

**UNIVERSIDADE FEDERAL DOS VALES DO JEQUITINHONHA E MUCURI
INSTITUTO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS - ICA
CURSO DE AGRONOMIA**

**D-LIMONENO COMBINADO COM *BACILLUS THURINGIENSIS* NO MANEJO DE
SPODOPTERA FRUGIPERDA (SMITH, 1797) (LEPIDOPTERA: NOCTUIDAE)**

**Unai
2023**

Sérgio Shigueo Omura

**D-LIMONENO COMBINADO COM *BACILLUS THURINGIENSIS* NO MANEJO DE
SPODOPTERA FRUGIPERDA (SMITH, 1797) (LEPIDOPTERA: NOCTUIDAE)**

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado ao Instituto de Ciências Agrárias da Universidade Federal dos Vales do Jequitinhonha e Mucuri, como requisito para obtenção do título de Engenheiro Agrônomo.

Orientador: Prof. Dr. Sérgio Macedo Silva
Coorientador: Prof. Dr. Paulo Roberto Ramos
Barbosa

Unai

2023

Sérgio Shigueo Omura

**D-LIMONENO COMBINADO COM *BACILLUS THURINGIENSIS* NO MANEJO
DE *SPODOPTERA FRUGIPERDA* (SMITH, 1797) (LEPIDOPTERA: NOCTUIDAE)**

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado ao Instituto de Ciências Agrárias da Universidade Federal dos Vales do Jequitinhonha e Mucuri, como requisito para obtenção do título de Engenheiro Agrônomo.

Orientador: Prof. Dr. Sérgio Macedo Silva

Data de aprovação 19/12/2023.

Prof. Dr. Sérgio Macedo Silva
Instituto de Ciências Agrárias - UFVJM

Prof. Dr. Paulo Roberto Ramos Barbosa
Instituto de Ciências Agrárias - UFVJM

Prof. Dr. Alessandro Nicoli
Instituto de Ciências Agrárias - UFVJM

Unai
2023

RESUMO

Com foco em alternativas para o melhor controle de *Spodoptera frugiperda*, dentro do manejo integrado, pesquisas vêm comprovando a eficiência da utilização de compostos naturais para a reduzir o surgimento de resistência da lagarta, sendo essa característica a principal consequência do uso intensivo de defensivos químicos convencionais. Por outro lado, o sinergismo é a combinação de inseticidas com diferentes modos de ação, capaz de potencializar a ação de cada molécula, promovendo uma barreira ao desenvolvimento de resistência de pragas. Diante disso, a combinação de compostos naturais e microorganismos entomopatogênicos pode promover eficácia de controle de pragas, no entanto, necessita de maiores estudos. Portanto, o presente trabalho avaliou a toxicidade do d-limoneno associado ao *Bacillus thuringiensis* no controle de *S. frugiperda*. A pesquisa foi desenvolvida no Laboratório de Entomologia Agrícola do Instituto de Ciências Agrárias, pertencente à UFVJM, Campus Unai. Foi estabelecida uma população de lagartas em laboratório para condução de estudos de toxicidade. Uma gama de diluição dos produtos foi realizada e em seguida aplicada sobre os insetos, com o objetivo de se obter a curva dose-resposta para cada produto. Após a determinação da letalidade das concentrações isoladas do óleo e do *B. thuringiensis*, e visando a determinação do potencial sinérgico entre os produtos, foram estabelecidas várias combinações binárias. O d-limoneno causou alta toxicidade para *S. frugiperda*, sendo que a partir da concentração de 2% do produto, constatou-se mortalidade de lagartas. Para o *B. thuringiensis*, foi obtida a concentração letal (CL50) com 12,5%. A mistura dos produtos *in vitro* resultou em um menor controle de lagartas e redução do potencial inseticida, diante de maiores concentrações do d-limoneno. Nos testes de campo, a aplicação de d-limoneno reduziu o número de lagartas nas parcelas experimentais e sua associação com *B. thuringiensis* promoveu alta mortalidade quando utilizada as concentrações de 8,5% de d-limoneno e 100% de *B. thuringiensis*. A associação dos produtos poderá resultar em uma eficiente ferramenta para controle de insetos no campo. Mais estudos deverão ser efetuados para avaliar o comportamento dos produtos em mistura.

Palavras-chave: Lagarta do cartucho; terpenoides; Microorganismos entomopatogênicos; Sinergismo; Manejo da resistência; toxicidade

ABSTRACT

Focusing on alternatives for better control of *Spodoptera frugiperda*, within integrated management, research has proven the efficiency of using natural compounds to reduce the development of resistance, this characteristic being the main consequence of the intensive use of chemical pesticides conventional. On the other hand, synergism is the combination of insecticides with different modes of action, capable of enhancing the action of each molecule, promoting a barrier to the development of pest resistance. Therefore, the combination of natural compounds and entomopathogenic microorganisms can promote effective pest control, however, it requires further studies. Therefore, the present work evaluated the toxicity of d-limonene associated with *Bacillus thuringiensis* in the control of *S. frugiperda*. The research was carried out at the Agricultural Entomology Laboratory of the Institute of Agricultural Sciences, belonging to UFVJM, Campus Unai. A population of caterpillars was assembled in the laboratory to conduct in vitro toxicity studies. A range of product dilutions was carried out and then applied to insects, with the aim of obtaining the dose-response curve for each product. After determining the lethality of the isolated concentrations of the oil and *B. thuringiensis* and aiming to determine the synergistic potential between the products, several binary combinations were established. d-limonene caused high toxicity for *S. frugiperda*, and from a concentration of 2% of the product, mortality of caterpillars was observed. For *B. thuringiensis*, the lethal concentration (LC50) was obtained at 12.5%. Mixing the products in vitro resulted in less control of caterpillars and reduced insecticidal potential, given higher concentrations of d-limonene. In field tests, the application of d-limonene reduced the number of caterpillars in experimental plots, and its association with *B. thuringiensis* promoted high mortality when concentrations of 8.5% d-limonene and 100% *B. thuringiensis* were used. The combination of products could result in an efficient tool for controlling insects in the field. More studies should be carried out to evaluate the behavior of the mixed products.

Keywords: 1. Fall armyworm; terpenoids; Entomopathogenic microorganisms; Synergism; Resistance management; toxicity

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	2
2. OBJETIVO	3
3. MATERIAL E MÉTODOS	3
4. RESULTADOS E DISCUSSÃO	9
5. CONSIDERAÇÕES FINAIS	14
REFERÊNCIAS	15

1. INTRODUÇÃO

O milho (*Zea mays L.*) é o principal cereal produzido no Brasil. No entanto, diversos fatores podem comprometer sua produtividade, sendo a lagarta-do-cartucho, *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith, 1797) (Lepidoptera: Noctuidae), um dos principais fatores biológicos mais limitantes de cultivos não transgênicos.

O ciclo total da *S. frugiperda* pode durar cerca de 30 dias, a uma temperatura média de 25°C, e em temperaturas mais amenas, pode variar entre um período de 60 dias na primavera, e 80 a 90 dias no inverno (SANTOS, 2012). Os ovos apresentam coloração cinza, são colocados em camadas e são protegidos por escamas deixadas pelas fêmeas. A eclosão pode-se dar de 3 a 4 dias após a oviposição (CRUZ et al., 2008). O período larval varia de 15 a 25 dias, com 4 a 7 instares dependendo da temperatura, da planta hospedeira, do sexo e do biótipo (OMOTO et al., 2013). Já as pupas são de coloração marrom-avermelhada, são encontradas no solo e podem durar de 8 a 25 dias (PINTO; PARRA; OLIVEIRA, 2004). Por último, a mariposa pode apresentar 35 mm de envergadura, sua longevidade é de, aproximadamente, 10 dias (CAPINEIRA, 2008) (Figura 1).



Figura 1. Fases do ciclo de *Spodoptera frugiperda* (ovos, larvas, pupas e adultos) (Omura, 2023).

A aplicação exclusiva do controle químico para esta praga tem encontrado dificuldades, devido ao rápido desenvolvimento de resistência aos inseticidas convencionais. Logo, a aplicação de microrganismos entomopatogênicos tem crescido nos últimos anos, por demonstrar boa eficácia no controle, e ainda serem ambientalmente mais seguros (SHAHZAD et al., 2021).

Somado a isso, no mundo todo, tem-se aumentado a busca por mais alternativas ao controle químico, sendo uma delas a aplicação de óleos essenciais (terpenoides, como exemplo o limoneno). Tais óleos podem apresentar neurotoxicidade aguda às lagartas e causar alta mortalidade (SILVA et al., 2017). São produtos com alto potencial de interferência tóxica em

processos bioquímicos básicos, com consequências fisiológicas e comportamentais irreversíveis nos insetos (MONTEIRO et al., 2021). E ainda, são moléculas biodegradáveis, podem associar-se a outros agentes de controle, são ambientalmente seguros e possivelmente serem utilizados em outras culturas.

Mais recentemente, o sinergismo, isto é, a combinação de inseticidas com diferentes modos de ação, surgiu como uma grande ferramenta para o Manejo Integrado de Pragas, garantindo maior sucesso no controle, por potencializar a ação de cada molécula, promovendo, conseqüentemente, uma maior barreira ao desenvolvimento de resistência de pragas (KHANN et al., 2013).

A associação de organismos biológicos e os produtos naturais têm ganhado cada vez mais espaço, pela eficiência de controle que podem proporcionar, por não representarem risco de desenvolvimento de resistência pelos insetos de forma tão rápida, como ocorre com a aplicação exclusiva de moléculas inseticidas.

Por atuarem em diferentes modos de ação nos insetos, essa combinação é capaz de impedir o funcionamento do seu sistema enzimático de defesa e desintoxicação, e ainda, sendo a sua adoção mais vantajosa por utilizar doses menores às recomendadas para cada produto separadamente. Especificamente para *S. frugiperda*, não existem estudos que avaliaram a combinação de um microrganismo entomopatogênico, como o *Bacillus thuringiensis*, e o óleo essencial derivado da casca da laranja, contendo d-limoneno.

2. OBJETIVO

Avaliar a eficácia do óleo essencial d-limoneno associado ao *B. thuringiensis* no manejo da lagarta-do-cartucho do milho (*Spodoptera frugiperda*, Smith 1797).

3. MATERIAL E MÉTODOS

A pesquisa foi desenvolvida no Laboratório de Entomologia Agrícola, situado no Instituto de Ciências Agrárias, pertencente à Universidade Federal dos Vales do Jequitinhonha e Mucuri - UFVJM, Campus Unaí, Minas Gerais.

As lagartas utilizadas foram obtidas através de uma criação estoque em laboratório, iniciada através de populações de insetos doadas pela empresa Corteva Agriscience, que as coletou em campo, nos estados da Bahia, Goiás, Paraná e Minas Gerais. Também foram coletadas populações de adultos de *S. frugiperda* em plantios de milho na Fazenda Experimental

Santa Paula, pertencente à UFVJM, Campus Unaí. A área experimental citada está situada a uma altitude de 600 metros, com acesso pela rodovia MG 188, na Av. Universitária, s/n, Campus da UFVJM em Unaí, sob coordenadas geográficas 16°44'28,46"S de latitude e 46°90'15,96"O de longitude.

Devido ao comportamento defensivo (canibalismo) de *S. frugiperda*, cada lagarta inicialmente coletada, foi individualizada em potes descartáveis de 300 mL, com tampa e microfuros para circulação de ar. Diariamente, foi fornecida 20 cm² de folhas de milho convencional ou dieta alimentar produzida em laboratório, seguindo metodologia de Parra e Carvalho (1984) (Figura 2 e 3).

Com a individualização das lagartas, os potes foram acondicionados no Laboratório de Entomologia, a 25±2°C, 60±10% de umidade relativa e fotofase de 12 horas. Em seguida, até o desenvolvimento completo da lagarta e mudança para a fase de pupa, a dieta foi renovada diariamente para evitar contaminações. As lagartas, ao atingirem a fase de pupa, foram acondicionadas em placa de Petri contendo papel filtro e mantidas dentro de gaiolas teladas, nas mesmas condições ambientais (Figura 4).

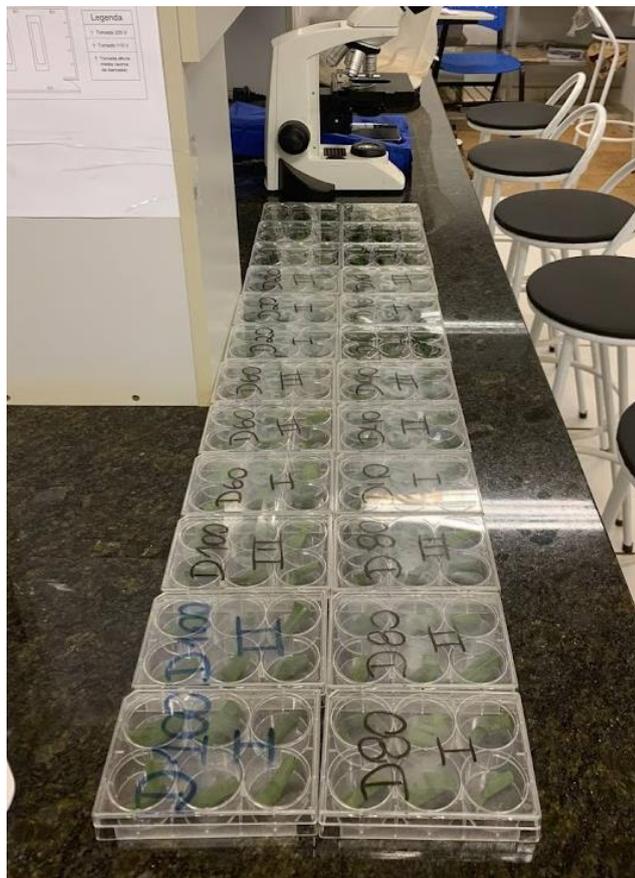


Figura 2. Lagartas em placas de cultura celular previamente aos testes de toxicidade com produtos e dieta natural com folhas de milho.



Figura 3. Esterilização de dieta artificial em câmara de fluxo e luz UV, em placas de cultura celular previamente ao alojamento de lagartas para os bioensaios.

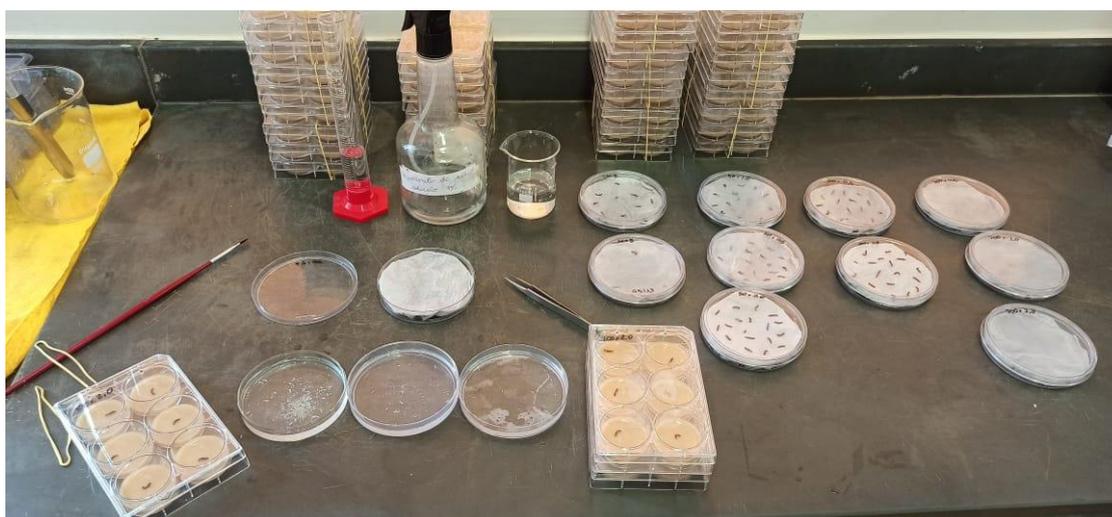


Figura 4. Lagartas com dieta em placas de cultura celular previamente aos testes de toxicidade com produtos.

Os insetos adultos foram mantidos em gaiolas cilíndricas, alimentados com mel e levedo de cerveja, e as formas jovens foram mantidas em potes transparentes, contendo dieta alimentar, conforme metodologia de Parra e Carvalho (1984). A fim de se determinar a toxicidade aguda do d-limoneno (Quinari[®], pureza 96,9%) para *S. frugiperda*, foram realizados bioensaios do tipo dose-resposta com larvas de 3^o instar, conforme adaptação da metodologia proposta por OECD-OCDE (1998). As soluções contendo d-limoneno foram preparadas em mistura

contendo água + adjuvante Tween 80 (1:0,05), totalizando oito tratamentos, nas concentrações de 0,5%, 1%, 2%, 5%, 10%, 15%, 25% e 50% do óleo essencial. Quanto às lagartas que sobreviveram aos testes de toxicidade com d-limoneno, procedeu-se a medição de seu tamanho, para verificar possíveis efeitos subletais no crescimento dos indivíduos.

Também foram realizados testes de toxicidade com *B. thuringiensis*, utilizando o produto comercial Xentari® (composição: esporos de *B. thuringiensis subsp. anzawai* GC – 91, Sumitomo, 540 gL⁻¹) registrado para uso agrícola no MAPA. Foram preparados seis tratamentos utilizando 3,35 gL⁻¹ do seu produto comercial, como dosagem inicial, conforme recomendação indicada em bula para *S. frugiperda*, obtendo-se assim, através de diluição seriada, os tratamentos com as concentrações de 2,5%, 5,0%, 12,5%, 25%, 50% e 100% de *B. thuringiensis*, juntamente ao tratamento controle, contendo apenas água. Para cada um dos tratamentos realizados, foram utilizadas 24 lagartas de 3º instar (Figura 5).

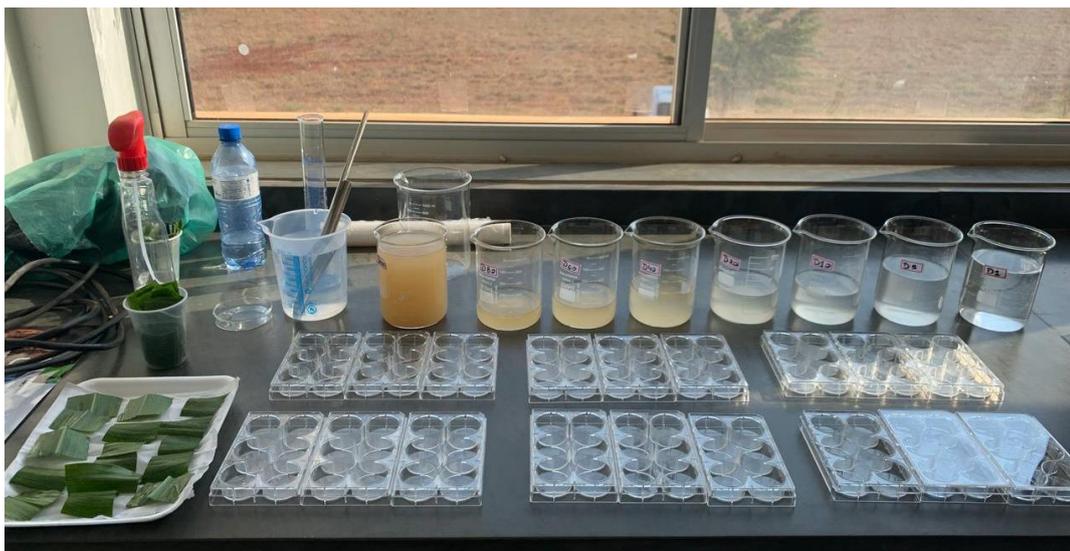


Figura 5. Preparo de placas e diluições para os testes de toxicidade com *Bacillus thuringiensis* in vitro.

Os insetos foram acondicionados em placas de cultura celular contendo seis poços, e mantidos em temperatura ambiente de ± 25 °C e ciclos de claro/escuro de 12 h. Em cada placa celular, acrescentou-se 25 g da dieta. Para avaliação da toxicidade do óleo essencial, os insetos receberam aplicação tópica e ingestão de 1 μ L de cada concentração do óleo. Para os tratamentos com o *B. thuringiensis*, acrescentou-se 100 μ L sobre a dieta, espalhando com bastão de vidro. Para o d-limoneno, a mortalidade foi avaliada 24 h e 48 h após as aplicações. Para o *B. thuringiensis*, a mortalidade foi avaliada até 96 h após as aplicações.

Após a determinação da letalidade das concentrações isoladas do óleo essencial e do *B. thuringiensis*, e visando a determinação do potencial sinérgico entre os produtos, foram estabelecidas, para estudo, as seguintes combinações binárias: 12,5% x 12,5%, 12,5% x 25%, 12,5% x 50%, 25% x 12,5%, 25% x 25%, 25% x 50%, 50% x 12,5%, 50% x 25%, 50% x 50% do inseticida Xentari® e d-limoneno, respectivamente. As avaliações de mortalidade das combinações ocorreram até 96 h após as aplicações.

Na área experimental da Fazenda Santa Paula, foi realizado um ensaio de campo para avaliação da eficácia biológica do d-limoneno associado ao inseticida biológico, no controle da lagarta-do-cartucho. O híbrido de milho convencional (BAYER 3510RR2, não BT) foi semeado em uma área de 1 mil m², durante a primeira safra de 2021/2022, em linhas de cultivo espaçadas por 0,5 m e densidade populacional de 70 mil plantas ha⁻¹. Foi realizada uma adubação na linha de cultivo do formulado NPK 8-28-16, na dose de 280 kg ha⁻¹, de acordo com exigência da cultura (Figura 6).

O delineamento experimental utilizado foi de blocos ao acaso (DBC), com cinco tratamentos e cinco repetições, totalizando 25 parcelas. Cada parcela foi constituída de 20 m², sendo 8 linhas de plantas com 5,0 m de comprimento cada. Como parcela útil para as avaliações de eficácia biológica, foram consideradas as 4 linhas centrais, desprezando-se 0,5 m de cada extremidade.



Figura 6. Ensaio instalado na Fazenda Experimental Santa Paula com a cultura do milho para testes de eficácia de inseticidas, após ensaios no laboratório.

Os tratamentos de campo foram compostos por semelhantes combinações entre o d-limoneno e o inseticida biológico, conforme a seguir: 100% Xentari, 100% Xentari + 8,5% d-limoneno, 50% Xentari + 8,5% d-limoneno, 8,5% d-limoneno e controle (testemunha sem aplicação), obtidas anteriormente nos testes in vitro, mas que tenham atingido maior eficácia de controle.

Para aplicação dos tratamentos, foi utilizado um pulverizador costal acionado por pressão constante (CO₂), com quatro pontas espaçadas entre si por 0,5 m, tipo leque simples (Magnojet 11005). Foi adotada a pressão de 3 bar (300 Kpa) em todos os tratamentos, (3,6 km h⁻¹, e taxa de aplicação de 135L ha⁻¹. Durante as aplicações, as condições ambientais foram monitoradas por meio de um termo-higro-anemômetro digital (Akrom®) (Figura 7).

Previamente às aplicações, foi realizada a avaliação na área experimental para a caracterização quanto à presença do inseto alvo. Para isso, foram amostradas 5 plantas por parcela, nas quais arrancou-se o cartucho (folhas internas que ainda não estavam completamente abertas), para contagem do número de lagartas e caracterização do tamanho das lagartas. Além disso, foram escolhidas aleatoriamente 20 plantas da área útil da parcela, para atribuir-lhes notas visuais de 0 a 9 para avaliação de dano visual, de acordo com a metodologia de Fernandes et al. (2003) e com a escala adaptada de Davis et al. (1992) (Figura 7).



Figura 7. Contagem do número de lagartas e aplicação da escala de dano foliar.

A partir da nota de dano visual e do número de lagartas por plantas, foram realizadas as aplicações dos tratamentos. Após a 1ª aplicação (DAA), a avaliação quanto à presença das lagartas foi realizada novamente aos três e sete dias, utilizando-se a mesma metodologia da avaliação prévia.

Os dados de eficácia de controle de insetos pragas foram, primeiramente, submetidos aos testes de normalidade de distribuição dos resíduos de Shapiro Wilk, e homogeneidade das variâncias de Levene. Em seguida, após a realização da análise de variância, procedeu-se a comparação das médias pelo teste de Scott-Knott, a 0,05 de significância.

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

A aplicação de d-limoneno apresentou atividade inseticida contra *S. frugiperda*, na maioria das concentrações avaliadas, ocorrendo letalidade a partir de 2 % (equivalente $16,6 \mu\text{g} \mu\text{L}^{-1}$) (Figura 8). No tratamento controle, não foi verificada mortalidade de larvas.

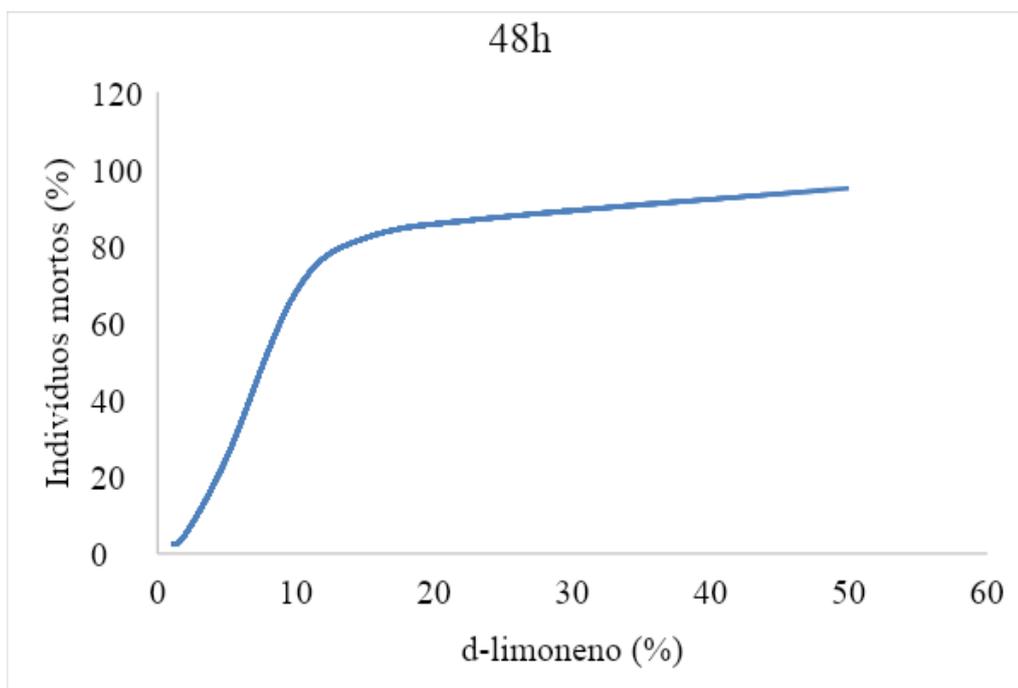


Figura 8. Mortalidade de larvas de 3º instar de *S. frugiperda*, 48 horas após aplicação de diferentes concentrações de d-limoneno, *in vitro*.

Após 48 h, nas diferentes concentrações do óleo essencial, a mortalidade diferiu-se significativamente do tratamento controle, sendo crescente com o aumento da concentração. A

partir de 8,5 % de concentração do óleo, a mortalidade foi de aproximadamente 50 % das lagartas (DL₅₀), atingindo 100 % de mortalidade, a partir de 50 % de concentração do óleo.

Os insetos que receberam a aplicação tópica de d-limoneno, nas maiores concentrações, apresentaram comportamento de “knock-down” (efeito choque), reduzindo sua atividade alimentar e conseqüentemente, morte.

Niculau et al. (2013) constatou também alta toxicidade do óleo essencial de erva-cidreira (*Lippia alba*) que apresenta em 36 % de limoneno e 54,8 % de carvona como componentes majoritários, expondo resultados de DL₅₀ de 1,20 µg mg⁻¹ de inseto e DL₉₀ de e 3,08 µg mg⁻¹ de inseto para *S. frugiperda*, via aplicação tópica, comprovando a ação inseticida destes compostos, obtendo mortalidade aproximada de 90 %, embora a alta mortalidade tenha sido associada principalmente à presença da carvona.

Crescente doses de d-limoneno proporcionaram redução de tamanho de insetos sobreviventes da aplicação (Figura 9), sendo observada uma drástica redução no tamanho de lagartas que receberam doses até 15% da concentração. Tal fato indica que este composto pode apresentar efeitos subletais para indivíduos que se apresentarem resistentes ao inseticida.

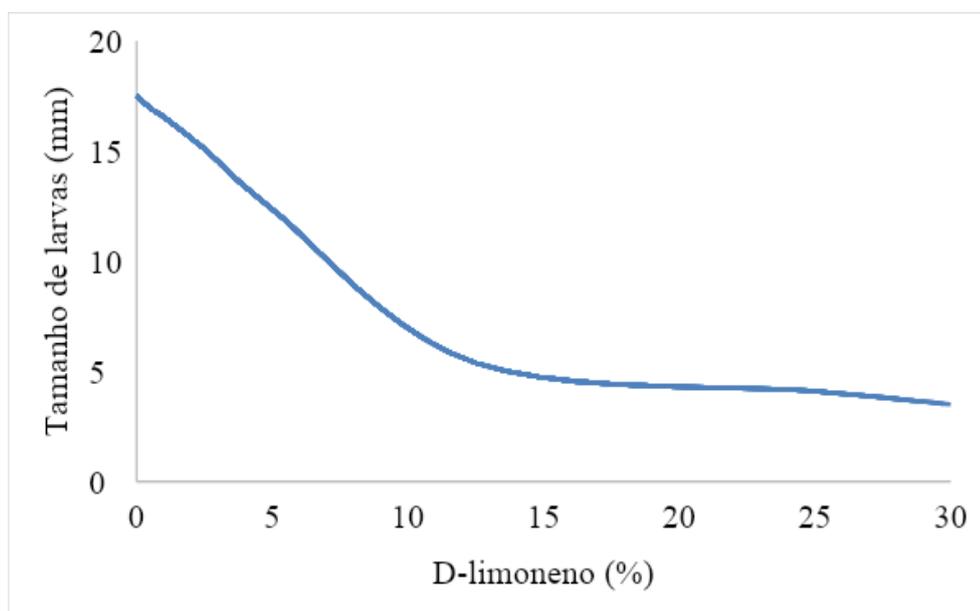


Figura 9. Tamanho de lagartas de *S. frugiperda*, sobreviventes da aplicação de diferentes doses de d-limoneno, *in vitro*.

Para o *B. thuringiensis*, dentre as seis concentrações testadas, houve mortalidade acima de 50 % de larvas, a partir da concentração de 12,5 %, o equivalente a 0,41 gL⁻¹ de Xentari (em

relação à dose recomendada), expressando alta toxicidade (Figura 10). Nenhuma mortalidade foi observada no tratamento controle.

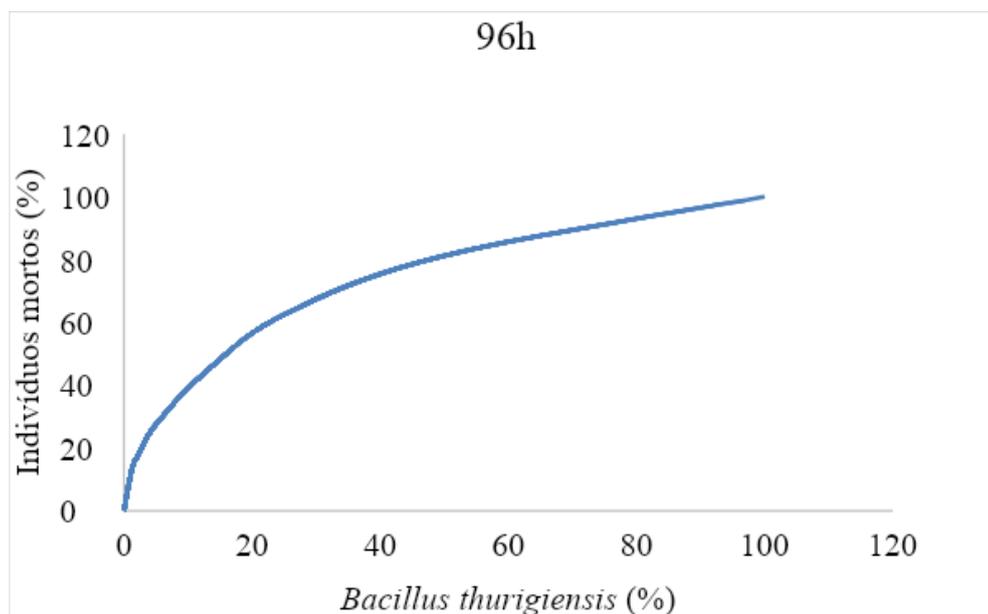


Figura 10. Mortalidade de larvas de 3º instar de *S. frugiperda*, 96 horas após aplicação, por meio da dieta, de diferentes concentrações de Xentari (*Bacillus thuringiensis* subsp. *anzawai* GC – 91, Sumitomo, 540 g L⁻¹), *in vitro*.

A aplicação do microrganismo entomopatogênico causou mortalidade de forma mais lenta, já que seus efeitos estão relacionados à ingestão de proteínas cristalinas produzidas pelo *B. thuringiensis*. A ingestão de tais cristais leva à destruição da membrana do intestino médio dos insetos, e conseqüentemente, sua paralisia e morte. Neste caso, os insetos não apresentaram alteração comportamental como o efeito “knock-down”.

Com relação à combinação dos inseticidas (Tabela 1), a maior eficácia de controle foi obtida nas concentrações de 12,5 % x 50 %, seguida pela combinação 12,5 % x 25 % de d-limoneno e *B. thuringiensis*, respectivamente.

Nestas combinações, quando as concentrações de d-limoneno foram superiores a 12,5%, foi obtido uma redução da mortalidade de lagartas, mesmo em maiores concentrações do Xentari. Isso pode indicar um possível efeito antagônico entre os produtos e redução do potencial inseticida de ambos, quando as concentrações de d-limoneno são altas, fato evidenciado, principalmente, quando se observa o menor controle de lagartas, na combinação de 50 % de concentração de ambos os produtos.

Knaak et al. (2010) apesar de não ter avaliado diferentes doses, estudou a associação de *B. thuringiensis*, utilizando Xentari, com diferentes extratos vegetais de plantas aromáticas. Esses autores obtiveram mortalidade de larvas de *S. frugiperda*, porém com menores alterações intestinais (e mais lentas), quando foram utilizados extratos de *C. citratus*, espécie aromática composta por terpenoides semelhantes ao d-limoneno, em relação aos outros extratos vegetais testados.

Tabela 1. Mortalidade de larvas de 3º instar de *S. frugiperda* após intoxicação com diferentes combinações de d-limoneno (óleo essencial) e *B. thuringiensis* (ingrediente ativo), *in vitro*.

d-limoneno	<i>Bacillus thuringiensis</i>	Mortalidade (%)
Concentração (%)	Concentração (%)	48h
12,5	12,5	48,68c*
12,5	25,0	56,12b
12,5	50,0	74,68a
25,0	12,5	17,93f
25,0	25,0	6,50g
25,0	50,0	43,12d
50,0	12,5	37,56e
50,0	25,0	6,06g
50,0	50,0	5,93g
Controle		0,00
P		0,000*
CV (%)		2,11

*Médias seguidas por letras distintas se diferem pelo Teste de Scott-Knott a 5 % de probabilidade; P: valor da probabilidade; CV (%): coeficiente de variação.

Conforme Tabela 2, no teste de campo, houve redução do número e do tamanho de lagartas em todos os tratamentos comparado à primeira avaliação, antes da aplicação, à exceção do tratamento controle.

Tabela 2. Número e tamanho médio de lagartas da espécie *S. frugiperda*, contabilizadas no ensaio de milho, antes e após as aplicações dos tratamentos, na Fazenda Experimental Santa Paula, UFVJM, 2023.

Inseticidas	Número de lagartas por planta		Tamanho de lagartas (cm)	
	Antes da aplicação (v8)	Após a aplicação (v10)	Antes da aplicação (v8)	Após a aplicação (v10)
Controle	0,76	1,75c	1,16	1,94c
8,5% limoneno	0,73	0,21a	1,06	0,32a
100% Xentari	0,80	0,24a	0,92	0,28a
100% Xentari + 8,5% limoneno	0,77	0,23a	0,85	0,23a
50% Xentari + 8,5% limoneno	0,78	0,52b	0,99	0,65b
CV (%)	25,44	38,75	45,99	44,98
P _{valor}	0,7761 ^{ns}	0,0000*	0,8766 ^{ns}	0,000*

*Médias seguidas por letras distintas na coluna se diferem pelo Teste de Scott-Knott, a 5% de probabilidade.

Após a aplicação, no estágio v10, a testemunha apresentou um aumento na quantidade média de lagartas, diferentemente dos outros tratamentos, que apresentaram uma significativa redução.

O óleo essencial limoneno, assim como outros óleos com efeitos biológicos para os insetos, apresenta atuação de forma neurotóxica, levando à inibição da enzima acetilcolinesterase, durante as sinapses nervosa. Mesmo sendo uma rota já sensibilizada por muitos inseticidas neurotóxicos, acredita-se que a rápida ação do limoneno e sua grande absorção no organismo dos insetos dificultou a reversão deste mecanismo celular, e conseqüentemente, a sobrevivência das formas jovens de *S. frugiperda*. Após sua aplicação, foram observados sinais evidentes de hiperexcitação, agitação extrema, paralisia e morte dos indivíduos tratados.

Conforme Mattos et al. (2021) a utilização de óleos essenciais no controle das pragas do milho, no uso individual ou em conjunto com outros componentes ativos, apresenta comprovação positiva nas funções inseticidas e repelentes.

O inseticida Xentari, conforme evidenciado pelos resultados de controle, promoveu mortalidade de lagartas e grande queda no número de indivíduos, nas condições de campo. Seu mecanismo de ação está associado à infecção do trato intestinal das larvas, levando-as à morte.

A combinação da maior dose do inseticida biológico com o d-limoneno resultou em controle eficaz de lagartas, apesar da taxa de mortalidade de lagartas na combinação de 50% de Xentari com 8,5% de limoneno ter sido inferior, o que indica um leve efeito de incompatibilidade entre os produtos.

No experimento de Sousa (2018), com aplicação de inseticidas químicos e biológicos, ao longo do ciclo da cultura de milho, demonstrou-se que ambos os inseticidas para o controle de *S. frugiperda* foram eficazes.

A associação do limoneno com o Xentari, pelos resultados obtidos, permite afirmar que os dois mecanismos de ação destes produtos associados é um entrave ainda maior para o rápido desenvolvimento de resistência de lagartas, indicando que o sinergismo entre produtos é uma ferramenta valiosa e potente, e poderá contribuir, de forma grandiosa, para a redução dos danos causados por essa praga.

5. CONSIDERAÇÕES FINAIS

O d-limoneno apresentou toxicidade aguda para *S. frugiperda*, utilizando DL₅₀ de 8,5 %, in vitro e no campo.

O *B. thuringiensis* apresentou toxicidade aguda para a mesma lagarta, utilizando CL₅₀ de 12,5 %, em até 96 h após a aplicação, in vitro e no campo.

A associação dos inseticidas d-limoneno e *B. thuringiensis*, in vitro, nas concentrações de 12,5 % x 50%, respectivamente, resultou em alta toxicidade para larvas de *S. frugiperda*.

A combinação de d-limoneno e *B. thuringiensis* no campo, nas concentrações de 8,5% x 100%, respectivamente, resultou em alta mortalidade de lagartas.

Concentrações acima de 12% de d-limoneno podem causar redução de mortalidade de larvas, in vitro, mesmo com altas concentrações do Xentari.

No campo, a combinação apresentou alta toxicidade a *S. frugiperda*, sendo, portanto, uma eficiente ferramenta para o controle sustentável da lagarta, bem como eficiente estratégia para o manejo integrado de pragas.

Mais estudos in vitro e em campo devem ser realizados com estes inseticidas, incluindo testes de compatibilidade, para avaliar o manejo eficaz dos inseticidas e disponibilizar uma ferramenta inseticida sustentável para a agricultura.

REFERÊNCIAS

CAPINEIRA, J.L. Lagarta do cartucho, *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith) (Insecta: Lepidoptera: Noctuidae). **Institute of Food and Agricultural Sciences**, 6p, 2008.

CRUZ, I. (Ed.). Manual de identificação de pragas do milho e de seus principais agentes de controle biológico. Brasília: Embrapa Informação Tecnológica; Sete Lagoas: **Embrapa Milho e Sorgo**, 192p. 2008

KHAN, H.A.A.; AKRAM, W.; SHAD, S.A.; LEE, J.J. Insecticide mixtures could enhance the toxicity of insecticides in a resistant dairy population of *Musca domestica* L. **Plos One**, v.8, n.4, p.e60929, 2013.

KNAAK, N.; TAGLIARI, M.S.; FIUZA, L.M. Histopatologia da interação de *Bacillus thuringiensis* e extratos vegetais no intestino médio de *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae). **Arquivos do Instituto Biológico**, São Paulo, v.77, n.1, p.83-89, jan./mar., 2010.

MATTOS, A. et al. O uso de óleos essenciais para o controle de pragas do milho. **Estrabão**, v. 2, p. 139-147, 2021.

NICULAU, Edenilson dos S. et al. Atividade inseticida de óleos essenciais de *Pelargonium graveolens* e *Lippia alba* (Mill) NE Brown sobre *Spodoptera frugiperda* (JE Smith). **Química Nova**, v. 36, p. 1391-1394, 2013.

OECD/OCDE. **OECD Guidelines for the Testing of Chemicals**. Abelhas, teste de toxicidade aguda de contato. Leaflet No 214, French, 1998. 7p.

OMOTO, C.; BERNADI, O.; SALMERON, E.; FARIAS, JR.; Manejo de Resistencia de *Spodoptera frugiperda* a inseticidas e plantas Bt. **ESALQ/USP**, Piracicaba – SP 2013

PARRA, J.R.P; CARVALHO, S.M. Biologia e nutrição quantitativa de *Spodoptera frugiperda* (J.E.Smith, 1797) em meios artificiais compostos de diferentes variedade de feijão. **Anais da Sociedade Entomológica do Brasil**, Londrina, v. 13, n.2, p.306-319, 1984.

PINTO, A. de S.; PARRA, J.R.P.; OLIVEIRA, H.N. de; **Guia Ilustrado de Pragas e Insetos Benéficos do Milho e Sorgo Piracicaba**: PLD, 2004. 108p

SANTOS, B.A. **Bioatividade de extratos vegetais sobre *Spodoptera frugiperda*** (J. E. Smith) (Lepidoptera: Noctuidae). 2012. 68f.

SHAHZAD, M.A.; IRFAN, M.; WAHAB, A.A.; ZAFAR, F.; ABDULREHMAN, M.S.; SALEEM, M.R. Toxicidade de fungos entomopatogênicos contra larvas de *Spodoptera frugiperda* em condições de laboratório. **International Journal of Agricultural Science and Food Technology**, v.7, n.3, p. 355-358, 2021.

SILVA, S. M.; et al. *Ocimum basilicum* essential oil combined with deltamethrin to improve the management of *Spodoptera frugiperda*. **Ciência e Agrotecnologia**, v.41, n.6, p.665-675, 2017

SOUSA, Í. M. Inseticida Químico E Biológico No Controle De *Spodoptera Frugiperda* Na Cultura Do Milho. 2018. 23 f. **Monografia** (Curso de Graduação em Agronomia) – Centro Universitário de Goiás.