Pakistan. *Journal of Economic Entomology* 108: 286–293.
- Rice PJ, Coats JR. (1994). Structural requirements for monoterpenoid activity against insects. A. Hedin (Ed.), *Bioregulators for Crop Protection and Pest Control* 8: 92–108.
- Ryan MF, Byrne O. (1988). Plant-insect coevolution and inhibition of acetylcholinesterase. *Journal of Chemical Ecology* 14: 1965–1975.
- Ryglewski S, Duch C, Altenhein B. (2017). Tyramine actions on *Drosophila* flight behavior are affected by a glial dehydrogenase/reductase. *Frontiers in Systems Neuroscience* 11: 68.
- Saavedra JLD, Zanuncio JC, Zanuncio TV, Guedes RNC. (1997). Prey capture ability of *Podisus nigrispinus* (Dallas) (Het., Pentatomidae) reared for successive generations on a meridic diet. *Journal of Applied Entomology* 121: 327-330.
- Samarasekera R, Kalhari KS, Weerasinghe IS. (2006). Insecticidal activity of essential oils of *Ceylon Cinnamomum* and *Cymbopogon species* against *Musca domestica*. *Journal of Essential Oil Research* 18: 352–354.
- Sant'Ana J, Gregório PLF. (2016). Olfactory learning and memory in *Grapholita molesta*. *Entomologia Experimentalis et Applicata* 160: 40–46.

- Santin MR, dos Santos AO, Nakamura CV, Dias Filho BP, Ferreira ICP, Ueda-Nakamura T. (2009). In vitro activity of the essential oil of *Cymbopogon citratus* and its major component (citral) on *Leishmania amazonensis*. *Parasitology Research* 105: 1489–1496.
- Singh V, Yadav KS, Tripathi AK, Tandon S, Yadav NP. (2016). Exploration of various essential oils as fumigant to protect stored grains from insect damage. *Annals of Phytomedicine* 5: 87–90.
- Soares CSA, Silva M, Costa MB, Bezerra CES. (2011). Ação inseticida de óleos essenciais sobre a lagarta desfolhadora *Thyrinteina arnobia* (Stoll) (Lepidoptera: Geometridae). *Revista Verde de Agroecologia e Desenvolvimento Sustentável* 6: 154–157.
- Stefanazzi N, Stadler T, Ferrero A. (2011). Composition and toxic, repellent and feeding deterrent activity of essential oils against the stored grain pests *Tribolium castaneum* (Coleoptera: Tenebrionidae) and *Sitophilus oryzae* (Coleoptera: Curculionidae). *Pest Management Science* 67: 639–646.
- Tak JH, Isman MB. (2016). Metabolism of citral, the major constituent of lemongrass oil, in the cabbage looper, *Trichoplusia ni*, and effects of enzyme inhibitors on toxicity and metabolism. *Pesticide Biochemistry and Physiology* 133: 20–25.
- Verheggen F, Ryne C, Olsson POC, Arnaud L, Lognay G, Högberg H.-E, Persson D, Haubruge E, Löfstedt C. (2007). Electrophysiological and behavioral activity of secondary metabolites in the confused flour beetle, *Tribolium confusum*. *Journal of Chemical Ecology* 33: 525–539.

- Wan NF, Ji XY, Jiang JX, Zhang YM, Liang JH, Li B. (2015). An ecological indicator to evaluate the effect of chemical insecticide pollution management on complex ecosystems. *Ecological Indicators* 53: 11–17.
- Wasserthal, LT. (1996). Interaction of circulation and tracheal ventilation in holometabolous insects. *Advances in Insect Physiology* 26: 297–351.
- Waters DJ, Barfield CS. (1989). Larval development and consumption by *Anticarsia gemmatalis* (Lepidoptera: Noctuidae) fed various legume species. *Environmental Entomology* 18: 1006–1010.
- Zanuncio JC, Mourão SA, Martínez LC, Wilcken CF, Ramalho FS, Plata-Rueda A, Serrão, JE. (2016) Toxic effects of the neem oil (*Azadirachta indica*) formulation on the stink bug predator, *Podisus nigrispinus* (Heteroptera: Pentatomidae). *Scientific Reports* 6: 30261.
- Zheng G, Kenney PM, Lam LKT. (1993). Potential anticarcinogenic natural products isolated from lemongrass oil and galanga root oil. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 41: 153–156.

Capítulo 2

Bioatividade do óleo essencial de *Cymbopogon citratus* (Poaceae) e seus constituintes em *Podisus nigrispinus* (Heteroptera: Pentatomidae)

1 Bruno Pandelo Brügger

1 Departamento de Entomologia/BIOAGRO, Universidade Federal de Viçosa,
36.570 900, Viçosa, Minas Gerais, Brasil

RESUMO

BRÜGGER, Bruno Pandeló, D.Sc., Universidade Federal de Viçosa, Fevereiro de 2018. **Bio-atividade do óleo essencial de *Cymbopogon citratus* (Poaceae) e seus constituintes em *Podisus nigrispinus* (Heteroptera: Pentatomidae).** Orientador: José Cola Zanuncio.

Podisus nigrispinus (Dallas) (Heteroptera: Pentatomidae) é um percevejo liberado em programas de controle biológico de cultura agrícola no Brasil, predando lepidópteros e coleópteros. O objetivo foi avaliar a toxicidade do óleo essencial de capim-limão (*Cymbopogon citratus* (DC.) Stapf.), acetato de geranila e citral para ninfas de *P. nigrispinus*. Seis concentrações de óleo essencial de capim-limão e seus constituintes foram aplicados no tórax das ninfas desse inseto. Verificou se o comportamento locomotor das ninfas com um sistema de vídeo rastreado e a taxa respiratória, com os constituintes do óleo essencial nas doses DL₅₀ e DL₉₀, com respirometro. Os valores de DL₅₀ e DL₉₀ indicaram o óleo essencial mais tóxico em ninfas do primeiro ao quinto instar de *P. nigrispinus*. Os principais constituintes foram neral (31,5%), citral (26,1%), acetato de geranila (2,27%). Os ensaios de dose resposta, com os constituintes do óleo essencial de capim-limão mostraram o acetato de geranila mais tóxico que o citral em *P. nigrispinus*. As taxas de respiração ($\mu\text{L de CO}_2 \text{ h}^{-1}/\text{inseto}$) de *P. nigrispinus* com o acetato de geranila e citral com doses estimadas para os valores de DL₅₀ e DL₉₀, diferiram. Ninfas após serem expostas aos constituintes do óleo essencial apresentaram hiperatividade ou repelência em superfícies tratadas. *Podisus nigrispinus* foi tolerante ao óleo de capim-limão, acetato de geranila e citral, porém a redução da atividade respiratória, repelência pelo acetato de geranila e hiperatividade com citral representadas pelas faixas de caminamento, sugerem cuidado do uso do óleo essencial de capim-limão e seus constituintes no consórcio com *P. nigrispinus*.

1. INTRODUÇÃO

Insetos predadores são utilizados no controle de artrópodes herbívoros, evitando que estes se tornem pragas (Neves et al. 2010; Inayat et al. 2011; Messan & Kang 2017). *Podisus nigrispinus* (Dallas) (Heteroptera: Pentatomidae) é um percevejo presentes em culturas agrícolas no Brasil, predando lepidópteros e coleópteros (Zanuncio et al. 2008; Moura & Grazia 2011; De Oliveira et al. 2011). Estes predadores são criados em laboratório e liberados em programas de controle biológico em algodão (De Jesus et al. 2014), eucalipto (Zanuncio et al. 2014), soja (Ferreira et al. 2008; Denez et al. 2014) e tomate (Torres et al. 2002; Bottega et al. 2017).

O uso indiscriminado de inseticidas sintéticos podem causar impactos negativos em organismos não alvos como predadores, parasitoides e polinizadores, além de contaminação do ambiente, problemas à saúde humana, resistência de pragas e sua ressurgência, esses impactos favorecem o uso de agentes de controle biológico no manejo de pragas (Jusselino-Filho et al. 2003).

O capim-limão (*Cymbopogon citratus* (DC.) Stapf.) é nativo da Índia e do Sri Lanka (Zheng et al. 1993), possui propriedades antifúngicas (Khan & Ahmad 2011), anti-flamatórias (Gbenou et al. 2013; Costa et al. 2016) e anti-protozoários (Santin et al. 2009). Devido aos efeitos destes inseticidas botânicos, eles precisam ser usados com cuidado porque afetam o ciclo de vida do predador *P. nigrispinus* (Poderoso et al. 2016; Zanuncio et al. 2016). Portanto, o objetivo foi avaliar a toxicidade do óleo essencial de capim-limão e seus constituintes sobre o predador *P. nigrispinus*.

2. MATERIAL E MÉTODOS

2.1 Criação de insetos

Indivíduos de *P. nigrispinus* foram obtidos da criação massal do Laboratório de Controle Biológico de Insetos do BIOAGRO, onde esse predador foi criado em sala climatizada a temperatura de 25 ± 1 °C, 70 ± 10 % de UR e 12 horas de fotofase. Os ovos de *P. nigrispinus* foram colocados em placas de Petri (12 x 1,5 cm) com algodão embebido com água. Ninfas e adultos foram criados em gaiolas cúbicas de madeira de 30 cm com laterais teladas com tecido tipo organza, e ramos de *Eucalyptus* sp. (Myrtaceae), pupas do hospedeiro alternativo *Tenebrio molitor* (Coleoptera: Tenebrionidae) e água “*ad libitum*” (Zanuncio et al. 2000).

2.2 Toxicidade do óleo essencial de capim-limão em *Podisus nigrispinus*

O óleo essencial de capim-limão foi adquirido da empresa Destilaria Bauru Ltda. (Catanduva, São Paulo, Brasil) extraído pelo fornecedor em escala industrial por hidrodestilação. A eficácia do óleo essencial de capim-limão foi determinada calculando-se as dosagens letais (DL₅₀ e DL₉₀) em laboratório. Seis concentrações de óleo de capim-limão foram ajustadas, além do controle (acetona), em 1 mL de solução-mãe (óleo essencial e acetona): 1,62; 3,12; 6,25; 12,5; 25 e 50% (v/v) e misturado com acetona em frascos de vidro de 5 mL. Alíquotas de 1 µL das concentrações foram aplicadas no tórax das ninfas de primeiro, segundo, terceiro, quarto e quinto instares de *P. nigrispinus*, utilizando uma micropipeta. Cinquenta ninfas em grupos de 10 foram utilizadas por concentração e instar, individualizadas em placas de petri com dieta artificial e algodão embebido com

água. O número de ninfas mortas foi contado 36 h após a aplicação do óleo e seus constituintes.

2.3 Identificação dos constituintes do óleo essencial de capim-limão

As análises quantitativas do óleo essencial de capim-limão foram realizadas por triplicata com cromatógrafo gasoso (GC-17A, Shimadzu, Kyoto, Japão) equipado com detector de ionização de chama (FID). As condições cromatográficas utilizadas foram: uma coluna capilar de sílica fundida (30 m × 0,22 mm) com uma fase ligada DB-5 (0,25 µm de espessura de película); gás transportador N₂ a uma taxa de fluxo de 1,8 mL min⁻¹; temperatura do injetor 220 °C; temperatura do detector 240 °C; temperatura da coluna programada para começar a 40 °C (isotérmica restante durante 2 min) e aumento de 3 °C min⁻¹ a 240 °C (isotérmica restante a 240 °C durante 15 min); volume de injeção 1 µL (1% p/v em diclorometano); razão de divisão 1:10 e pressão da coluna de 115 kPa.

Os constituintes do óleo essencial de capim-limão foram identificados com cromatógrafo gasoso acoplado a detector de massas CG/MS (CGMS-QP 5050A; Shimadzu, Kyoto, Japão). As temperaturas do injetor e do detector foram de 220 °C e 300 °C, respectivamente. A temperatura inicial da coluna foi de 40 °C durante 3 min, com aumento de temperatura programado de 3 °C/min para 300 °C e mantido durante 25 min. A proporção modo “*split*” foi de 1:10. Um microlitro do óleo essencial de *C. citratus* contendo 1% (p/v em diclorometano) foi injetado e o hélio utilizado como gás transportador com uma constante de taxa de fluxo de 1,8 mL⁻¹ na coluna capilar Rtx[®]-5MS (30 m, 0,25 mm × 0,25 µm; Bellefonte, EUA), utilizando a fase estacionária Crossbond[®] (35% difenil, 65% dimetil

polissiloxano). O espectrômetro foi programado para detectar massas na gama de 29-450 DA com 70 eV de energia de ionização. Os constituintes foram identificados por comparação com os espectros de massa disponíveis nas bibliotecas do “*National Institute of Standards and Technology*” (NIST08, NIST11), na base de dados Wiley Spectroteca e índices de retenção.

2.4 Toxicidade dos constituintes comerciais do óleo essencial do capim-limão em *P. nigrispinus*

O acetato de geranila (pureza 97,0%) e citral (pureza 95,0%), identificados como constituintes do óleo essencial de capim-limão, foram obtidos da Sigma Aldrich (Darmstadt, Alemanha). Seis concentrações de cada composto comercial, além dos controles água e acetona, foram ajustadas em 1 mL de solução-mãe (tratamento e acetona) para se calcular as concentrações letais DL₅₀ e DL₉₀: 1,62, 3,12, 6,25, 12,5, 25 e 50% do constituinte dos tratamentos e misturadas com acetona em frascos de vidro de 5 mL. Diferentes concentrações de cada tratamento foram aplicadas em solução de 1 uL no dorso de ninfas de terceiro instar de *P. nigrispinus* para acetato de geranila e citral respectivamente, as quais foram colocadas em potes plásticos (100 mL) com dieta artificial. Cinquenta ninfas de terceiro instar em grupos de 10 foram utilizadas por concentração e composto individualizadas em placas de petri com dieta artificial e algodão embebido com água. O número de indivíduos mortos foi contado após 36 h da aplicação das concentrações.

2.5 Taxa de respiração

Os bioensaios de respirometria foram realizados 3 h após as ninfas de terceiro instar de *P. nigrispinus* serem expostas ou não ao acetato ou citral. As doses utilizadas corresponderam a DL₅₀ e DL₉₀ dos constituintes, além do controle (água destilada). A produção de dióxido de carbono (CO₂) (μL de CO₂ h⁻¹/inseto) foi medida com respirômetro do tipo analisador de CO₂ TR3C (Sable System International, Las Vegas, EUA). Uma ninfa de terceiro instar de *P. nigrispinus*, foi colocada em cada respirômetro (25 mL), sendo conectado a um sistema fechado. A produção de CO₂ foi medida depois que os insetos foram aclimatados nas câmaras por 12 h a temperatura de 27 ± 2 °C. O gás oxigênio comprimido (99,99% puro) foi passado através da câmara a um fluxo de 100 mL min⁻¹ durante dois minutos para quantificar o CO₂ produzido em cada câmara. Esse fluxo de ar força as moléculas de CO₂, produzidas, a passarem por um leitor de infravermelho acoplado ao sistema, o qual mede o CO₂ produzido pelos insetos em cada câmara. Dez câmaras de respirômetro foram utilizadas por tratamento.

2.6 Análise estatística

A concentração letal (DL₅₀ e DL₉₀) e seus limites de confiança para o óleo essencial de *C. citratus*, acetato de geranila e citral foram determinados por regressão logística em ensaios dose-resposta com base na concentração de Probit-mortalidade usando o programa XLSTAT-PRO (v.7.5) para Windows. A taxa de respiração foi submetida à análise de variância (tempo x tratamento com o constituinte) e ao teste HSD de Tukey (P < 0,05) quando apropriado (PROC GLM). O intervalo de tempo foi avaliado em diferentes amostras de insetos e, por

isto, não são pseudoreplicados no tempo e sim sujeitos a análises de variância regulares em duas partes ao invés daquela. Os dados de resposta do comportamento locomotor foram analisados por análise de variância unidirecional e as médias dos tratamentos comparadas com o teste de Tukey (HSD) a 5% de significância. A toxicidade, taxa de respiração e comportamento locomotor foram analisadas usando o software SAS User (v. 9.0) para Windows (SAS, 2002).

3. RESULTADOS

3.1 Toxicidade de óleo essencial de capim-limão

A mortalidade de *P. nigrispinus* foi maior com 25 e 50% do óleo essencial de *C. citratus* e dois níveis de doses letais foram estimadas por Probit (χ^2 , $P < 0,0001$). As doses letais foram crescentes entre os instares, onde DL_{50} variaram de 1,08 a 139,30 μg e DL_{90} de 2,02 a 192,05 μg . Os valores de DL_{50} e DL_{90} para ninfas de terceiro instar foram 21,58 e 28,35 μg de capim-limão, respectivamente. A mortalidade foi sempre $<1\%$ do controle (Tabela 1).

Tabela 1. Doses letais do óleo essencial de capim-limão em diferentes instar de *Podisus nigrispinus* (Heteroptera: Pentatomidae) após 36 horas de exposição

Instar	DL	VE	IC	X^2
I	DL ₅₀	1,0	0,8 – 1,2	34,2
	DL ₉₀	2,0	1,8 – 2,2	
II	DL ₅₀	5,0	4,5 – 5,4	17,0
	DL ₉₀	8,0	7,4 – 8,7	
III	DL ₅₀	21,5	20,6 – 22,5	31,9
	DL ₉₀	28,3	26,7 – 30,7	
IV	DL ₅₀	56,9	53,5 – 63,8	24,9
	DL ₉₀	64,3	64,3 – 87,7	
V	DL ₅₀	139,3	108,1 – 400,2	6,4
	DL ₉₀	192,0	138,2 – 656,7	

DL, dose letal (DL₅₀ e DL₉₀) correspondente a 50 e 90% de mortalidade; VE, valor estimado; IC, intervalo de confiança; X^2 , O valor do qui-quadrado para as concentrações letais e limites fiduciais baseados em escala de log com nível de significância em $P < 0,001$.

3.2 Composição do óleo essencial de capim-limão

Treze constituintes do óleo essencial de capim-limão corresponderam a 95,64% de sua composição, os principais foram o neral (31,5%), citral (26,1%) e acetato de geranila (2,27%) (Figura 1, Tabela 2).

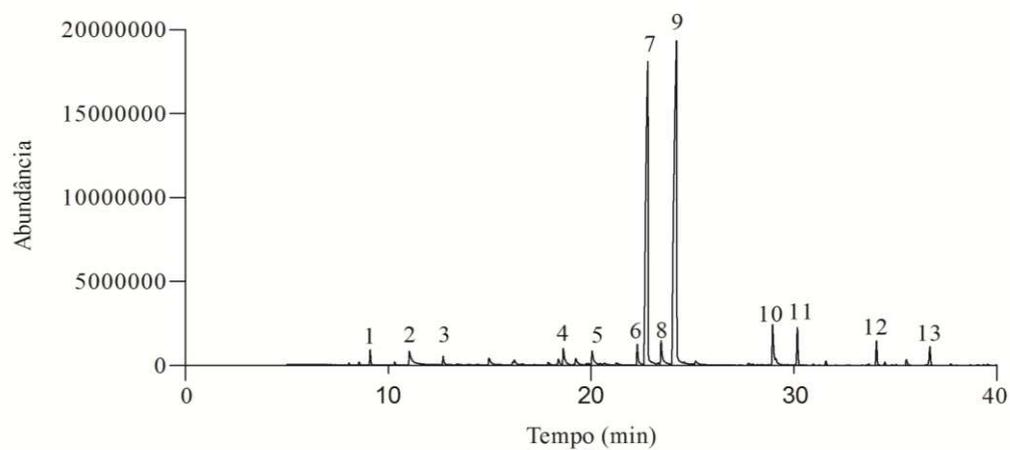


Figura 1. Cromatograma gasoso dos picos com tempo de retenção dos constituintes do óleo essencial de capim-limão: canfeno (1), 6-metil-hept-5-en-2-one (2), limoneno (3), Nonan-4-ol (4), citronelal (5), citronelol (6), neral (7), geraniol (8), citral (9), acetato de geranila (10), β -cariofileno (11), γ -muuroleno (12) e óxido de cariofileno (13).

Tabela 1. Massa molecular (MM), intensidade relativa (RI), índice de retenção (Ri), tempo de retenção (Rt) e peso molecular (p/m) das moléculas presentes no óleo essencial do capim-limão

Picos	Composto	Rt	Fórmula	MM	RI	Ri	p/m
1	canfeno	8,9	C ₁₀ H ₁₆	130	16.1	943	121.1
2	6-metil-hept-5-en-2-one	10,8	C ₈ H ₁₄ O	126	13.8	938	108.1
3	limoneno	12,4	C ₁₀ H ₁₆	136	19.6	1030	94.1
4	nonan-4-ol	14,7	C ₉ H ₂₀ O	142	7.0	1052	86.1
5	citronelal	18,5	C ₁₀ H ₁₈ O	154	11.6	1125	121.1
6	citronelol	19,8	C ₁₀ H ₂₀ O	152	28.0	1136	109.1
7	neral	22,1	C ₁₀ H ₁₆ O	156	12.3	1179	95.1
8	geranial	22,5	C ₁₀ H ₁₈ O	152	9.7	1174	109.1
9	citral	23,2	C ₁₀ H ₁₆ O	154	6.1	1228	123.1
10	acetato de geranila	23,8	C ₁₂ H ₂₀ O	152	4.3	1174	137.1
11	β-cariofileno	28,8	C ₁₅ H ₂₄	196	5.4	1352	136.1
12	γ-muroleno	29,9	C ₁₅ H ₂₄	204	28.8	1494	133.1
13	óxido de cariofileno	33,8	C ₁₅ H ₂₄ O	204	12.1	1435	204.1

3.3 Toxicidade dos constituintes comerciais do capim-limão

A toxicidade do acetato de geranila e citral em *P. nigrispinus* foi estimado por Probit (χ^2 , $P < 0,0001$) e avaliado em diferentes doses. Os ensaios biológicos de dose resposta com acetato de geranila mostraram menor toxicidade do que citral, sendo $DL_{50} = 33,44$ (30,99–37,23) μg , $DL_{90} = 48,34$ (42,78–59,99) μg e $DL_{50} = 25,56$ (23,98–27,60) μg , $DL_{90} = 35,39$ (32,15–41,61) sucessivamente (Figura 2).

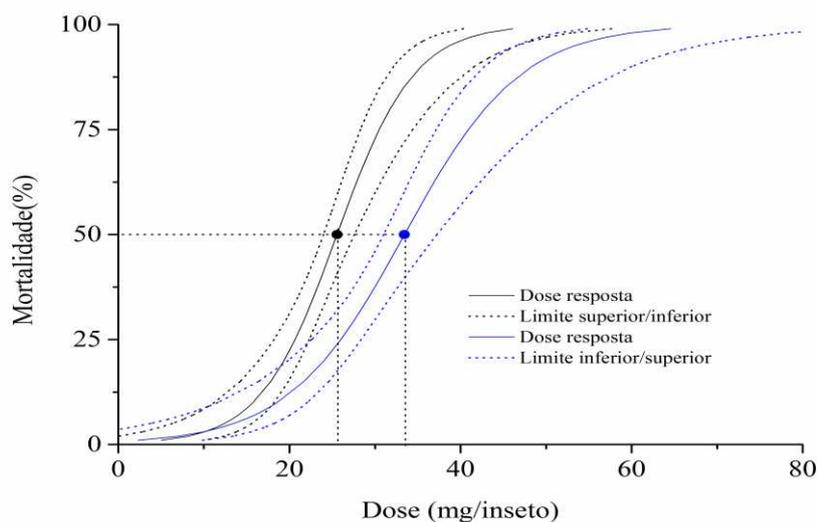


Figura 2. Curva de mortalidade estimada pelo ensaio dose-resposta (Probit) em ninfas de *Podisus nigrispinus* (Heteroptera: Pentatomidae) por acetato de geranila e citral em diferentes doses letais (DL_{50} e DL_{90}) (X^2 ; $p < 0,001$). Linhas pontilhadas denotam intervalos de confiança de 95%. Ponto preto representa DL_{50} (citral) e azul DL_{50} (acetato de geranila) selecionados para avaliar os efeitos tóxicos.

3.4 Taxa respiratória

A taxa de respiração ($\mu\text{L de CO}_2 \text{ h}^{-1}/\text{inseto}$) de *A. gemmatalis* diferiu com as doses de acetato de com valores de DL_{50} e DL_{90} ($F_{2,48}=4,81$; $P < 0,001$) (Figura 3A) e citral com DL_{50} e DL_{90} ($F_{2,48}=22,19$; $P < 0,001$) (Figura 3B). A taxa de respiração entre 1 e 3 h foram diferentes nas lagartas entre tratamentos com acetato de geranila ($F_{2,48}=5,12$; $P < 0,001$) e citral ($F_{2,48}=8,32$; $P < 0,001$).

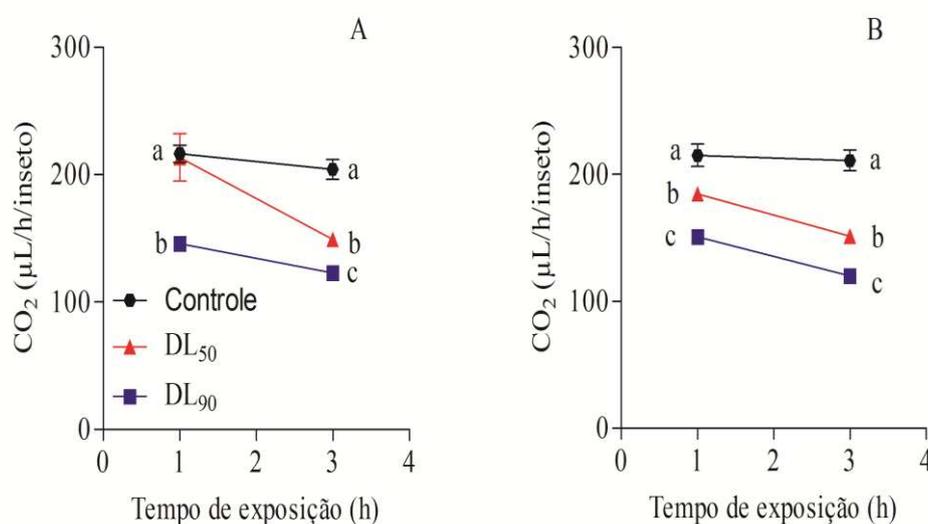


Figura 3. Taxa de respiração (médias \pm desvio padrão) de *Podisus nigrispinus* (Heteroptera: Pentatomidae) após exposição aos constituintes comerciais para os níveis de aplicação DL_{50} e DL_{90} em ninfas de terceiro instar: (A) acetato de geranila, (B) citral. Tratamentos (média \pm desvio padrão) diferem em $P < 0,05$ (teste médio de separação de Tukey).

3.5 Comportamento locomotor

As faixas representativas de caminhada de *P. nigrispinus*, em arenas meio tratadas, apresentaram repelência (acetato de geranila) e hiperatividade

(citril) (Figura 4). A distância de caminhada foi significativa entre tratamentos com acetato de geranila ($F_{2,11}=8,21$; $P<0,002$) (Figura 5A), enquanto o tempo de parada não foi significativo ($F_{2,11}=0,41$; $P=0,669$), (Figura 5C). No citral, a distância de caminhada de *P. nigrispinus* não foi significativa ($F_{2,11}=0,83$; $P=0,449$) (Figura 5B) e tempo de parada ($F_{2,11}=4,99$; $P<0,016$), (Figura 5D) diferiu entre os tratamentos.

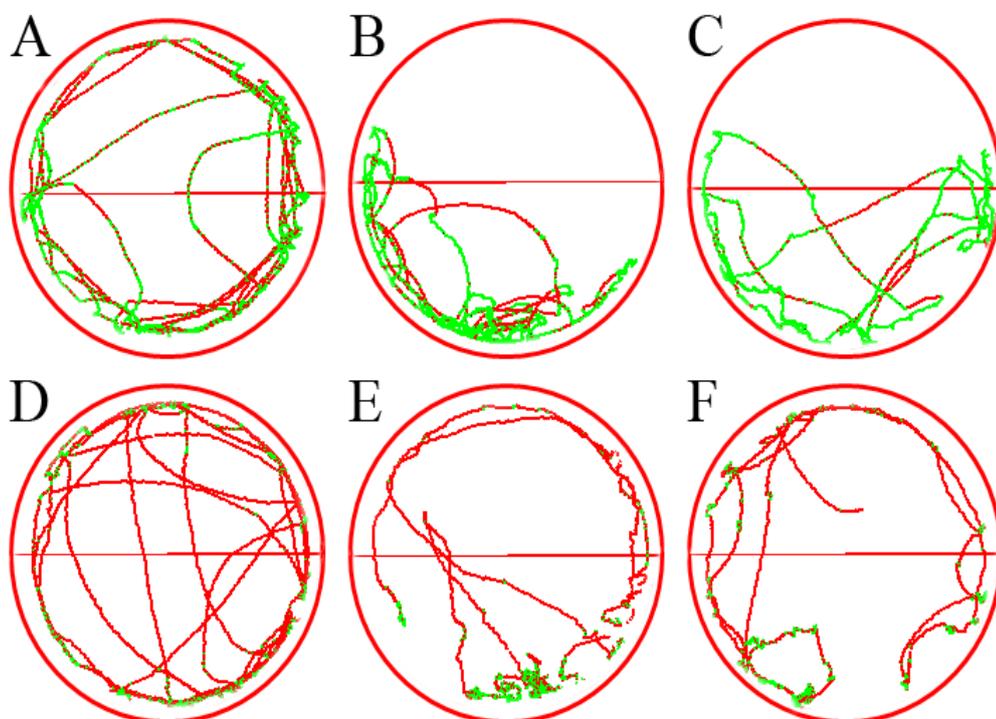


Figura 4. Faixas representativas que mostram a atividade locomotora de ninfas de *Podisus nigrispinus* (Heteroptera: Pentatomidae) durante 10 minutos em arenas de papel filtro (9 cm de diâmetro) meio impregnadas com acetato de geranila (A: Controle, B: DL₅₀ e C: DL₉₀) e citral (D: Controle, E: DL₅₀ e F: DL₉₀) (metade superior de cada arena). As faixas vermelhas indicam alta velocidade de caminhada; trilhas verdes indicam baixa velocidade (inicial).

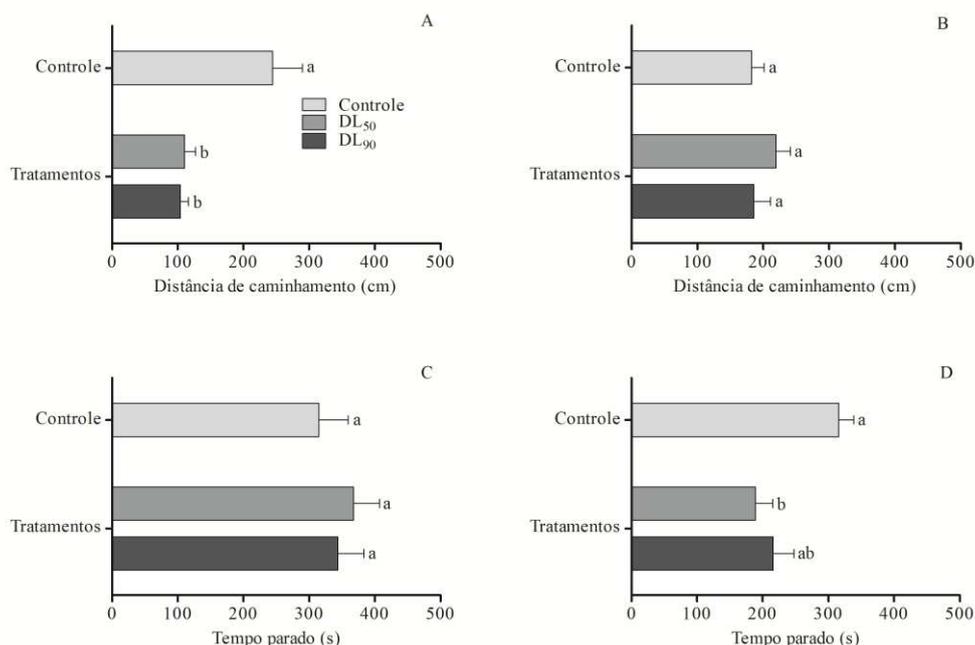


Figura 5. Distância de caminhamento (A e B) e tempo de parada (C e D) (média \pm erro padrão da média) em ninfas de terceiro instar de *Podisus nigrispinus* (Heteroptera: Pentatomidae) com DL₅₀ e DL₉₀. Tratamentos (média \pm desvio padrão) diferem em $P < 0,05$ (teste médio de separação de Tukey). A e C= Acetato de geranila, B e D= citral.

4. DISCUSSÃO

A alta taxa de sobrevivência das ninfas quarto e quinto instar de *P. nigrispinus* com 25 e 50% do óleo essencial de capim-limão sugeriu um grau de tolerância. Fator que pode estar relacionado à enzima do citocromo P450, pois seus inibidores o butóxido de piperonilo e fosfato de trifênilo em lagartas de quinto instar de *Trichoplusia ni* apresentaram aumento da toxicidade do óleo de capim-limão (Tak & Isman 2016). Os mecanismos de resistência são diversos quanto os envolvidos com produtos químicos inseticidas (Siegwart et al. 2015) e poderiam ser desintoxicados principalmente pela enzima citocromo P450 (Cui et

al. 2016), embora sua desintoxicação possa afetar a duração do estágio ninfal e reprodução nos percevejos predadores (Tedeschi et al. 2001), o óleo de capim-limão pode se considerar de baixo risco para ninfas deste predador, como relatado para clorantraniliprole, tiametoxam (Gontijo et al. 2018), glifosato (Zanuncio et al. 2018), óleo de nem (Zanuncio et al. 2016) e extratos de plantas (Poderoso et al. 2016), mas são efetivos no controle de *Callosobruchus maculatus* (Coleoptera: Bruchidae) (Singh et al. 2016), *Myzus persicae* (Hemiptera: Aphididae) (Costa et al. 2013) e *Tribolium castaneum* (Coleoptera: Tenebrionidae) (Olivero-Verbel et al. 2010).

Os 13 constituintes do óleo essencial de capim-limão particularmente, o citral e neral em maior abundância concorda com relatado em outros estudos (Samarasekera et al. 2006; Bossou et al. 2015). No entanto, existem variações consideráveis na composição química do óleo essencial de capim-limão em que geranial é um composto principal (Olivero-Verbel et al. 2010), dependendo do órgão extraído, idade da planta, área geográfica da coleta e método de extração (Negahban et al. 2006; Olivero-Verbel et al. 2010). Neste estudo, os principais constituintes do óleo essencial de capim-limão são terpenoides com potencial inseticida.

O citral e o acetato de geranila apresentaram baixa toxicidade em *P. nigrispinus*. Fato relacionado ao citocromo P450 (CYP), que conferem resistência aos terpenóides, ao degradar os compostos em formas mais solúveis e menos tóxicos (Pandey & Fluck 2013; Cui et al. 2016). As enzimas do citocromo P450 são codificadas por aproximadamente 48-164 genes em genomas de insetos, sendo expressos quando expostos a inseticidas botânicos ou metabolitos

secundários de plantas (Danielson et al. 1997; Ding et al. 2007; Massango et al. 2017). Genes do citocromo P450 relacionados à resistência foram demonstrados em *Acanthoscelides obtectus* (Coleoptera: Bruchidae) (Papachristos & Stamopoulos 2003), *Dendroctonus armandi* (Coleoptera: Curculionidae: Scolytinae) (Dai et al. 2014), *Anopheles sinensis* (Diptera Culicidae) (Wu et al. 2017) e *Drosophila melanogaster* (Diptera: Drosophilidae) (Daborn et al. 2002; Chung et al. 2009).

O acetato de geranila e o citral comprometeram a taxa de respiração de ninfas de terceiro instar de *P. nigrispinus* até 3 h após a exposição. A taxa de respiração de *P. nigrispinus* foi diferente para o acetato de geranila e citral com doses estimadas para os valores de DL₅₀ e DL₉₀. Composto podem cobrir os espiráculos, causando o término da respiração (Gerolt 1976), normalmente, a morte do inseto é confirmada na ausência de movimentos abdominais (Dingha et al. 2005). Óleos essenciais causam a paralisia dos músculos, regulação dos processos respiratórios e fosforilação oxidativa reduzindo a taxa respiratória dos insetos (Aerts & Mordue 1997; Nicodemo et al. 2014; De Araújo et al. 2017), comprometendo a eficácia das estratégias de controle de insetos resistentes (Price 1984; Pimentel et al. 2007).

Ninfas de *P. nigrispinus* apresentaram maior distância percorrida nas arenas tratadas com acetato de geranila e permanecendo na parte não tratada sugerindo atividade repelente e no citral menor tempo parado demonstrando hiperatividade (aumento não direcional da atividade locomotora). Os terpenoides das plantas abrangem uma diversidade de estruturas e têm muitos papéis funcionais na natureza, incluindo a proteção contra artrópodes pragas (Paluch et al. 2009). O

acetato de geranila apresentou repelência e influenciou no comportamento locomotor de *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae) (Kwon et al. 2014), *Cicadulina storeyi* (Homoptera: Cicadellidae) (Oluwafemi et al. 2011), *Culex pipiens* (Diptera: Culicidae) (Michaelakis et al. 2014). Fato relacionado à ação compostos tóxicos no sistema nervoso, agindo na octopamina modulando o comportamento locomotor dos insetos (Ryglewski et al. 2017). A hiperatividade de *P. nigrispinus* é afetado devido uma intoxicação, responsável pelo fenômeno de descarga, em que os insetos se tornam mais ativos (Pinchin et al. 1980; Cichero et al. 1985). O sistema octpaminérgico modula a atividade inseticida causando a hiperatividade, hiperextensão das pernas, abdômen, imobilização e morte (Enan 2001, Moretti et al. 2015). O citral pode afetar o sistema nervoso do inseto, pois as ninfas de *P. nigrispinus* apresentaram hiperatividade assemelhando à resposta provocada por inseticidas neurotóxicos como organofosforados (Kamel & Hoppin 2004) e piretróides (Alzogaray et al. 1997; Tooming et al. 2014). O citral não repeliu *P. nigrispinus*, pois o mesmo pode não ter detectado os voláteis, como relatado em *Diaphorina citri* (Hemiptera: Liviidae) (George et al. 2016)

Podisus nigrispinus foi tolerante ao óleo essencial de capim-limão e seus constituintes, porém segundo as respostas comportamentais das ninfas o acetato de geranila foi repelente e o citral causou hiperatividade, sugerindo o uso cuidadoso no consórcio deste predador e o óleo essencial de capim-limão e seus constituintes.

5. REFERÊNCIAS

- Aerts RJ, Mordue AJ. (1997). Feeding deterrence and toxicity of neem triterpenoids. *Journal of Chemical Ecology* 23: 2117–2132.
- Alzogaray RA, Fontán A, Zerba EN. (1997). Evaluation of hyperactivity produced by pyrethroid treatment on third instar nymphs of *Triatoma infestans* (Hemiptera: Reduviidae). *Archives of Insect Biochemistry and Physiology* 35: 323–333.
- Bossou AD, Ahoussi E, Ruysbergh E, Adams A, Smaghe G, De Kimpe N, Félicien A, Sohounhloue DCK, Mangelinckx S. (2015). Characterization of volatile compounds from three *Cymbopogon* species and *Eucalyptus citriodora* from Benin and their insecticidal activities against *Tribolium castaneum*. *Industrial Crops and Products* 76: 306–317.
- Bottega DB, De Souza BHS, Rodrigues, NEL, Eduardo WI, Barbosa JC, Júnior ALB. (2017). Resistant and susceptible tomato genotypes have direct and indirect effects on *Podisus nigrispinus* preying on *Tuta absoluta* larvae. *Biological Control* 106: 27–34.
- Chung H, Sztal T, Pasricha S, Sridhar M, Batterham P, Daborn PJ. (2009). Characterization of *Drosophila melanogaster* cytochrome P450 genes. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 106: 5731–5736.
- Cichero JA, Gualtieri JA, Vaez R, Rios CH, Carcavallo RU. (1985). Fenitrothion (OMS-43) in the control of *Triatoma infestans*, the vector of Chagas disease in Argentina. In *Annales de la Societe Belge de Medecine Tropicale* 65: 181–185.

- Costa AV, Pinheiro PF, Rondelli VM, De Queiroz VT, Tuler AC, Britto KB, Stinguel P, Pratisolli, D. (2013). *Cymbopogon citratus* (Poaceae) essential oil on *Frankliniella schultzei* (Thysanoptera: Thripidae) and *Myzus persicae* (Hemiptera: Aphididae). *Bioscience Journal* 29: 1840–1847.
- Costa G, Ferreira JP, Vitorino C, Pina ME, Sousa JJ, Figueiredo IV, Batista MT. (2016). Polyphenols from *Cymbopogon citratus* leaves as topical anti-inflammatory agents. *Journal of Ethnopharmacology* 178: 222–228.
- Cui S, Wang L, Ma L, Geng X. (2016). P450-mediated detoxification of botanicals in insects. *Phytoparasitica* 44: 585–599.
- Daborn PJ, Yen JL, Bogwitz MR, Le Goff G, Feil E, Jeffers S, Tijet N, Perry T, Heckel D, Batterham P, Feyereisen R, Wilson TG, French-Constant RH. (2002). A single P450 allele associated with insecticide resistance in *Drosophila*. *Science* 297: 2253–2256.
- Dai L, Wang C, Zhang X, Yu J, Zhang R, Chen H. (2014). Two CYP4 genes of the Chinese white pine beetle, *Dendroctonus armandi* (Curculionidae: Scolytinae), and their transcript levels under different development stages and treatments. *Insect Molecular Biology* 23: 598–610.
- Danielson PB, MacIntyre RJ, Fogleman JC. (1997). Molecular cloning of a family of xenobiotic-inducible drosophilid cytochrome P450s: evidence for involvement in host-plant allelochemical resistance. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 94: 10797–10802.
- De Araújo AMN, Faroni LRDA, De Oliveira JV, Navarro DMDAF, Breda MO, De França SM. (2017). Lethal and sublethal responses of *Sitophilus zeamais* populations to essential oils. *Journal of Pest Science* 90: 589–600.

- De Jesus FG, Junior ALB, Alves GC, Zanuncio JC. (2014). Behavior, development, and predation of *Podisus nigrispinus* (Hemiptera: Pentatomidae) on *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae) fed transgenic and conventional cotton cultivars. *Annals of the Entomological Society of America* 107: 601–606.
- De Oliveira HN, Espindula MC, Duarte MM, Pereira FF, Zanuncio JC. (2011). Development and reproduction of *Podisus nigrispinus* (Hemiptera: Pentatomidae) fed with *Thyriniteina arnobia* (Lepidoptera: Geometridae) reared on guava leaves. *Brazilian Archives of Biology and Technology* 54: 429–434.
- Denez MD, Bueno ADF, Pasini A, Bortolotto OC, Stecca CDS. (2014). Biological Parameters of *Podisus nigrispinus* (Hemiptera: Pentatomidae) Fed with Different Soybean Insect Pests. *Annals of the Entomological Society of America* 107: 967–974.
- Ding M, Gao Q, Mo J, Cheng JA. (2007). Construction and validation of an insecticide resistance-associated DNA microarray. *Journal of Pesticide Science* 32: 32–41.
- Dingha BN, Appel AG, Eubanks MD. (2005). Discontinuous carbon dioxide release in the German cockroach, *Blattella germanica* (Dictyoptera: Blattellidae), and its effect on respiratory transpiration. *Journal of Insect Physiology* 51: 825–836.
- Enan E. (2001). Insecticidal activity of essential oils: octopaminergic sites of action. *Comparative Biochemistry and Physiology Part C: Toxicology & Pharmacology* 130: 325–337.

- Ferreira JA, Zanuncio JC, Torres JB, Molina-Rugama AJ. (2008). Predatory behaviour of *Podisus nigrispinus* (Heteroptera: Pentatomidae) on different densities of *Anticarsia gemmatalis* (Lepidoptera: Noctuidae) larvae. *Biocontrol Science and Technology* 18: 711–719.
- Gbenou JD, Ahounou JF, Akakpo HB, Laleye A, Yayi E, Gbaguidi F, Baba-Moussa L, Darboux R, Dansou P, Moudachirou M, Kotchoni SO. (2013). Phytochemical composition of *Cymbopogon citratus* and *Eucalyptus citriodora* essential oils and their anti-inflammatory and analgesic properties on Wistar rats. *Molecular Biology Reports* 40: 1127–1134.
- George J, Robbins PS, Alessandro RT, Stelinski LL, Lapointe SL. (2016). Formic and acetic acids in degradation products of plant volatiles elicit olfactory and behavioral responses from an insect vector. *Chemical senses* 41: 325–338.
- Gerolt P. (1976). The mode of action of insecticides: Accelerated water loss and reduced respiration in insecticide-treated *Musca domestica* L. *Pest Management Science* 7: 604–620.
- Gontijo PC, Neto DOA, Oliveira RL, Michaud JP, Carvalho GA. (2018). Non-target impacts of soybean insecticidal seed treatments on the life history and behavior of *Podisus nigrispinus*, a predator of fall armyworm. *Chemosphere* 191: 342–349.
- Inayat TP, Rana SA, Rana N, Ruby T, Siddiqi MJI, Khan MNA. (2011). Predator-prey relationship among selected species in the croplands of central Punjab, Pakistan. *Pakistan Journal of Agricultural Sciences* 48: 153–157.

- Jusselino-Filho P, Zanuncio JC, Fragoso DB, Serrão JE, Lacerda MC. (2003). Biology of *Brontocoris tabidus* (Heteroptera: Pentatomidae) fed with *Musca domestica* (Diptera: Muscidae) larvae. *Brazilian Journal of Biology* 63: 463–468.
- Kamel F, Hoppin JA. (2004). Association of pesticide exposure with neurologic dysfunction and disease. *Environmental Health Perspectives* 112: 950–958.
- Khan MSA, Ahmad I. (2011). *In vitro* antifungal, anti-elastase and anti-keratinase activity of essential oils of *Cinnamomum*-, *Syzygium*-and *Cymbopogon*-species against *Aspergillus fumigatus* and *Trichophyton rubrum*. *Phytomedicine* 19: 48–55.
- Kwon HW, Kim SI, Chang KS, Clark JM, Ahn YJ. (2014). Enhanced repellency of binary mixtures of *Zanthoxylum armatum* seed oil, vanillin, and their aerosols to mosquitoes under laboratory and field conditions. *Journal of Medical Entomology* 48: 61–66.
- Massango HGLL, Faroni LRA, Haddi K, Heleno FF, Jumbo LV, Oliveira EE. (2017). Toxicity and metabolic mechanisms underlying the insecticidal activity of parsley essential oil on bean weevil, *Callosobruchus maculatus*. *Journal of Pest Science* 90: 723–733.
- Messan K, Kang Y. (2017). A two patch prey-predator model with multiple foraging strategies in predator: applications to insects. arXiv:1511.04388v2
- Michaelakis A, Vidali VP, Papachristos DP, Pitsinos EN, Koliopoulos G, Couladouros EA, Polissiou MG, Kimbaris AC. (2014). Bioefficacy of acyclic monoterpenes and their saturated derivatives against the West Nile vector *Culex pipiens*. *Chemosphere* 96: 74–80.

- Moretti AN, Zerba EN, Alzogaray RA. (2015). Lethal and sublethal effects of eucalyptol on *Triatoma infestans* and *Rhodnius prolixus*, vectors of Chagas disease. *Entomologia Experimentalis et Applicata* 154: 62–70.
- Moura LDA, Grazia J. (2011). Record of *Podisus nigrispinus* (Dallas) (Hemiptera: Pentatomidae) preying on *Metrogaleruca obscura* degeer (Coleoptera: Chrysomelidae). *Neotropical Entomology* 40: 619–621.
- Negahban M, Moharramipour S, Sefidkon F. (2006). Insecticidal activity and chemical composition of *Artemisia sieben* Besser essential oil from Karaj, Iran. *Journal of Asia-Pacific Entomology* 9: 61–66.
- Neves RCDS, Torres JB, Zanuncio JC. (2010). Production and storage of mealworm beetle as prey for predatory stinkbug. *Biocontrol Science and Technology* 20: 1013–1025.
- Nicodemo D, Maioli MA, Medeiros HC, Guelfi M, Balieira KV, De Jong D, Mingatto FE. (2014). Fipronil and imidacloprid reduce honeybee mitochondrial activity. *Environmental Toxicology and Chemistry* 33: 2070–2075.
- Olivero-Verbel J, Nerio LS, Stashenko EE. (2010). Bioactivity against *Tribolium castaneum* Herbst (Coleoptera: Tenebrionidae) of *Cymbopogon citratus* and *Eucalyptus citriodora* essential oils grown in Colombia. *Pest Management Science* 66: 664–668.
- Oluwafemi S, Bruce TJ, Pickett JA, Ton J, Birkett MA. (2011). Behavioral responses of the leafhopper, *Cicadulina storeyi* China, a major vector of maize streak virus, to volatile cues from intact and leafhopper-damaged maize. *Journal of Chemical Ecology*, 37: 40–48.

- Paluch G, Grodnitzky J, Bartholomay L, Coats J. (2009). Quantitative structure–activity relationship of botanical sesquiterpenes: Spatial and contact repellency to the yellow fever mosquito, *Aedes aegypti*. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 57:7618–7625.
- Pandey AV, Flück CE. (2013). NADPH P450 oxidoreductase: structure, function, and pathology of diseases. *Pharmacology & Therapeutics* 138: 229–254.
- Papachristos DP, Stamopoulos DC. (2003). Selection of *Acanthoscelides obtectus* (Say) for resistance to lavender essential oil vapour. *Journal of Stored Products Research* 39: 433–441.
- Pinchin R, De Oliveira Filho AM, Pereira ACB. (1980). The flushing-out activity of pyrethrum and synthetic pyrethroids on *Panstrongylus megistus*, a vector of Chagas's disease. *Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene* 74: 801–803.
- Pimentel MAG, Faroni LRDA, Tótola MR, Guedes RNC. (2007). Phosphine resistance, respiration rate and fitness consequences in stored-product insects. *Pest Management Science* 63: 876–881.
- Price NR. (1984). Active exclusion of phosphine as a mechanism of resistance in *Rhyzopertha dominica* (F.) (Coleoptera: Bostrychidae). *Journal of Stored Products Research* 20: 163–168.
- Poderoso JCM, Correia-Oliveira ME, Chagas TX, Zanuncio JC, Ribeiro GT. (2016). Effects of plant extracts on developmental stages of the predator *Podisus nigrispinus* (Hemiptera: Pentatomidae). *Florida Entomologist* 99: 113–116.

- Ryglewski S, Duch C, Altenhein B. (2017). tyramine actions on *Drosophila* flight behavior are affected by a glial dehydrogenase/reductase. *Frontiers in Systems Neuroscience* 11: 68.
- Samarasekera R, Kalhari KS, Weerasinghe IS. (2006). Insecticidal activity of essential oils of *Ceylon Cinnamomum* and *Cymbopogon species* against *Musca domestica*. *Journal of Essential Oil Research* 18: 352–354.
- Santin MR, dos Santos AO, Nakamura CV, Dias Filho BP, Ferreira ICP, Ueda-Nakamura T. (2009). In vitro activity of the essential oil of *Cymbopogon citratus* and its major component (citral) on *Leishmania amazonensis*. *Parasitology Research* 105: 1489–1496.
- Siegwart M, Graillet B, Blachere Lopez C, Besse S, Bardin M, Nicot PC, Lopez-Ferber M. (2015). Resistance to bio-insecticides or how to enhance their sustainability: a review. *Frontiers in Plant Science* 6: 381.
- Singh V, Yadav KS, Tripathi AK, Tandon S, Yadav NP. (2016). Exploration of various essential oils as fumigant to protect stored grains from insect damage. *Annals of Phytomedicine-an International Journal* 5: 87–90.
- Tak JH, Isman MB. (2016). Metabolism of citral, the major constituent of lemongrass oil, in the *cabbage looper*, *Trichoplusia ni*, and effects of enzyme inhibitors on toxicity and metabolism. *Pesticide Biochemistry and Physiology* 133: 20–25.
- Tedeschi R, Alma A, Tavella L. (2001). Side-effects of three neem (*Azadirachta indica* A. Juss) products on the predator *Macrolophus caliginosus* Wagner (Het., Miridae). *Journal of Applied Entomology* 125: 397–402.

- Tooming E, Merivee E, Must A, Sibul I, Williams I. (2014). Sub-lethal effects of the neurotoxic pyrethroid insecticide Fastac® 50EC on the general motor and locomotor activities of the non-targeted beneficial carabid beetle *Platynus assimilis* (Coleoptera: Carabidae). *Pest Management Science* 70: 959–966.
- Torres JB, Evangelista WS, Barras R, Guedes RNC. (2002). Dispersal of *Podisus nigrispinus* (Het., Pentatomidae) nymphs preying on tomato leaf miner: effect of predator release time, density and satiation level. *Journal of Applied Entomology* 126: 326–332.
- Wu XM, Xu BY, Si FL, Li J, Yan ZT, Yan ZW, Chen B. (2017). Identification of carboxylesterase genes associated with pyrethroid resistance in the malaria vector *Anopheles sinensis* (Diptera: Culicidae). *Pest Management Science* 74: 159–169.
- Zanuncio JC, Zanuncio TV, Guedes RNC, Ramalho FS. (2000). Effect of feeding on three *Eucalyptus* species on the development of *Brontocoris tabidus* (Het.: Pentatomidae) fed with *Tenebrio molitor* (Col.: Tenebrionidae). *Biocontrol Science and Technology* 10: 443–450.
- Zanuncio JC, Silva CADD, Lima ERD, Pereira FF, Ramalho FDS, Serrão JE. (2008). Predation rate of *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae) larvae with and without defense by *Podisus nigrispinus* (Heteroptera: Pentatomidae). *Brazilian Archives of Biology and Technology* 51: 121-125.
- Zanuncio JC, Tavares WDS, Fernandes BV, Wilcken CF, Zanuncio TV. (2014). Production and use of Heteroptera predators for the biological control of *Eucalyptus* pests in Brazil. *Ekoloji* 23: 98–104.

- Zanuncio JC, Mourão SA, Martínez LC, Wilcken CF, Ramalho FS, Plata-Rueda A, Soares M.A. Serrão JE. (2016). Toxic effects of the neem oil (*Azadirachta indica*) formulation on the stink bug predator, *Podisus nigrispinus* (Heteroptera: Pentatomidae). *Scientific reports* 6: 30261.
- Zanuncio JC, Lacerda MC, Alcántara-de la Cruz R, Brügger BP, Pereira AI, Wilcken, CF, Serrão JE, Sedyama CS. (2018). Glyphosate-based herbicides toxicity on life history parameters of zoophytophagous *Podisus nigrispinus* (Heteroptera: Pentatomidae). *Ecotoxicology and Environmental Safety* 147: 245–250.
- Zheng G, Kenney PM, Lam LKT. (1993). Potential anticarcinogenic natural products isolated from lemongrass oil and galanga root oil. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 41: 153–156.

CONCLUSÕES GERAIS

O óleo de capim-limão e seus constituintes, acetato de geranila e citral causaram efeitos letais em *A. gemmatalis* e subletais como a redução da atividade respiratória e alteração na atividade locomotora e repelência representada pelas faixas de caminamento, portanto, este óleo é efetivo no controle de lagartas de *A. gemmatalis*.

A taxa de sobrevivência das ninfas quarto e quinto instar de *P. nigrispinus* em óleo de capim-limão e seus constituintes, acetato de geranila e citral e toxicidade baixa dos seus constituintes sugeriu um grau de tolerância. O acetato de geranila e o citral comprometeram a taxa de respiração de ninfas de terceiro instar de *P. nigrispinus* e segundo as respostas comportamentais das ninfas o acetato de geranila foi repelente, reduzindo sua mobilidade em áreas tratadas e o citral causou hiperatividade, sugerindo o uso cuidadoso no controle de pragas.

Óleos essenciais e seus constituintes são eficientes no controle de pragas, porém os consórcios com a utilização de inimigos naturais devem ser realizados com cautela.