

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA
INSTITUTO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS
CURSO DE AGRONOMIA**

RAFAEL CASTRO MARTINS

**ÓLEO ESSENCIAL DE *Ocimum basilicum* L. PARA CONTROLE DE
Spodoptera frugiperda (J.E.Smith, 1797)**

**UBERLÂNDIA – MG
2016**

RAFAEL CASTRO MARTINS

ÓLEO ESSENCIAL DE *Ocimum basilicum* L. PARA CONTROLE DE *Spodoptera frugiperda* (J.E.Smith, 1797)

Monografia apresentada à Faculdade de Agronomia da Universidade Federal de Uberlândia, como requisito parcial para a obtenção do título de Bacharel em Agronomia.
Orientador: Prof. João Paulo Arantes Rodrigues da Cunha

UBERLÂNDIA
2016

Sumário

1. RESUMO	4
2. INTRODUÇÃO	5
3. JUSTIFICATIVA	6
4. OBJETIVO GERAL	7
5. OBJETIVOS ESPECÍFICOS	7
6. MATERIAIS E MÉTODOS	8
6.1. Criação de lagartas	8
6.2. Produção de plantas e obtenção de amostras de manjeriço	8
6.3. Obtenção dos óleos essenciais, dos compostos e dos inseticidas	9
6.4. Caracterização dos óleos essenciais	9
6.5. Avaliações toxicológicas	9
6.5.1. Determinação da toxicidade aguda (DL50)	9
6.5.2. Avaliação da combinação entre o produto comercial Decis® e o óleos essenciais de <i>O. basilicum</i> 10	
6.6. Eficácias biológicas em campo do óleo essencial de <i>Ocimum basilicum</i> L. no controle de <i>Spodoptera frugiperda</i>	11
7. RESULTADOS E DISCUSSÕES	12
7.1. Composição química do óleo essencial de <i>O. basilicum</i>	12
7.2. Toxicidade aguda para <i>S. frugiperda</i>	13
7.3. Combinação entre o produto comercial Decis® e o óleos essenciais de <i>O. basilicum</i> 16	
7.4. Combinação em campo entre o produto comercial Decis® e o óleos essenciais de <i>O. basilicum</i>	17
8. CONCLUSÃO	19
9. REFERÊNCIAS	20

1. RESUMO

Atualmente, o controle químico da lagarta *Spodoptera frugiperda* (J. E. Smith, 1797) apresenta várias dificuldades. Em se tratando do controle dessa praga através do uso dos inseticidas convencionais, é comum observar a redução na eficácia de controle, já que o uso incorreto dos produtos fitossanitários promoveu a seleção de populações resistentes. Assim, o objetivo deste trabalho foi avaliar o efeito do óleo essencial de manjerição (*Ocimum basilicum*) para o controle de *S. frugiperda*. Foram realizados bioensaios com o óleo, com o inseticida deltametrina e seu produto comercial Decis, determinando-se a dose letal 50 (DL₅₀), estabelecendo como doses de estudo como efeito inseticida, aquela DL₅₀ do inseticida e a equivalente DL₅₀ do óleo essencial de manjerição determinados em laboratório. Para avaliação da eficácia biológica da combinação do óleo essencial com inseticida Decis® no controle da lagarta-do-cartucho-do-milho, foi conduzido um ensaio de campo. Previamente às aplicações, ocorreu uma avaliação para caracterização quanto à presença do inseto alvo, através da contagem do número de lagartas, o tamanho das lagartas, e da avaliação do dano segundo a escala de Davis e Willians. As aplicações dos tratamentos ocorreram aos 23 e aos 30 dias após a emergência da cultura (DAE). A avaliação quanto à presença das lagartas ocorreu novamente aos três, sete e quatorze dias após a 1ª aplicação (DAA), utilizando a mesma metodologia da avaliação prévia. A combinação entre o óleo essencial e o produto comercial demonstrou boa eficácia, sendo que o Teste de Scott-Knott a 0,05 de significância encontrou diferença entre as médias a partir de 1 % de produto comercial somado a 10% de óleo essencial. Em doses máximas de ambos os produtos, a mortalidade foi de 100%. No ensaio de campo, as médias encontradas para número de lagartas, tamanho, e nota de Davis não apresentaram diferenças estatísticas entre os tratamentos avaliados. Os resultados permitiram concluir que o óleo essencial apresenta toxicidade relevante para *S. frugiperda*, o que o torna promissor como uma ferramenta sustentável para o manejo desta e, possivelmente, de outras pragas. A eficácia da combinação deste composto com baixas doses de deltametrina foi eficaz em laboratório, tornando possível o manejo da resistência de *S. frugiperda* a este inseticida.

2. INTRODUÇÃO

A resistência dos artrópodes a pesticidas é atualmente considerada um problema mundial, sendo documentada em mais de 400 espécies de insetos e ácaros (TABASHNIK; ROUSH, 1990). É um processo evolucionário e seu desenvolvimento é simplesmente uma questão de pressão de seleção e tempo (HOY, 1995). Portanto, uma das premissas básicas para o desenvolvimento de táticas de manejo é a redução da velocidade de estabelecimento de populações resistentes a determinados agentes de controle.

Com isso, o manejo da resistência de insetos deve basear-se na redução dos efeitos indesejados dos pesticidas, através da diminuição do seu uso, no prolongamento de sua eficácia e que sejam ambientalmente mais seguros (CRUZ, 2002).

Atualmente, produtos de origem vegetal (óleos essenciais) têm sido investigados por apresentarem bons resultados como inseticidas e, possivelmente, serem promissores para o controle de pragas de forma mais sustentável (AKHTAR; ISMAN 2004; SILVA et al., 2010). Tais compostos voláteis podem agir em diferentes rotas nos organismos, desde rompimento da cutícula, mortalidade direta (inibição de acetilcolinesterase - AChE), esterilidade (CAVALCANTE et al., 2006; ALEXENIZER; DORN, 2007), e na inibição da respiração celular (YU et al., 2008), potencializando a ação de outros agentes de controle.

Nos artrópodes, a inibição da AChE provoca acúmulo de acetilcolina nas sinapses nervosas, tornando a membrana pós-sináptica em estado permanente de estimulação, o que resulta na falta de coordenação no sistema neuromuscular e eventual morte do inseto (SINGH; SINGH, 2000; AYGUN et al, 2002).

Por outro lado, a AChE tem sido observada por ser resistente aos inseticidas organofosforados e carbamatos, e é bem conhecido que sua alteração molecular é um dos principais mecanismos de resistência dos insetos-pragas (WANG et al., 2004).

Dentre as espécies de insetos-praga mais problemáticas atualmente, a lagarta-do-cartucho *Spodoptera frugiperda* (J. E. Smith, 1797) (Lepidoptera: Noctuidae) se destaca como sendo a principal praga na cultura do milho, podendo causar prejuízos da ordem de 35% na produção (POLETTI; ALVES, 2013; CRUZ et al., 1996).

Em se tratando do controle dessa praga através do uso de inseticidas convencionais, é comum observar a redução na eficácia de controle, já que o uso incorreto dos produtos fitossanitários promoveu a seleção de populações resistentes (YU, 2008). Além disso, o cultivo do milho no período “safrinha” oferece boas condições para o desenvolvimento dessa

praga, sendo a resistência e o alto custo dos defensivos utilizados, outras grandes dificuldades encontradas para o seu controle (LIMA et al., 2006).

No Brasil, somente nos últimos anos alguns trabalhos tem objetivado monitorar as diferentes populações de lagarta-do-cartucho no campo, sendo esses de fundamental importância no que diz respeito aos problemas de resistência da praga à tecnologia Bt e ao uso irresponsável dos inseticidas (CRUZ, et al., 2002, RIBEIRO et al., 2008).

Logo, em vista de buscar novas ferramentas que possam auxiliar o manejo integrado de pragas, faz-se importante verificar a contribuição dos produtos naturais para o controle da lagarta-do-cartucho.

3. JUSTIFICATIVA

Atualmente, o controle químico da lagarta *S. frugiperda* Smith apresenta várias dificuldades, dentre estas, o rápido desenvolvimento de resistência da lagarta a inseticidas de diferentes grupos, a constante rotação dos produtos, a aplicação de inseticidas específicos para as diferentes fases da praga (CASTLE et al., 2010) e a restrição de outros inseticidas de uso na agricultura (TAPANDJOU et al., 2002). A resistência da lagarta-do-cartucho já foi reportada para piretróides, organofosforados, carbamatos, neonicotinóides e reguladores de crescimento, o que instiga o desenvolvimento de moléculas ou produtos inovadores rapidamente pela ciência ou pela indústria química (POLETTI; ALVES, 2013).

Além disso, outro método de controle mais recente para lagarta-do-cartucho é o uso de plantas transgênicas resistentes (BERLITZ et al., 2010), que atualmente, apresenta resultados não tão satisfatórios, devido à resistência dos insetos a algumas toxinas Bt como por exemplo a Cry1F da tecnologia Herculex® (LEITE et al., 2012), o que agrava ainda mais o quadro (SMITH, 2005; BORGONI; VENDRAMIM, 2003). Neste contexto, faz-se necessária a investigação de outras formas mais seguras para o manejo da resistência de *S. frugiperda*.

O uso de produtos naturais como inseticidas tornaram-se muito populares, por representarem pouco risco ao ambiente ou à saúde humana (ISLAM; TALUKDER, 2005) e pela possibilidade de controlarem pragas severas em diversas culturas (CLOYD, 2009), o que contribui para a redução da aplicação de inseticidas químicos. Dessa forma, reconhecem-se os óleos essenciais, caracterizados pela atividade fundamental de atração de polinizadores, predadores e parasitoides, conhecida como defesa indireta nas plantas (AHARONI et al., 2003; WEI; KANG, 2006), além de notáveis toxicidades contra outros insetos (LOPEZ, 2010; ALI et al., 2010; LIMA et al. 2013).

O linalol está entre os monoterpenos mais estudados nas interações planta-inseto, afetando principalmente a transmissão de impulsos nervosos por inibição da AChE (LOPEZ, 2010). O composto é um álcool que podem ser encontrado em altas concentrações (75 a 80%) em diversas espécies aromáticas da família Lamiaceae, como manjeriço (*Ocimum basilicum* L.) (LIMA et al., 2009; BLANK et al., 2007), sendo importante avaliar o seu uso no controle de pragas agrícolas.

No caso de *S. frugiperda*, além de estudos com linalol, outros compostos aromáticos já foram avaliados com grande potencial de controle e demonstraram ação inseticida, repelente, deterrente, mortalidade, toxicidade aguda, não-preferência e efeito *knock-down* (LABINAS et al., 2002; CASTRO et al., 2006; LIMA et al., 2013). A neurotoxicidade causada pelo linalol seguida da mortalidade de lagartas do gênero *Spodoptera*, já foi relatada por Pavela (2005) e também por Niculau et al. (2013), que relatou 90% de mortalidade para *Spodoptera frugiperda*, utilizando óleo essencial de *Lippia alba* com 81,6% de linalol.

Logo, a possibilidade de uso de terpenóides de origem natural, torna-se vital e de extrema importância dentro do contexto do Manejo Integrado de Pragas, justificando os estudos que tem como objetivo principal, verificar a contribuição destes compostos de origem natural como alternativa aos inseticidas químicos (MOORES et al., 2009).

4. OBJETIVO GERAL

Avaliar o efeito do óleo essencial de manjeriço (*Ocimum basilicum*) para controle de *S. frugiperda*.

5. OBJETIVOS ESPECÍFICOS

Determinar a Dose letal 50 (DL₅₀) do óleo essencial de manjeriço (*Ocimum basilicum*) para *S. frugiperda*;

Determinar a DL₅₀ do inseticida piretróide (deltametrina) para *S. frugiperda*, como medida de comparação;

Determinar a DL₅₀ do produto comercial Decis® para *S. frugiperda*, como medida de comparação;

Avaliar o nível de controle de diferentes combinações entre o óleo essencial de manjeriço e o produto comercial Decis® para *S. frugiperda*.

6. MATERIAIS E MÉTODOS

6.1. Criação de lagartas

As lagartas foram obtidas em uma criação do Laboratório de Entomologia da Universidade Federal de Uberlândia, criadas em dieta artificial segundo metodologia adaptada de Burton & Perkins (1972), Greene et al. (1976) e Kasten-Junior et al. (1978).

Cada lagarta foi individualizada em copos plásticos descartáveis de 50 mL, devido apresentar um comportamento defensivo, foi adicionado a dieta artificial formulada com feijão cozido, gérmen de trigo, levedura de cerveja, ácido sórbico, ácido ascórbico, metilparabeno, ágar, formol, água destilada e solução inibidora (ácido propiônico + ácido fosfórico + água). Com a individualização das lagartas, os copos foram acondicionados em sala climatizada à $25\pm 2^{\circ}\text{C}$, $60\pm 10\%$ de umidade relativa e fotofase de 12 horas. Até o desenvolvimento completo da lagarta e mudança para a fase de pupa, a dieta artificial foi trocada a cada dois dias. Durante a fase de pupa, essas foram acondicionadas em placa de Petri forradas com papel absorvente e mantidas dentro de gaiolas teladas.

Após a emergência dos adultos, as mariposas foram mantidas em gaiolas cilíndricas de PVC, forradas com papel filtro e alimentadas com mel e levedo de cerveja (1:1), além de um chumaço de algodão, diariamente umedecido. A massa de ovos ovipositada no papel filtro foi retirada diariamente e acondicionada em placas de Petri até a eclosão das lagartas, sendo imediatamente, fornecido a mesma dieta artificial descrita anteriormente. Em todas as etapas de criação da lagarta-do-cartucho, as condições climáticas foram às mesmas descritas anteriormente.

6.2. Produção de plantas e obtenção de amostras de manjeriço

Foram coletadas amostras de folhas e flores de manjeriço (*Ocimum basilicum*), cv. Maria Bonita de exemplares cultivados na Horta da Fazenda Experimental do Glória, pertencente à Universidade Federal de Uberlândia.

A variedade de *O. basilicum* foi proveniente do acesso PI 197442, oriundo do Banco de Germoplasma North Central Regional PI Station, Iowa State University (USA). Foram utilizadas sementes do Programa de Melhoramento de Plantas Aromáticas da Universidade Federal de Sergipe para plantio e condução das plantas durante a primavera de 2015 na Fazenda Experimental do Glória, da Universidade Federal de Uberlândia.

6.3. Obtenção dos óleos essenciais, dos compostos e dos inseticidas

Os óleos essenciais foram obtidos no Laboratório de Fitotecnia da Universidade Federal de Uberlândia por meio da técnica de hidrodestilação utilizando um aparelho tipo Clevenger modificado. Foram utilizadas amostras de 150 g de folhas e flores frescas das espécies em estudos para cada extração. As amostras foram acondicionadas em balões volumétricos de 2 litros adicionando o volume de 750 mL de água destilada. Ao final da extração o óleo essencial foi coletado, quantificado (teor %) e armazenado em frasco de vidro âmbar a -10°C.

6.4. Caracterização dos óleos essenciais

A caracterização dos óleos foi realizada pelo Laboratório de Química Orgânica da UFU.

A identificação dos compostos foi efetuada por comparação de seus espectros de massas com o banco de dados do sistema, literatura (MCLAFFERTY e STAUFFER, 1989) e determinaram-se os índices de retenção de Kovats, comparando os mesmos com os da literatura (ADAMS, 1995).

A quantificação dos constituintes foi realizada em cromatógrafo a gás acoplado a um detector de ionização de chama (Shimadzu GC-2010) e coluna capilar DB5. Foram realizadas injeções do óleo essencial, obtendo-se a concentração média para cada constituinte, sendo a quantificação obtida por meio da normalização da área (%).

6.5. Avaliações toxicológicas

6.5.1. Determinação da toxicidade aguda (DL50)

Foram realizados bioensaios com o óleo essencial de manjeriço (*Ocimum basilicum*), com o inseticida deltametrina e seu produto comercial Decis, determinando-se a dose letal 50 (DL₅₀). Os testes foram realizados em placas de cultura celular de seis poços as quais foram mantidas em câmara climatizada (25±1 °C; 65±10 % UR e 12 horas de fotofase). Em cada poço, foram acondicionadas a dieta artificial e uma lagarta de terceiro instar de *S. frugiperda*. A determinação das fases de desenvolvimento das lagartas foi realizada conforme Parra & Carvalho (1984). Os ensaios de toxicidade aguda foram realizados conforme modificação na metodologia proposta por OECD-OCDE (1998).

As soluções avaliadas foram preparadas em acetona. No caso do óleo essencial de manjerição, uma gama de diluição foi preparada com concentrações (v/v) variando de 100 (puro) a 1%, sendo que cada lagarta pertencente a um respectivo tratamento (concentração do óleo e do composto) recebeu uma aplicação tópica de 1 μL com auxílio de uma microseringa. Para cada concentração avaliada, foram utilizadas 24 lagartas de terceiro instar. Posteriormente, as placas de cultura celular contendo as lagartas foram mantidas nas mesmas condições descritas anteriormente. As avaliações ocorreram a cada 12 horas após a aplicação dos tratamentos sendo que foi contabilizado o número de lagartas mortas. Também foi realizado um tratamento controle, apenas com a aplicação de acetona.

De maneira semelhante, uma gama de diluição do inseticida deltametrina (pureza de 99,5%, Pestanal[®]) e de seu produto comercial foi preparada em acetona abrangendo a concentração de 100 a 0,001 ng i.a./ μL . Novamente, cada uma das 24 lagartas por concentração, recebeu a aplicação tópica de 1 μL de uma respectiva concentração do inseticida e foram mantidas como descrito anteriormente. As avaliações também foram realizadas da mesma forma para com os óleos essenciais.

Os dados de mortalidade foram contabilizados e submetidos à análise do tipo dose resposta, utilizando o pacote “drc” (RITZ; STREIBIG, 2005) compilado pelo software R. De posse do modelo matemático ajustado para os dados observados, foram determinados os valores de DL_{50} para o óleo essencial, para a deltametrina e seu produto comercial, como também o valor do intervalo de confiança, do qui-quadrado e grau de liberdade.

6.5.2. Avaliação da combinação entre o produto comercial Decis[®] e o óleos essenciais de *O. basilicum*

Após determinar a dose letal do óleo essencial, e dos inseticidas, se estabeleceu como doses de estudo como efeito inseticida, aquela da DL_{50} do inseticida e a equivalente DL_{50} do óleo essencial de manjerição.

Foram preparadas combinações entre o produto comercial (i.a.) e o óleo essencial (o.e.) para avaliação da toxicidade para *S. frugiperda*, visando os testes de campo. As combinações foram: **(1)** 12,5 μg i.a. μL^{-1} + 50% o.e. ; **(2)** 12,5 μg i.a. μL^{-1} + 25% o.e.; **(3)** 5 μg i.a. μL^{-1} + 50% o.e.; **(4)** 5 μg i.a. μL^{-1} + 25% o.e. ; **(5)** 2,5 μg i.a. μL^{-1} + 50% o.e. ; **(6)** 2,5 μg i.a. μL^{-1} + 25% o.e.; **(7)** 0,25 μg i.a. μL^{-1} + 50% o.e.; **(8)** 0,25 μg i.a. μL^{-1} + 20% o.e. ; **(9)** 0,25 μg i.a. μL^{-1} + 10% o.e. ; **(10)** 0,25 μg i.a. μL^{-1} + 5 % o.e. ; **(11)** 0,25 μg i.a. μL^{-1} + 1 % o.e. ;

(12) 0,125 μg i.a. μL^{-1} + 10 % o.e. As aplicações e avaliações ocorreram também de forma semelhante aos testes anteriores.

Os dados de mortalidade foram contabilizados ao longo do tempo e analisados conforme Lima et al. (2011).

6.6. Eficácias biológicas em campo do óleo essencial de *Ocimum basilicum* L. no controle de *Spodoptera frugiperda*

Para avaliação da eficácia biológica da combinação do óleo essencial com inseticida Decis® no controle da lagarta-do-cartucho-do-milho, foi conduzido um ensaio de campo.

Ocorreu plantio na primeira safra de 2016 do Brasil, na Fazenda Experimental Capim Branco, pertencente à Universidade Federal de Uberlândia, no município de Uberlândia, Minas Gerais, com coordenadas geográficas 18°53'23,46"S de latitude e 48°20'27,46"O de longitude.

Foi plantado o milho híbrido convencional Dow 2B537, com espaçamento entre linhas de 0,45 m e densidade populacional de 80.000 plantas ha^{-1} . Foi realizada adubação com formulado NPK 08-28-16, na dose de 280 kg ha^{-1} . O delineamento experimental foi de blocos ao acaso e as parcelas constituídas de 8 linhas. Foram feitas avaliações de eficácia biológica nas 4 linhas centrais de cada parcela.

Os tratamentos foram: **1.** Dose recomendada de Decis para milho; **2.** $\frac{1}{2}$ da dose recomendada de Decis + $\frac{1}{2}$ da dose calculada de óleo essencial; **3.** $\frac{1}{2}$ da dose recomendado de Decis + $\frac{1}{4}$ da dose calculada de óleo; **4.** $\frac{1}{5}$ dose recomendado de Decis + $\frac{1}{2}$ da dose calculada de óleo; **5.** Testemunha.

Foi utilizado um pulverizador costal acionado por pressão constante (CO_2), com oito pontas espaçadas entre si por 0,5 m. Foi adotada a pressão de 300 kPa em todos os tratamentos e taxa de aplicação de 150 L ha^{-1} (6 km h^{-1} , respectivamente).

Previamente às aplicações, ocorreu uma avaliação para caracterização quanto à presença do inseto alvo. Para tanto, foram amostradas oito plantas por parcela, nas quais foi arrancado o cartucho (folhas internas que ainda não estavam completamente abertas), para contagem do número de lagartas. Além disso, foram escolhidas aleatoriamente 25 plantas da área útil da parcela para atribuir-lhes notas visuais de 0 a 9 para avaliação de dano, de acordo com a metodologia de escala adaptada de Davis et al. (1989).

As aplicações dos tratamentos ocorreram aos 23 dias após a emergência da cultura (DAE), quando esta se encontrava em estágio vegetativo V6, e aos 30 DAE foram repetidos os tratamentos na área. A avaliação quanto à presença das lagartas ocorreu novamente aos três, sete e quatorze dias após a 1ª aplicação (DAA), utilizando a mesma metodologia da avaliação prévia.

As condições ambientais durante as aplicações foram monitoradas por meio de um termo-higro-anemômetro digital (Kestrel® 4000).

7. RESULTADOS E DISCUSSÕES

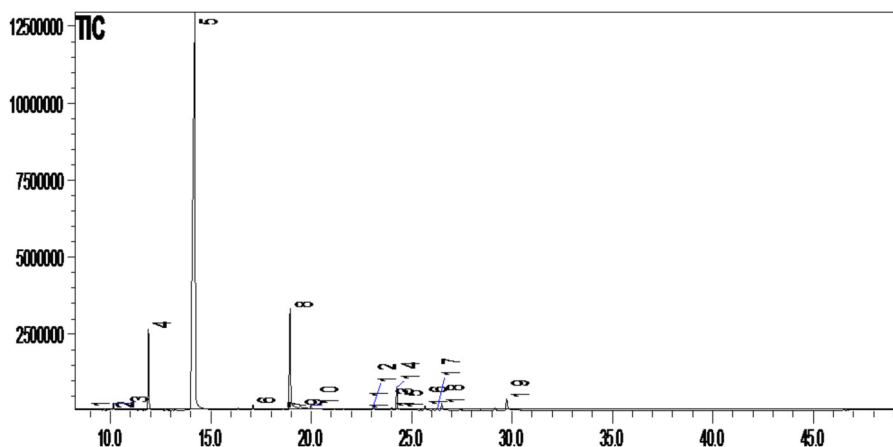
7.1. Composição química do óleo essencial de *O. basilicum*

Pelo método de cromatografia gasosa, foram identificadas 19 substâncias no óleo essencial de *O. basilicum* (Tabela 1 e Figura 1). Os três compostos majoritários observados foram 1,8-cineol, linalol e geraniol, totalizando até 95% do óleo essencial. A densidade específica do óleo foi de 0,85 g cm⁻³ e o teor e o rendimento foram de 2,34% e 13,57 g por planta, respectivamente. No presente estudo, a composição química do óleo essencial foi semelhante aos resultados encontrados por Blank et al (2007), que também obtiveram em torno de 80% de linalol.

Tabela 1. Resultado da composição química do óleo essencial de *Ocimum basilicum* L. quimiotipo linalol obtido por cromatografia gasosa.

Pico	Tempo de Retenção	Index Retenção Calculado	Index Retenção Literatura	Composto	%Área	%GC-FID
1	8,809	923	932	α-pineno	0,01	0,15
2	10,029	963	969	sabineno	0,11	0,12
3	10,156	967	974	β-pineno	0,53	0,49
4	11,895	1021	1026	1,8-cineol	6,02	5,00
5	14,214	1091	1095	linalol	77,34	79,29
6	17,095	1181	1186	α-terpineol	0,48	0,41
7	18,587	1229	1235	neral	0,12	0,11
8	18,950	1241	1249	geraniol	9,86	9,05
9	19,447	1258	1264	geranial	0,16	0,87
10	19,982	1275	1287	acetato de bornila	0,24	0,53
11	22,700	1369	1359	acetato de nerila	0,04	0,10
12	23,091	1382	1389	β-elemeno	0,30	0,30
13	24,000	1415	1417	(E)-cariofileno	0,20	0,18
14	24,260	1424	1432	α-(E)-bergamoteno	1,91	1,46
15	24,413	1430	1437	α-guaieno	0,12	0,10
16	25,660	1476	1484	germacreno D	0,43	0,36
17	26,272	1498	1509	α-bulneseno	0,12	0,10
18	26,495	1507	1513	γ-cadineno	0,58	0,33
19	29,729	1636	1638	epi-a-cadinol	1,43	1,06

Figura 1. Picos obtidos pela análise por cromatografia gasosa do óleo essencial de *O. basilicum*.



7.2. Toxicidade aguda para *S. frugiperda*

A aplicação tópica sob as lagartas do óleo essencial e dos produtos técnico e comercial de deltametrina apresentaram toxicidade seguida de mortalidade. Os valores de DL_{50} e os resumos dos parâmetros ajustados estão apresentados na Tabela 2. As aplicações tópicas de óleo essencial causaram agitação extrema e hiperatividade das lagartas, perda de coordenação motora, diminuição da alimentação e morte. Nenhuma mortalidade foi registrada pelo tratamento controle utilizando acetona.

Tabela 2. Resumo dos parâmetros obtidos pelo teste de toxicidade do óleo essencial de *Ocimum basilicum* L. e dos produtos técnico e comercial contendo deltametrina no controle de *S. frugiperda*.

Tempo	DL_{50}^a $\mu\text{g i.a.}$	I.C. 95% ^b	<i>G.L.</i> ^c	χ^2^d
Óleo essencial				
24h	490	453,40-526,04	41	51,57
48h	480	447,51-512,48	25	34,07
Deltametrina				
24h	$1,925 \times 10^{-2}$	$0,896 \times 10^{-2} - 2,954 \times 10^{-2}$	22	30,448
48h	$1,046 \times 10^{-2}$	$0,981 \times 10^{-2} - 1,111 \times 10^{-2}$	21	23,138

^a Dose letal

^b Intervalo de confiança

Figura 2. Mortalidade de lagartas de terceiro instar de *S. frugiperda* (24 horas) após intoxicação com diferentes doses de óleo essencial de *O.basilicum* L. quimuiotipo linalol

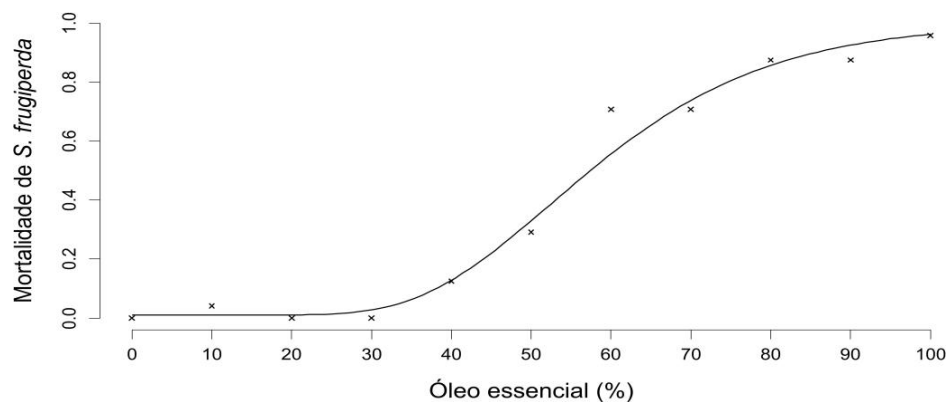
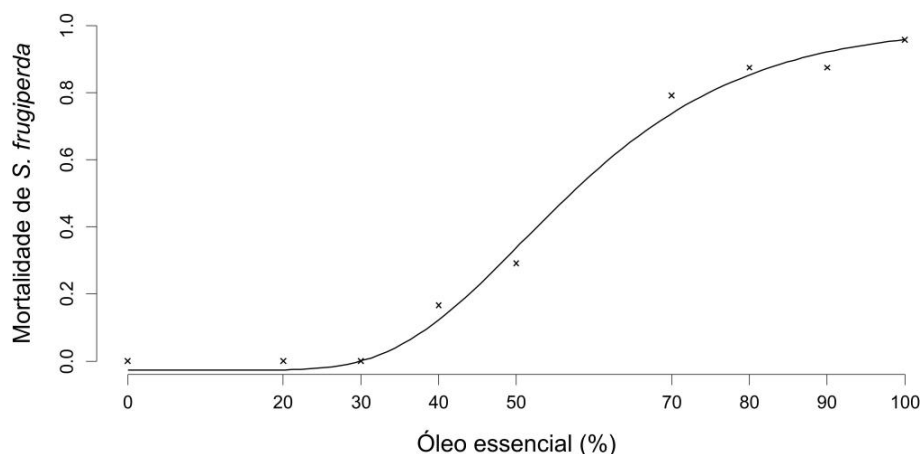


Figura 3. Mortalidade de lagartas de terceiro instar de *S. frugiperda* (48 horas) após intoxicação com diferentes doses de óleo essencial de *O.basilicum* L. quimuiotipo linalol



A aplicação tópica de deltametrina também promoveu altíssima toxicidade para as lagartas, com paralisia de movimentos, inanição e morte dos insetos em até 48h. E a aplicação tópica do produto comercial, também causou alta toxicidade e mortalidade, com efeitos semelhantes ao produto técnico.

A bioatividade de terpenóides com conseqüente comportamento neurotóxico também foi observada por Pavela (2005). Em outro estudo, diferentes níveis de toxicidade e mortalidade de *S. frugiperda* ocorreram na ordem de 30, 90, 84 e 64%, utilizando 3 μg i.a. mg^{-1} de inseto, com geraniol, linalol, carvona e citral, respectivamente (NICULAU et al., 2013).

Especificamente, a toxicidade de linalol para espécies do gênero *Spodoptera* já havia sido constatada anteriormente, com DL₅₀ de 85,5 µg por lagarta de *S. litura*, porém menor toxicidade para outras pragas, como *Helicoverpa armigera* (Hübner, 1805) (Lepidoptera: Noctuidae) e *Chilo partellus* (Swinhoe, 1885) (Lepidoptera: Crambidae), na ordem de 431,5 µg e 462,4 µg, respectivamente (KOUL et al., 1995). Os mesmos autores encontraram DL₅₀ de 126,6 µg de 1,8-cineol para *S. litura*.

No presente estudo, é possível que compostos do óleo essencial tenham apresentado uma interação positiva contra *S. frugiperda*. Associações semelhantes entre linalol e 1,8-cineol foram altamente tóxicas para espécies do mesmo gênero (*S. litura*) (KOUL et al. (1995). Nesse caso, os alcoóis e fenóis de origem vegetal foram mais ativos em combinações do que como compostos isolados.

Carballo & Rubio (2012) testaram óleos essenciais de quatro espécies aromáticas sobre o hábito alimentar de populações de *S. frugiperda* e *Heliothis virescens* (Lepidoptera: Noctuidae). O óleo de *Coriandrum sativum* com 76% de linalol inibiu a alimentação das lagartas e o desenvolvimento de novas gerações. E semelhante ao presente trabalho, a presença de mais compostos bioativos no óleo essencial possivelmente potencializou tal efeito.

El-Aziz et al (2007) observou que a associação dos constituintes do óleo essencial de *Ocimum americanum* L. (Lamiaceae) causou alta mortalidade de lagartas, redução do desenvolvimento de pupas e adultos, e conseqüentemente, menor fecundidade e viabilidade da população de *Agrotis ipsilon* (HUFNAGEL, 1767) (Lepidoptera: Noctuidae).

Popovic et al. (2013) também observaram efeito sinérgico dos componentes do óleo essencial de outra variedade de *O. basilicum* sobre o hábito alimentar de *Lymantria dispar* (Lineu, 1758) (Lepidoptera: Lymantriidae). Nesse caso, foi observado efeito repelente, com redução da desfolha, com 0,5% de óleo essencial, contendo mais de 90% de linalol, além de 1,8-cineol, limoneno e anetol.

A toxicidade dos terpenóides também foi relatada para outras pragas, além de lagartas desfolhadoras. Wang et al. (2004) observou que o linalol foi exclusivamente o mais tóxico para *Sitophilus zeamais* (MOTSCHULSKY, 1855) (Coleoptera: Curculionidae), com DL₅₀ de 13,90 µg por adulto.

Na sinapse colinérgica dos insetos, a acetilcolinesterase (AChE) apresenta papel chave por regular o nível de acetilcolina e a transmissão de impulsos nervosos, catalisando a hidrólise da acetilcolina. Praveena et al. (2011) estudaram bioquimicamente a afinidade entre

a AChE e o linalol em pragas agrícolas e transmissores de viroses, como *S. litura* e *Aedes aegypti* (Lineu, 1762) (Diptera: Culicidae), respectivamente. Os resultados demonstraram que o monoterpene oxigenado formou um complexo intermolecular estável com a enzima do sistema colinérgico, inibindo efetivamente sua interação com acetilcolina. Esses resultados se revelam promissores e, semelhante ao presente estudo, contribuem para a garantia da propriedade inseticida dos terpenóides.

Entretanto, uma das desvantagens foi encontrada por López & Pascual-Villalobos (2010), em que o linalol requereria altas concentrações para ser considerado um forte inibidor da AChE, uma vez que em baixas concentrações, se comportaria como inibidor fraco, em comparação com outros terpenóides, por exemplo, 1,8-cineol. Semelhantes resultados foram encontrados para o óleo essencial de *Piper hispidinervum* C.DC., sendo que para *S. frugiperda* necessitariam de doses mais elevadas deste composto para causar mortalidade (LIMA et al., 2009).

Isso também foi observado no presente estudo, já que a DL₅₀ encontrada para o óleo essencial, com alta concentração de linalol, foi muito alta em relação à deltametrina. Logo, os testes de toxicidade com este óleo ainda podem obter melhores resultados com outras pragas, possivelmente mais sensíveis às concentrações do óleo essencial e que não foram alvo desse estudo.

7.3. Combinação entre o produto comercial Decis® e o óleos essenciais de *O. basilicum*

A combinação entre o óleo essencial e o produto comercial demonstrou boa eficácia (Tabela 3), sendo que o Teste de Scott-Knott a 0,05 de significância encontrou diferença entre as médias a partir de 1 % de produto comercial somado a 10% de óleo essencial. Em doses máximas de ambos os produtos, a mortalidade foi de 100%.

Tabela 3. Combinações entre óleo essencial e produto comercial e mortalidade.

Produto comercial		Óleo essencial		Mortalidade (%)	
Dose (%)	µg i.a. µL ⁻¹	Dose (%)	µg µL ⁻¹	24h	48h
50	12,50	50	420,0	100a	100a
50	12,50	25	210,0	100a	100a
20	5,00	50	420,0	100a	100a
20	5,00	25	210,0	100a	100a
10	2,50	50	420,0	100a	100a
10	2,50	25	210,0	100a	100a
1	0,25	50	420,0	100a	100a

1	0,25	20	168,0	95,8a	95,0a
1	0,25	10	84,0	84,0b	83,5b
1	0,25	5	42,0	54,1b	54,0b
1	0,25	1	8,4	37,5b	35,0b
0,5	0,125	10	84,0	34,5b	34,0b
Controle – Acetona				0	0
CV(%)				15,55	
F				16,653	

Semelhante ao presente estudo, Fazolin et al., (2016) obtiveram significativos efeitos sinérgicos combinando o óleo essencial de *Piper aduncum* com piretróides contra *S. frugiperda*. As DL₅₀ de alfa-cipermetrina, fenpropatrina, gama-cialotrina e beta-cipermetrina foram reduzidas a ½ e/ou ¼ na presença do óleo essencial, causando toxicidade relevante para as lagartas. O safrol foi o componente majoritário deste óleo essencial (82%) e acredita-se que ele atue como inibidor do citocromo P450 nos insetos.

War et al. (2014) verificaram a eficácia das combinações de óleo de *Azadirachta indica* com endosulfan sobre a alimentação e atividade enzimática de *H. armigera*. A atividade anti-alimentar causada por endosulfan a 0,01% combinado com óleo de neem a 1%, na razão 1: 1 foi de 85,34%, sendo significativamente maior do que nos tratamentos individuais. Nesse caso, as enzimas de detoxificação do inseto foram significativamente reduzidas e a atividade de glutathione-s-transferase significativamente aumentada na combinação dos produtos.

Kariuki et al., (2014) relataram que a associação entre produtos tem contribuído significativamente para aumentar a eficácia dos inseticidas, assim como solucionar problemas de resistência que surgiram devido ao seu uso equivocado. Isso se deve ao fato das combinações entre produtos causarem efeitos mais rápidos nos organismos alvos em relação às formulações sintéticas (SRIVASTAVA et al., 2011).

7.4. Combinação em campo entre o produto comercial Decis® e o óleos essenciais de *O. basilicum*

No ensaio de campo as avaliações foram: numero de lagartas por planta (Tabela 4), tamanho de lagartas (Tabela 5) e nota de Davis (Tabela 6).

Sendo que segundo o Teste de Scott-Knott a 0,05 de significância, as médias encontradas não apresentaram diferenças estatísticas entre os tratamentos avaliados.

Oliveira et al. (2007) também não observaram eficiência necessária como método de controle da *S. frugiperda* em condições de campo com a pulverização na cultura de milho dos

óleos essenciais de *A. indica* 2%, *T. pallida* 5%, Quassia amara 2% e *Melia azedarach* 2% e 5% e o óleo de *A. indica* 1% e 2% com adição de tensoativo não iônico.

Nas avaliações prévias as aplicações, constatou-se na área experimental uma média de 2,14 lagartas por planta de milho, sendo considerada uma infestação alta. Além de existir relatos de casos de resistência de *S. frugiperda* sobre a molécula de Deltametrina, que foi o inseticida químico utilizado no experimento.

Durante as aplicações das combinações entre o óleo essencial de manjerição e o produto comercial Decis, não foi utilizado nenhum adjuvante ou protetor ou aditivo para evitar perdas por evaporação ou fotodegradação.

Apesar dos resultados de campo não apresentarem diferenças significativas os resultados são promissores e indicam que mais estudos devem ser realizados para sustentar a possibilidade das combinações entre compostos naturais e sintéticos no controle de pragas.

Tabela 4. Número de lagartas de *S. frugiperda* por planta de milho, antes e após aplicações dos tratamentos.

Numero de Lagartas/planta	Avaliações				
	Antes	3daa	10daa	14daa	Média
Tratamentos					
DECIS	2,32	1,46	1,04	0,66	1,37A
DECIS(50%) + OLEO (50%)	2,54	1,60	1,22	0,90	1,56A
DECIS (50%) + OLEO (25%)	2,04	2,04	1,12	0,90	1,52A
DECIS (20%) + OLEO (50%)	2,22	1,86	1,06	0,66	1,45A
TESTEMUNHA	1,62	2,02	1,38	0,90	1,48A
Média	2,14d	1,8c	1,16b	0,80a	
CV(%)	31,97				

Médias seguidas por letras distintas se diferem pelo teste de Scott-Knott a 5% de probabilidade.

Médias seguidas por letras distintas se diferem pelo teste de Scott-Knott a 5% de probabilidade.

Tabela 6. Tamanho de lagartas (cm) antes e após aplicações dos tratamentos.

Tamanho de Lagartas (cm)	Avaliações				
Tratamentos	Antes	3daa	10daa	14daa	Média
DECIS	0,36	0,33	0,86	0,61	0,54A
DECIS(50%) + OLEO (50%)	0,35	0,50	0,92	0,95	0,68A
DECIS (50%) + OLEO (25%)	0,37	0,54	0,71	0,65	0,57A
DECIS (20%) + OLEO (50%)	0,40	0,37	0,95	0,69	0,60A
TESTEMUNHA	0,29	0,45	0,99	0,65	0,60A
Média	0,35d	0,44c	0,89a	0,71b	
CV(%)	34,62				

Médias seguidas por letras distintas se diferem pelo teste de Scott-Knott a 5% de probabilidade.

8. CONCLUSÃO

Os resultados permitiram concluir que o óleo essencial apresenta toxicidade relevante para *S. frugiperda*, o que o torna promissor como uma ferramenta sustentável para o manejo desta e, possivelmente, de outras pragas. A eficácia da combinação deste composto com baixas doses de deltametrina foi eficaz em laboratório, tornando possível o manejo da resistência de *S. frugiperda* a este inseticida. Mais estudos devem ser feitos para que essa eficiência também seja visto em campo.

Tabela 5. Nota de Davis (0-9) para nível de infestação de *S. frugiperda* antes e após aplicações dos tratamentos.

Nota de Davis (0-9)	Avaliações				
Tratamentos	Antes	3daa	10daa	14daa	Média
DECIS	1,79	4,55	5,53	5,89	4,44 A
DECIS(50%) + OLEO (50%)	1,97	4,82	5,55	5,86	4,55 A
DECIS (50%) + OLEO (25%)	1,51	4,54	5,69	5,74	4,37 A
DECIS (20%) + OLEO (50%)	1,67	4,89	5,23	5,69	4,37 A
TESTEMUNHA	1,67	5,04	5,80	5,92	4,61 A
Média	1,72d	4,77c	5,56b	5,82a	
CV(%)	9,48				

9. REFERÊNCIAS

ADAMS, R.P. **Identification of essential oil components by gás chromatography/mass spectroscopy**. Allured Publishing Corporation, Carol Stream, 1995,469p.

AHARONI, A.; GIRI, A.P.; DEUERLEIN, S.; DE KOGEL, W.J.; VERSTAPPEN, F.W.A.; VERHOEVEN, H.A.; JONGSMA, M.A.; SCHWAB, W.; BOUWMEESTER, H.J. Terpenoid metabolism in wild-type and transgenic Arabidopsis plants. **The Plant Cell** n.15, p. 2866-2884, 2003.

AKHTAR, Y.; ISMAN, M. B. Comparative growth inhibitory and antifeedant effects of plant extracts and pure allelochemicals on four phytophagous insect species. **J. Appl. Entomol.** n.128, p. 32-38, 2004. de pimenta-longa (*Piper hispidinervum*) e pimenta-macaco (*Piper aduncum*).

ALEXENIZER, M.; DORN, A. Screening of medicinal and ornamental plants for insecticidal and growth regulating activity. **J. Pestic. Sci.** n.80, p.205-215, 2007.

ALI, A.; RIZVI, P. Q.; KHAN, F. R. Bio-efficacy of some plant leaf extracts against mustard aphid, *lipaphis erysimi* kalt. On indian mustard, *Brassica juncea*. **Journal of plant protection research**, v. 50, n. 2, p. 130 -132, 2010.

AYGUN, D.; DOGANAY, Z.; ALTINTOP, L.; GUVEN, H.; ONAR, M.; DENIZ, T.; SUNTER, T.. Serum acetylcholinesterase and prognosis of acute organophosphate poisoning. **Journal of Toxicology Clinical Toxicology**, v. 40, p. 903- 910, 2002.

BERLITZ, D. L.; AZAMBUJA, A. O.; LUCHO, A. P. R.; KNAAK, N.; SCHÜNEMANN, R.; OLIVEIRA, J.V.; FIUZA, L. M. Toxicologia de Bacillus thuringiensis às pragas agrícolas. **Revista BIO Tecnologia**, n. 38, pp. 36-39, 2010

BLANK, A.F.; SOUZA, E.M.; ARRIGONI-BLANK, M.F.; PAULA, J.W.A.; ALVES, P.B. Novas Cultivares Maria Bonita: cultivar de manjeriçao tipo linalol. Pesquisa Agropecuária brasileira, Brasília, v.42, n.12, p.1811-1813, 2007.

BOGORNI, P. C.; VENDRAMIN, J. D. Bioatividade de Extratos Aquosos de *Trichilia* spp. sobre *Spodoptera frugiperda* (J. E. Smith) (Lepidoptera: Noctuidae) em Milho. **Neotropical Entomology**, v. 32, n. 4, p. 665-669, 2003.

BURTON, R. L.; PERKINS, W. D. WSB, a new laboratory diet for the corn earworm and the fall armyworm. **Journal of Economic Entomology**, v.65, n.2, p.385-386, 1972.

CASTLE, J.S.; PALUMBO, J.C.; PRABHAKER, N.A.; HOROWITZ, A.R. Ecological determinates of *Bemisia tabaci* resistance to insecticides. In: PHILIP, A.S.; NARANJO, S.E. **Bionomics and management of global pest**. New York: Springer Science Bussiness. 1ed., p.423 – 459, 2010.

CASTRO, D.P.; CARDOSO, M.G.; MORAES, J.C.; SANTOS, N.M.; BALIZA, D.P. Não preferência de *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae) por óleos essenciais de

Achillea millefolium L. e *Thymus vulgaris* L. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, 8(4): 27-32. 2006.

CAVALCANTE, G.M.; MOREIRA, A.F.C.; VASCONCELOS, S.D. Potencialidade inseticida de extratos aquosos de essências florestais sobre mosca-branca. **Pesq. agropec. bras.**, Brasília, v.41, n.1, p.9-14, jan. 2006.

CARBALLO, C. R. R.; RUBIO, M, V. Efecto antialimentario de aceites esenciales de plantas aromáticas sobre *Heliothis virescens* y *Spodoptera frugiperda*. **Fitosanidad**. 2012.

CLOYD, R.A.; CINDY, L.G.; STEPHEN, R.K.; NANETTE, A.K.; K.E. KEMP. Effect of commercially available plant-derived essential oil products on arthropod pests. **J. Econ. Entomol.** n.102, p. 1567-1579, 2009.

CRUZ, I.; OLIVEIRA, L. J.; OLIVEIRA, A. C.; VASCONCELOS, C. A. Efeito do nível de saturação de alumínio em solo ácido sobre os danos de *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith) em milho. **Anais da Sociedade Entomológica do Brasil**, v.25, n.2, p.293-297, 1996.

CRUZ, I.; VIANA, P. A.; WAQUIL, J. M. **Cultivo do milho: Pragas da fase vegetativa e reprodutiva**. Sete Lagoas: Embrapa-CNPMS, 2002. 8p. (Embrapa-CNPMS. Circular Técnica nº 49).

CRUZ, I. **Manejo da resistência de insetos-praga a inseticidas, com ênfase em *Spodoptera frugiperda* (Smith)**. Sete Lagoas: Embrapa Milho e Sorgo, 2002.

DAVIS, F. M.; WILLIAMS, W. P. (1989), Methods used to screen maize for resistance and to determine mechanisms of resistance to the Southwestern cornborer and fall armyworm. In: **International Symposium on Methodologies for Development Host Plant Resistance to Maize Insects**. Toward insect resistance maize for the third world. CIMMYT, México, 101-104.

EL-AZIZ, S. E. A.; OMER, E. A.; SABRA, A. S. Chemical Composition of *Ocimum americanum* Essential Oil and Its Biological Effects Against, *Agrotis ipsilon*, (Lepidoptera: Noctuidae). **Research Journal of Agriculture and Biological Sciences**, 3(6): 740 – 747, 2007.

GREENE, G. L.; LEPPLA, N. C.; DICKERSON, W. A. Velvetbean caterpillar: a rearing procedure and artificial medium. **Journal of Economic Entomology**, v. 69, n. 4, p. 487-488, 1976.

HOY, M. A. Multitactic resistance management: an approach that is long overdue. **Florida Entomologist**, Gainesville, v.78, p. 443-451, 1995.

ISLAM, M.S.; TALUKDER, F.A. Toxic and residual effects of *Azadirachta indica*, *Tagetes erecta* and *Cynodon dactylon* extracts against *Tribolium castaneum*. **Journal of Plant Diseases Protection** n.12, p. 594-60, 2005.

KASTEN-JUNIOR, P.; PRECETTI, A. A. C. M.; PARRA, J. R. P. Dados biológicos comparativos de *Spodoptera frugiperda* (J. E. Smith) em duas dietas artificiais e substrato natural. **Revista de Agricultura**, v.53, n.1/2, p.68-78, 1978.

KOUL, O., J.S. SHANKAR & O. KOUL. Systemic uptake of azadirachtin into *Ricinus comunis* and its effects on *Spodoptera litura* larvae. **Indian J. Exp. Biol.** 33: 865-867. 1995

LABINAS, M.A.; CROCOMO, W.B. Effect of java grass (*Cymbopogon winteranus*) essential oil on fall armyworm *Spodoptera frugiperda* (J. E. Smith, 1979) (Lepidoptera, Noctuidae). **Acta Scientiarum**, 24(5): 1401-1405. 2002.

LEITE, N. A.; TEIXEIRA, T. P. M.; MENDES, S. M.; PEREIRA, E. J. G. Desenvolvimento de resistência a Cry1F em *Spodoptera frugiperda* afeta o desempenho larval na ausência da proteína inseticida? In: **XXIV Congresso Brasileiro de Entomologia**, Curitiba, Paraná. 1p., 2012.

LIMA, BMFV; MOREIRA, JOT; ARAGÃO, CA. Avaliação de extratos vegetais no controle de mosca-branca, *Bemisia tabaci* biótipo B em abóbora. **Rev. Ciênc. Agron.**, v. 44, n. 3, p. 622-627, 2013.

LIMA, R.K.; CARDOSO, M.G.; MORAES, J.C.; CARVALHO, S.M.; RODRIGUES, V.G.; GUIMARÃES, L.G.L. Chemical composition and fumigant effect of essential oil of *Lippia sidoides* Cham. And monoterpenes against *Tenebrio Molitor* (L.) (Coleoptera: Tenebrionidae). **Ciência e Agrotecnologia**, v.35, p.664-671, 2011.

LIMA, R.K.; CARDOSO, M.G.; MORAES, J.C.; MELO, B.A.; RODRIGUES, V.G.; GUIMARÃES, P.L. Atividade inseticida do óleo essencial de pimenta longa (*Piper hispidinervum* C. DC.) sobre lagarta-do-cartucho do milho *Spodoptera frugiperda* (J. E. Smith, 1797) (Lepidoptera: Noctuidae). **Acta Amazônica**, v. 39,n.2,377 – 382, 2009.

LIMA, F.W.N.; OHASHI, O.S.; SOUZA, F.R.S.; GOMES, F.S. Avaliação de acessos de milho para resistência a *Spodoptera frugiperda* (Smith) (Lepidoptera: Noctuidae) em laboratório. **Acta Amazonica**, 36(2): 147-150, 2006.

LOPEZ, M.D.; VILLALOBO, M.J.P. Mode of inhibition of acetylcholinesterase by monoterpenoids and implications for pest control. **Industrial Crops and Products**, v.31, n.2, p. 284-288, 2010.

MCLAFFERTY, F.W.; STAUFFER, D.B. The Willey /NBS **Registry of Mass Spectral Data**. New York: John Willey, 1989, 563p.

MOORES, G.D.; PHILIPPOU, D.; BORZATTA, V.; TRINCIA, P.; JEWESS, P.; GUNNING, R.; BINGHAM, G. An analogue of piperonyl butoxide facilitates the characterization of metabolic resistance. **Pest Management Science**, v.65, p.150-154, 2009.

NICULAU, Ednilson dos S. et al . Atividade inseticida de óleos essenciais de *Pelargonium graveolens* l'Herit e *Lippia alba* (Mill) N. E. Brown sobre *Spodoptera frugiperda* (J. E. Smith). **Quím. Nova**, São Paulo , v. 36, n. 9, p. 1391-1394, 2013 .

OECD/OCDE. OECD guidelines for the testing of chemicals. Honeybees, acute Contact Toxicity Test. Leaflet N° 214. 7p., 1998.

POLETTI, M.; ALVES, E.B. **Resistência de mosca branca a inseticidas**. Informativo do IRAC - Comitê Brasileiro de ação a resistência a inseticidas. Mogi Mirim, 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 variedades de feijão. **Anais da Sociedade Entomológica do Brasil**, v. 13, n.2, 1984.

PAVELA, R. 2005. Insecticidal activity of some essential oils against larva of *Spodoptera littoralis*. **Fitoterapia**. 76: 691–696.

PRAVEENA, A.; SANJAYAN, K. P.; Inhibition of acetylcholinesterase in three insects of economic importance by linalool, a monoterpene phytochemical. **Insect Pest Management, A Current Scenario**. 2011 (ed.), pp. 340-345.

POPOVIĆ, Z., KOSTIĆ, M., STANKOVIĆ, S., MILANOVIĆ, S., SIVČEV, I., KOSTIĆ, I., & KLJAJIĆ, P.. Ecologically Acceptable usage of Derivatives of Essential Oil of Sweet Basil, *Ocimum basilicum*, as Antifeedants Against Larvae of the Gypsy Moth, *Lymantria dispar*. **Journal of Insect Science**, 13, 161, 2013.

RIBEIRO, R. S.; DURRER, V.; MIRALDO, G. L.; SALMERON, E.; OMOTO, C. Situação atual da resistência de *Spodoptera frugiperda* (J. E. Smith) (Lepidoptera: Noctuidae) a inseticidas no Brasil. In: **XXII Congresso Brasileiro de Entomologia**, Uberlândia, Minas Gerais. 1p., 2008.

RITZ, C.; STREIBIG, J.C. Bioassay analysis using R. **J Stat Softw** n.12, p.1–22, 2005.

SILVA, M. B. **Controle alternativo de pragas e doenças na agricultura orgânica**. Viçosa:, EPAMIG, 2010, 232 p.

SMITH, C.M. **Plant Resistance to Arthropods: Molecular and Conventional Approaches**. Springer, Dordrecht. 2005, 423 pp.

SINGH, K.; SINGH, D.K. Toxicity to the snail *Limnaea acuminata* of plant-derived molluscicides in combination with synergists. **Pest Management Science**, v. 56, p. 889-898, 2000.

TABASHNIK, B. E.; ROUSH, R. T. Introduction. In: ROUSH, R. T.; TABASHNIK, B. E. (Ed.). **Pesticide resistance in arthropods**. New York: Chapman and Hall, 1990. p.1-3.

TAPONDJOU, L.A.; ALDER, A.; BONDA, H.; FONTEM, D.A. Efficacy of powder and essential oil from *Chenopodium ambrosioides* leaves as post-harvest grain Protectants against six-stored product beetles. **Journal of Stored Products Research** n.38, p.395-402, 2002.

WANG, H.; LIAO, H.; OCHANI, M.; JUSTINIANI, M.; LIN, X.; YANG, L.; AL-ABED, Y.; WANG, H.; METZ, C.; MILLER, E.J.; TRACY, K.J.; ULLOA, L. Cholinergic agonists inhibit HMGB1 release and improve survival in experimental sepsis. **Nature Medicine**, v.10, p.1216-1221, 2004.

WEI, J. N.; KANG, L. Electrophysiological and behavioral responses of a parasitic wasp to plant volatiles induced by two leaf miner species. **Chemical Senses** n.31, p.467-477, 2006.

YU, S. **The toxicology and biochemistry of insecticides**. Boca Raton: CRC Press, 2008. 276p.