

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL
INSTITUTO DE BIOCÊNCIAS
DEPARTAMENTO DE ZOOLOGIA

Potencial inseticida de óleos de origem vegetal
sobre *Grapholita molesta*

JOSÉ FERNANDO COLPO

Dissertação apresentada à Comissão
Examinadora do Bacharelado em Ciências
Biológicas da Universidade Federal do Rio
Grande do Sul para obtenção do grau de
Bacharel em Ciências Biológicas – Ênfase
Ambiental.

Orientadora: Profa. Dra. Simone Mundstock Jahnke

PORTO ALEGRE
2010

AGRADECIMENTOS

A todos os amigos do Laboratório de Biologia, Ecologia e Controle Biológico de Insetos, em especial a Josué, Rita, Ricardo, Carol e Patrícia que tornaram essa jornada muito mais prazerosa;

À minha orientadora Simone, pela paciência, amizade e sabedoria nesses quatro anos, que me transformou em um biólogo mais completo e melhor;

À minha família única, que me deu suporte necessário para o êxito dessa jornada, em especial a minha mãe, Margarida, que me mostrou que um verdadeiro homem se forma através de seu caráter, cuja confiança e compreensão que depositaste em mim estará comigo como modelo de conduta, te amo, minha mãe, minha flor, minha Asteraceae preferida do meu jardim;

Ao Rosano, por me mostrar que a vida pode ser mais leve se for bem vivida, obrigado por fazer parte dela;

À Tia Bel, pela amizade, encontros de jogos e pelo suporte incondicional, desde o início de minha vida acadêmica, do qual jamais esquecerei;

À barra 2005/2, que se manteve coesa durante todos esses anos, onde a amizade e lembrança ficaram vivas plenamente em minha vida, em especial a Renata, Kenne, Verônica, Tai e Zizza, que me mostraram o verdadeiro significado da amizade.

RESUMO

Devido ao seu processo evolutivo peculiar, as plantas desenvolveram um arsenal de produtos tóxicos capazes de deter seus inimigos naturais. Em decorrência do estudo das interações químicas entre insetos e herbívoros e do avanço da pesquisa fitoquímica, hoje são conhecidas uma infinidade de produtos naturais, denominados de aleloquímicos, com grande potencial inseticida. *Grapholita molesta* (Busck), (Lepidoptera: Tortricidae) também conhecida como mariposa-oriental é uma das principais pragas do pessegueiro, danificando brotações e frutos. Em brotações, o inseto destrói o meristema apical e, nos frutos, abre galerias na polpa, inviabilizando o pêssego para o consumo *in natura* ou para a comercialização. O objetivo do presente estudo foi verificar a mortalidade causada por óleos vegetais em *G. molesta*. Ovos de insetos, provindos de criação artificial, foram imersos em óleos essenciais de *Elionurus* sp. e citronela (*Cymbopogon winterianus* Jowitt.) nas concentrações de 0,1%, 0,5%, 1% e 0,5%, 1%,5%, respectivamente. Os resultados obtidos para o óleo de *Elionurus* sp. em ovos de *G. molesta* apontam que as três concentrações causaram mortalidades acima de 30% em todos os tratamentos, diferindo significativamente dos controles (Tukey $P < 0,05$). A mortalidade causada pelo óleo de citronela foi em torno de 70% significativamente superior ao controle ($P < 0,01$). As aplicações de óleo de citronela a 1% em pupas causou mortalidade de 99,8%. Não houve atratividade dos adultos em teste de olfatômetro para nenhum dos óleos. O óleo de citronela apresentou deterrência à oviposição, sendo a média de ovos no substrato com o tratamento ($0,33 \pm 0,33$), significativamente menor que no controle, ($7,3 \pm 0,88$) ($P < 0,01$).

Sumário

	Página
1. Introdução.....	5
2. Materiais e Métodos.....	10
2.1. Criação de <i>G. molesta</i>	10
2.2. Obtenção de óleos essenciais.....	11
2.3. Bioensaios.....	12
2.3.1. Mortalidade dos ovos.....	12
2.3.2. Mortalidade das pupas.....	12
2.3.3. Atratividade adultos e deterrência à oviposição.....	14
2.3.4 Análise dos dados	15
3. Resultados.....	16
3.1. Mortalidade dos ovos.....	16
3.2. Mortalidade das pupas.....	16
3.3. Atratividade a adultos e deterrência à oviposição	17
4. Discussão.....	18
5. Bibliografia.....	21

1 INTRODUÇÃO

Um país continental como o Brasil, de notáveis pluralidades geográficas e climáticas, apresenta uma das maiores biodiversidades de plantas e insetos. Durante décadas, o Brasil manteve sua economia voltada, essencialmente, para o setor primário. Com as importações, muitas espécies vegetais e, principalmente, de insetos, foram introduzidas no país. Segundo Murray & Pinkham, (2002), a invasão de espécies exóticas é a segunda maior ameaça à biodiversidade, ficando atrás apenas da destruição de próprios habitats. Não obstante a isso, algumas espécies de insetos tornaram-se verdadeiras pragas na agricultura, afetando sobremaneira a produção, além de competir com artrópodes nativos (Gliessman, 2000).

A fruticultura tem vários exemplos de introdução de pragas exóticas, tais como o minador-das-folhas-citros, *Phyllocnistis citrella* Stainton (Lepidoptera: Gracillariidae), a mosca-do-mediterrâneo, *Ceratitis capitata* (Wied) (Diptera: Tephritidae), e, o psílideo *Diaphorina citri* Kuwayama (Hemiptera: Psyllidae) (Willink *et al.*, 1996; Malavasi & Zucchi, 2000; Padulha & Alves, 2009)

O cultivo de frutíferas temperadas no Brasil tem sido realizado especialmente nos estados do sul, como o Rio Grande do Sul, cujos cultivos de uva (*Vitis* sp.), (Mello, 2001) e de Rosaceae como a maçã *Malus domestica* Borkh (IBGE, 2005) e o pêssigo (*Prunus persica* (L.) Batsch) (João *et al.* 2001), põe o estado em destaque de produção desses frutos.

As regiões de Pelotas, da Serra Gaúcha, da Grande Porto Alegre e da Campanha, são os principais centros produtores de pêssigos do estado. Como fator limitante desta cultura, destaca-se a *Grapholita molesta* (Busck) (Lepidoptera: Tortricidae), conhecida como “broca-das-ponteiras”, em sua fase larval, ou, “mariposa-oriental”, na adulta, devido a sua origem asiática (FIGURA 1D). Esta espécie é uma das mais importantes pragas mundiais de rosáceas.

No início do século XX, já se destacava com impacto econômico negativo no Japão e, a partir de 1913, já marcava presença no continente americano, chegando ao Brasil em 1980 (Gonzalez, 1980).

De acordo com Herter *et al.* (1986), os adultos de *G. molesta* desenvolvem suas atividades ao entardecer, entre as 17 e 22 horas. Os adultos variam de 0,6 e 0,8 centímetros de comprimento, com alas de coloração escura e ventre prateado (FIGURA 1D). Após a cópula, a oviposição é efetuada nas folhas dos hospedeiros, próximo às brotações ou ramos não lignificados.

Os ovos da mariposa-oriental, de formato circular, possuem 0,4 mm de diâmetro (FIGURA 1A) com coloração transparente em sua fase mais primária e parda, em sua fase final de maturação. Nesta última fase é possível identificar o encéfalo do embrião, visualmente, no interior do ovo. O período embrionário varia de sete a nove dias, dependendo da estabilidade das condições do ambiente. Após a eclosão, as larvas migram para as brotações próximas penetrando-as, causando a destruição do meristema apical, a murcha e apodrecimento dos ponteiros (Gonzalez, 2003).

Quando o ataque ocorre no pedúnculo, este é penetrado pela larva, formando túneis em direção ao fruto, atravessando o mesocarpo e se alojando na região do caroço. O desenvolvimento das larvas ocorre no interior do fruto. A fase primária possui poucos milímetros, com coloração parda, já os estágios subseqüentes adquirem coloração rosácea, ficando mais evidente em seu último instar, podendo atingir 1,5 centímetros de comprimento (FIGURA 1B). A larva de *G. molesta* apresenta uma estrutura quitinosa no último segmento abdominal, denominado “pente anal”, sendo diagnóstica para a distinção desta de outras espécies em estado larval que utilizam o mesmo hospedeiro (Gonzales, 1986; Nunes & Paullier, 1995).

Ao término da fase larval, cuja duração oscila entre oito a doze dias, a larva faz um orifício no fruto ou no ramo, e desce ao solo, através de uma linha de seda produzida por ela. No fruto, esse dano mecânico pode abrir janela para a atuação de patógenos, como o fungo *Monilinia fruticola* (Wint) (Botton *et al.*, 2001), causando o apodrecimento prematuro do fruto. No solo, as pupas ficam protegidas por um casulo de seda, onde permanecem em média, oito dias até emergirem. Nesta fase, as pupas possuem dimensões variantes de 0,3 a 0,6 centímetros de comprimento, com coloração amarelada (FIGURA 1C).

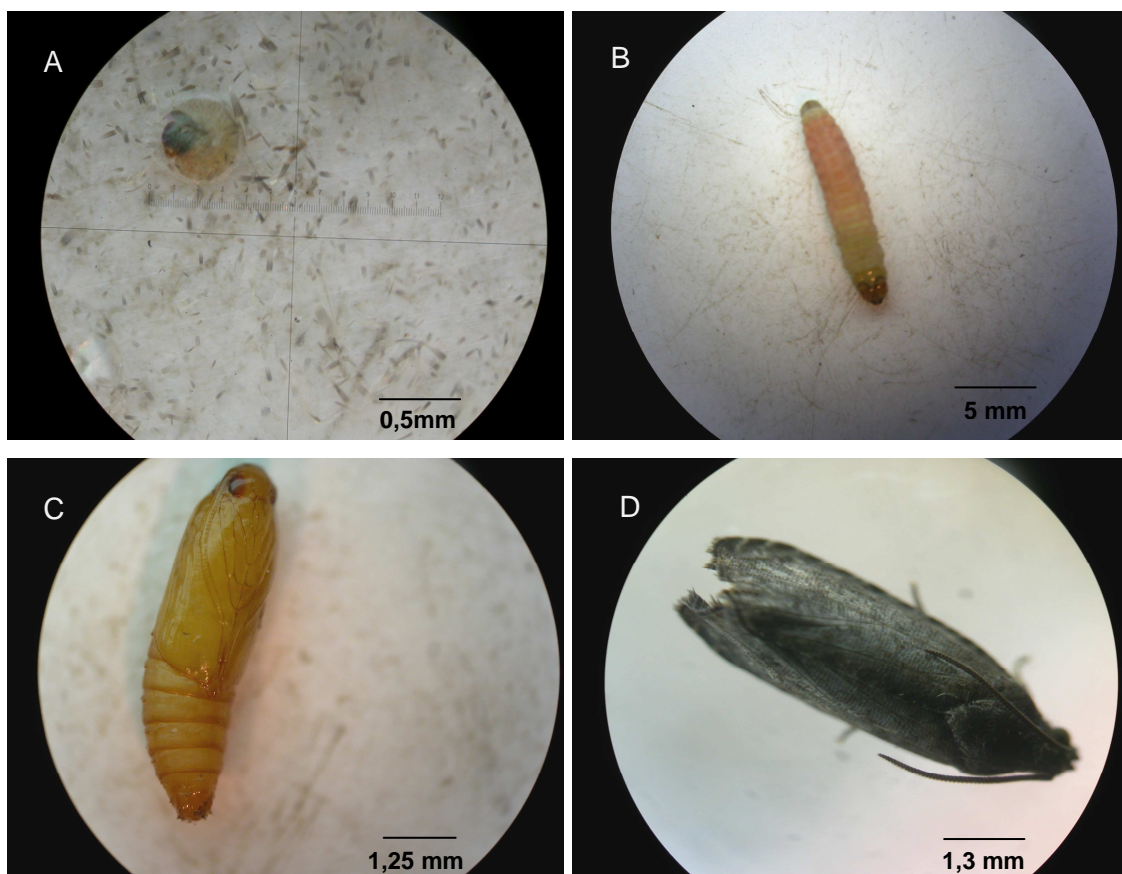


FIGURA 1: Estágios de desenvolvimento de *Grapholita molesta*: (A) Ovo; (B) Lagarta; (C) Pupa e; (D) Adulto.

No estado do Rio Grande do Sul, a presença de *G. molesta* traz prejuízos na produção de pêssigo, na ordem de 3% a 5% anualmente (Botton *et al.*, 2001). Para o manejo dessa praga, têm-se adotado a utilização de inseticidas sintéticos fosforados e piretróides (Santa Cecília & De Souza, 1985; Salles, 1998). Nesse aspecto é importante mencionar o impacto ambiental dessas técnicas convencionais de controle de pragas tendo em vista que pode induzir o desenvolvimento de resistência do inseto alvo, seleção de novas pragas e impacto sobre a biota associada, além do risco de contaminação de alimentos e de mananciais de aquíferos (Unganai & Kogan, 1998).

Atualmente intensificaram-se as pressões dos órgãos regulamentadores de saúde, fixando novos conceitos de qualidade da produção e de segurança aos trabalhadores, mediante a demanda e exigências dos centros consumidores por produtos de melhor qualidade. Diante dessa problemática, substâncias inseticidas

de origem vegetal têm sido vistas como alternativas aos inseticidas sintéticos devido a sua biodegradabilidade e por constituírem um menor risco a saúde humana (Murray, 2006).

Devido a sua imobilidade, as plantas desenvolveram, ao longo do seu processo evolutivo, mecanismos de defesa frente a essa incapacidade. Óleos essenciais, cuja constituição predomina substâncias voláteis, lipofílicas e de forte odor (Simões *et al.*, 2000), são subprodutos do metabolismo secundário de diversas espécies de plantas, e por não participar do metabolismo principal do vegetal, acabam por ser eliminados ou armazenados nas estruturas das plantas, como raízes, caule e folhas.

O Rio Grande Sul apresenta vasta diversidade de espécies campestres naturais, sendo registradas aproximadamente 500 espécies de gramíneas (Longhi-Wagner, 2003), das quais muitas são conhecidas e exploradas pela indústria de cosméticos e perfumaria.

Destacam-se nesse cenário a citronela (*Cymbopogon winterianus* Jowitt.) (Poaceae) e capim - limão (*Elionurus* spp.) (Poaceae), por apresentarem grande potencial fitoquímico.

C. winterianus, é uma planta herbácea, perene, cespitosa podendo chegar a um metro de altura. As folhas são amplexicaule, linear-lanceoladas, áspera nas duas face com bordo cortante (Couto, 2006).

Espécies do gênero *Elionurus* são herbáceas, cespitosas e perenes, apresentando de 10 à 150 cm de altura. As folhas são persistentes, setáceas, por vezes planas, sem venação cruzada (Fuller, 2006)

Estas plantas têm em comum a presença do citral, componente majoritário do óleo essencial, conferindo ação antibacteriana e fúngica (Negrelle & Gomes, 2007), bem como de repelência a artrópodes vetores de doenças como *Aedes aegypti* (L.), (Diptera: Culicidae. (Tawatsin *et al.*, 2001) e inibidor de oviposição em moscas-da-cebola *Delia antiqua* Meigen (Diptera: Anthomyiidae) (Cowles *et al.*; 1990). No entanto, na literatura, os trabalhos referem-se principalmente a repelência utilizando óleo de citronela, sendo escassos os estudos mais detalhados de outros parâmetros em insetos. Labinas & Crocomo (2002) testando diferentes concentrações do óleo de citronela sobre larvas de *Spodoptera frugiperda* (Smith) (Lepidoptera: Noctuidae), encontrou mortalidade de acima de 80% na concentração de 1%.

Diante do sucesso satisfatório desses óleos essenciais no controle de outros insetos, o presente trabalho tem como objetivo verificar a mortalidade provocada por óleos destes vegetais sobre a *G. molesta*.

2 MATERIAL E MÉTODOS

2.1 Criação de *Grapholita molesta*

A criação de *G. molesta* foi mantida em câmara com condições controladas ($25 \pm 10^{\circ}\text{C}$; $60 \pm 5\%$ U.R e fotofase de 16h), no Laboratório de Biologia, Ecologia e Controle Biológico de Insetos (BIOECOLAB), localizado no Departamento de Fitossanidade, da Faculdade de Agronomia, UFRGS.

Pupas de machos e fêmeas de *G. molesta* foram armazenadas em “gaiolas” confeccionadas a partir de garrafas do tipo PET de 2l, cuja base era retirada, mantendo-se um tecido do tipo voile no fundo, permitindo a renovação de ar e o manuseio. Após a emergência, no gargalo da garrafa, um algodão embebido com a dieta para adultos era oferecido. A dieta consistia de 150g de mel para 1l de água e Nipagin® (metilparabeno) a 0,15%, segundo protocolo de criação do BIOECOLAB. Os adultos permaneciam na gaiola de dez a vinte dias, período em que as fêmeas realizavam a oviposição nas paredes da gaiola. Posteriormente os adultos eram retirados da gaiola, esta era lavada com água e hipoclorito a 15% e cortada em tiras, contendo ovos. As tiras eram depositadas em bandejas com dieta artificial para as larvas (Ivaldi-Sender, 1974). Entre cinco e sete dias depois dessa transferência, as bandejas eram envolvidas por tecido tipo gaze hidrófila (13 fios), onde as larvas penetravam para empupar. As pupas eram coletadas em dez dias, antes da emergência e realocadas em gaiolas, reiniciando o ciclo de criação (FIGURA 2).

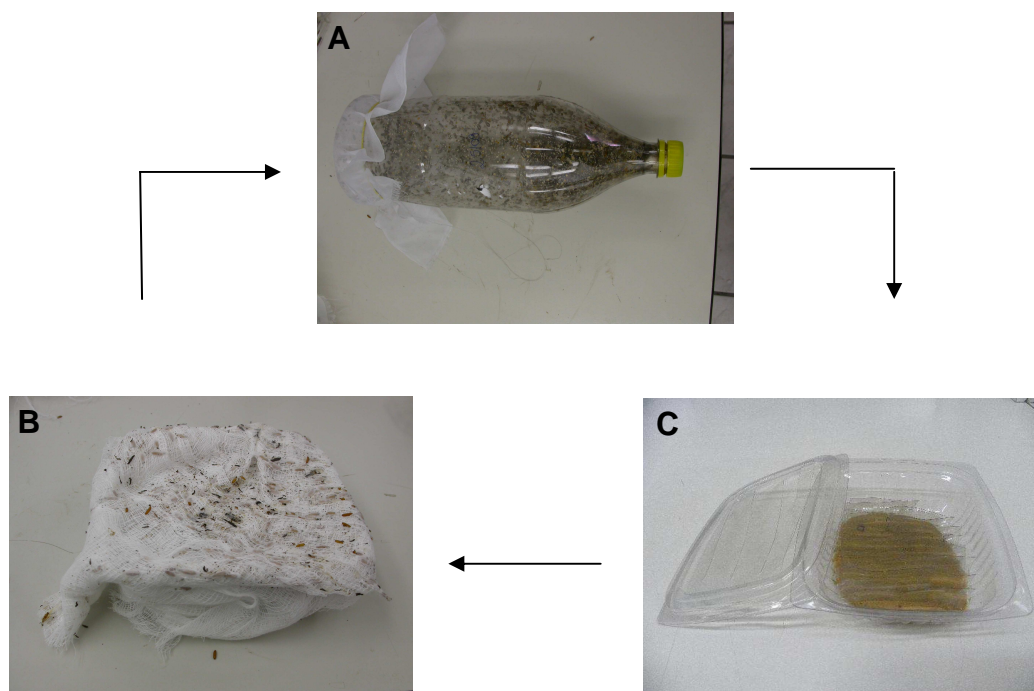


FIGURA 2: Fluxograma das etapas de criação artificial de *Grapholita molesta* sob condições controladas ($25 \pm 10^{\circ}\text{C}$; $60 \pm 5\%$ U.R e fotofase de 16h). (A) Garrafa tipo “PET” 2l, contendo adultos; (B) Bandeja coberta com gaze contendo pupas; (C) Bandeja com dieta para larvas e cartelas da gaiola com ovos.

2.2 Obtenção dos óleos

Populações de capim-limão foram coletadas na região de São Borja. Como não há uma descrição específica do *Elionurus* sp. utilizado no experimento, a coleta realizada na mesma região confere segurança de que seja uma população da mesma espécie. A extração do óleo foi realizada no Laboratório de Horticultura e Silvicultura, da Faculdade de Agronomia da UFRGS, através do método de Hidrodestilação em aparelho tipo Clevenger. Esse aparelho é constituído por um vidro sobre uma estrutura aquecedora no qual partes frescas da planta sofrem aquecimento para a liberação de vapor. Por intermédio de tubos de vidro, esse vapor é conduzido a uma região de resfriamento, onde ocorre a separação dos componentes, dentre eles, o óleo, que é coletado por uma torneira acoplada lateralmente. No balão, foi

armazenado um peso bruto total de 390 g de *Elionurus* sp.. Após três horas de extração, obteve-se rendimento de 2,5 ml de óleo essencial.

O óleo de Citronela foi obtido através da empresa comercial Raizando: óleos essenciais, de Minas Gerais, Brasil.

2.3 Bioensaios

2.3.1 Mortalidade de ovos

Para a aplicação do óleo de capim-limão em ovos de *G. molesta*, foram adotadas três concentrações de acordo com a disponibilidade de óleo: 0,25%(0,2ml); 0,5%(0,4ml) e 1%.(0,8ml), diluídas em recipiente do tipo Becker de 80ml, seguindo as proporções de 90% água destilada (72 ml), 10% álcool etílico (8 ml). No controle 1, as aplicações foram realizadas apenas com os veículos de diluição (água e álcool etílico), o controle 2 constava somente de água, no sentido de averiguar se o álcool etílico pudesse exercer algum efeito nos ovos. Das tiras retiradas das paredes das gaiolas, foi feita a seleção de 20 ovos viáveis/tira. Essa viabilidade foi determinada pela visualização do encéfalo do embrião, no interior dos ovos. Os demais ovos foram descartados, com auxílio de uma agulha histológica. Utilizando-se uma pinça e um cronômetro, cinco tiras contendo 20 ovos maduros cada uma eram submetidas à imersão por 1 minuto, na solução. Transcorridas as aplicações, as tiras foram armazenadas em bandejas com dieta, na mesma câmara de criação, durante 10 dias. Após esse período, foram feitas as contagens dos ovos que não eclodiram, caracterizando a morte destes.

Para o óleo de citronela, a diluição foi realizada em recipiente do tipo Becker de 500ml seguindo as proporções de 90% água destilada (450 ml), 10% álcool etílico (50 ml) como veículo de diluição. As concentrações adotadas adaptadas de Labinas & Crocomo (2002) e Novelino & Daemon & Soares *et al.* (2007) foram de 0,5% (2,5ml), 1%(5ml) e 5%(25ml); além das aplicações com o veículo de diluição (controle). As técnicas de aplicação do óleo de citronela sobre os ovos foram as mesmas descritas para o capim-limão.

2.3.2 Mortalidade de pupas

Este bioensaio foi realizado somente com óleo de citronela, pois não havia quantidade suficiente de óleo de capim-limão para o teste.

O óleo de citronela foi utilizado nas mesmas concentrações aplicadas sobre os ovos. Foram feitas cinco repetições em cada uma das três concentrações utilizadas, compreendendo vinte pupas/repetição. As pupas foram envoltas em tecido tipo voile, e imersas por um período de 20 segundos na solução (FIGURA 3). Ao retirar da solução, esperava-se que as pupas secassem e, em seguida, armazenava-se na câmara de criação, repetindo-se o mesmo procedimento com a testemunha, tratados com água e álcool etílico. Após um período de dez dias, realizou-se contagem das pupas não emergidas, sendo consideradas mortas pelo tratamento.



FIGURA 3: Imersão de pupas de *G. molesta* em solução de óleo de citronela com tecido voile

2.3.3 Atratividade a adultos e deterrência à oviposição

Visando verificar a atratividade e deterrência dos óleos vegetais, foram feitos dois bioensaios comportamentais.

No primeiro, testando a atratividade, utilizou-se um olfatômetro, em “y” (FIGURA 4), de vidro de dupla escolha, onde os braços menores mediam 14 cm e braço maior, 20 cm. Abaixo desse dispositivo, colocou-se um papel milimetrado para controle da possível movimentação dos espécimes, no interior do tubo. Nos braços do olfatômetro, colocou-se papel filtro, de 9 cm². Na extremidade aberta de um dos braços foi adicionado 10µl do veículo de diluição

(90% água destilada e 10% de álcool etílico) (controle) e, no outro, 10 µl de óleo essencial de citronela ou de capim-limão (tratamentos), nas concentrações de 1% e 0,5%, respectivamente. Foram testados 18 machos e 18 fêmeas.



FIGURA 4: Olfatômetro em “y”, seta indicando adulto de *G. molesta*

Individualmente, cada mariposa, de três a cinco dias de idade, foi adicionado ao sistema na posição inicial do olfatômetro. No primeiro momento, aguardou-se um período de 10 min para que o espécime se aclimatasse e esboçasse movimentação. Não ocorrendo tal reação nesse ínterim, este indivíduo era descartado, sendo substituído por outro. Caso ocorresse, eram acrescidos cinco minutos de observação. Registrou-se o tempo que o inseto levou para alcançar a forquilha do olfatômetro, além do tempo que o inseto gastou para percorrer pelo menos quatro cm em um dos braços do olfatômetro tratamento. A cada duas repetições, o sistema era invertido (180°) a fim de anular possíveis pontos de referência externa, que pudessem exercer influência aos indivíduos testados. A cada seis repetições, o olfatômetro era desmontado, lavado e seco em estufa. Definiu-se como resposta positiva ao tratamento, a permanência com movimentação do espécime no interior do olfatômetro. A observação de tentativas de fugas do sistema caracterizaria resposta negativa ao tratamento.

No segundo momento foi testada a deterrência à oviposição pelo óleo de citronela. No experimento sem escolha, as paredes internas de gaiolas confeccionadas com garrafas PET de 600 ml receberam, com auxílio de um

pincel, a solução de óleo de citronela a 1%. No experimento com dupla escolha, a garrafa foi cortada ao meio, longitudinalmente e parte desta recebeu o tratamento e a outra parte, somente o veículo de diluição. Em seguida a mesma foi unida com fita adesiva. A “gaiola” controle recebeu somente o veículo de diluição. Aguardou-se aproximadamente 40 minutos até que o interior da garrafa estivesse seco. Em seguida, dez casais com 10 dias foram colocados em cada garrafa onde permaneceram por 5 h, no horário de pico da atividade reprodutiva (das 17 às 22h). Foram realizadas três repetições por tratamento.

Após este período, os casais foram retirados da gaiola e os ovos colocados nas paredes das mesmas e contabilizados.

2.3.4 Análise dos dados

As porcentagens de redução da população (mortalidade) foram ajustadas através do software Ldp Line ® (Finney, 1971) segundo fórmula proposta por Henderson & Tilton (1955):

$$E (\%) = 100 (1 - B_n * U_v / B_r * U_n)$$

onde E(%) é a eficiência dos tratamentos; B_n é o número de indivíduos das parcelas após o tratamento; B_r é número de indivíduos das parcelas antes do tratamento; U_n é número de indivíduos das testemunhas após o tratamento e U_v é a testemunha antes do tratamento.

Os dados foram testados quanto à normalidade pelo teste Lilliefors, que permite avaliar amostras com menos de dez unidades. A variação entre a média de insetos mortos foi submetida à análise de variância, comparando-se as médias pelo teste de TUKEY através do software Bioestat 5.0 (Ayres *et al.*, 2006).

3 RESULTADOS

3.1 Mortalidade de ovos

As aplicações com óleo essencial de *Elionurus* sp. em ovos de *G. molesta* mostrou-se eficaz em todos os tratamentos. Nas concentrações de 1%, 0,5% e 0,25% apresentaram mortalidade de 52%, 34% e 31% respectivamente (Tabela 1), sem diferença significativa entre os tratamentos utilizados ($P < 0,05$). No entanto, foi significativa a diferença entre tratamentos controle 1 e 2, evidenciando ação negativa do óleo essencial de *Elionurus* sp. em ovos de *G. molesta*. O controle 1, utilizando álcool etílico e água destilada causou, em média, mortalidade de 24%, enquanto o controle 2, apenas com água, mortalidade foi de 23%. Não houve diferença significativa entre os controles.

As aplicações com óleo de citronela (*C. winterianus*) em ovos, a 5% 1% e 0,5% se mostraram mais eficazes, apresentando mortalidades de 81%, 74% e 62% respectivamente, indicando efeito do óleo essencial, quando comparadas com as de óleo de capim-limão (Tabela 1).

3.2 Mortalidade de pupas

A mortalidade de pupas expostas ao óleo de citronela foi de 99,8% para concentração de 1%, e de 100% para as de 0,5% e 5%. Um contraste, comparando-se a mortalidade causada pelos controles, E os controles tratados com $H_2O + Et OH$ registraram mortalidade de 45%.

3.3 Atratividade a adultos e deterrência à oviposição

Não foi evidenciada atividade atrativa dos dois óleos ministrados no olfatômetro em “y”, em nenhum dos 18 casais apresentados ao sistema.

No experimento que visou avaliar a ação deterrente da oviposição do óleo no substrato de postura, sem escolha, o número médio de ovos na gaiola de oviposição tratada foi de $0,33 \pm 0,33$, sendo significativamente menor do que

a testemunha $7,3 \pm 0,88$ ($P < 0,01$). No teste com dupla escolha, o número médio de ovos no substrato com tratamento, foi de $1,33 \pm 0,88$, diferente do registrado no substrato sem tratamento, $2,69 \pm 1$.

TABELA 1: Número médio (+EP) de ovos mortos nos tratamentos e mortalidade (%) corrigida pela fórmula Henderson & Tilton de ovos de *G. molesta*, tratadas com óleos de citronela e de capim-limão.

Dose Produto (%)	Controle 1 H ₂ O + Et OH	Controle 2 H ₂ O	Óleo de capim-limão	Mortalidade %	Óleo de citronela	Mortalidade %
0,25	6,3±1,75b	4,8±1,64bc	10,6±0,50a	31	-	-
0,5	6,3±1,75c	4,8±1,64cd	11±0,54b	34	14,8±0,37a*	62
1	6,3±1,75c	4,8±1,64cd	13,4±0,74b	52	16,4±0,24a**	74
5	6,3±1,75b	4,8±1,64bc	-	17,4±0,74a	-	81

* Médias seguidas de letras diferentes na linha diferem pelo teste de Tukey ($P < 0,01$)

** Médias seguidas de letras diferentes na linha diferem pelo teste de Tukey ($P < 0,05$)

4 DISCUSSÃO

O detalhamento dos constituintes de um óleo essencial é extremamente importante devido à variabilidade de sua composição. Sabe-se que o odor cítrico típico, apresentado por *Elionurus* sp e *C. winterianus* se deve a presença do elemento citral. Sua constituição resume-se ao sinergismo de dois subprodutos, o geranial e o neral. Segundo Füller (2007), a concentração média desses compostos de populações de capim-limão, oriundos de São Borja, obedece à proporção de 16% (geranial) e 9% (neral) e em citronela, concentrações variantes que, somadas, podem atingir a ordem de 80% do óleo vegetal (Lima *et al.*, 2008). A mortalidade mais intensa apresentada pelo óleo de citronela em relação ao óleo de capim-limão em concentrações de 1% pode estar associada à presença mais marcante do elemento citral, em citronela. Sangwan *et al.*, (2001) salientaram que as proporções desses constituintes podem variar, dependendo do grau de estresse abiótico, pois muitos óleos tem a função de regular o metabolismo vegetal. Nesse sentido, essas mudanças podem diferir em relação às populações de diferentes regiões, haja vista as peculiaridades climáticas destas.

O efeito ovicida apresentado pelo óleo de citronela nas doses intermediária e baixa foi considerado satisfatório, tendo em vista a ineficiência de inseticidas clássicos utilizados, no controle de pragas, como relatam Arioli *et al.* (2007) que, utilizando o inseticida sintético Imidan 500 PM, a 2%, não observaram mortalidade dos ovos de *G. molesta*. Embora a exposição aos tratamentos tenha sido menor (10s), a total ausência de mortalidade elucida a pouca eficácia desse inseticida sintético na mortalidade de ovos de *G. molesta*, contrastando com o potencial ovicida apresentado pelos óleos essenciais naturais das gramíneas analisadas.

A utilização do álcool etílico adicionado em água destilada exerceu efeito cossolvente, pois proporciona a quebra dos anéis benzeno, presentes em

óleos, auxiliando na diluição além de não exercer efeitos significativos sobre os estágios analisados.

Sabe-se que na fase de pupa, para qualquer inseto, a taxa metabólica é considerada mais intensa dentre todos os estágios. A maciça mortalidade apresentada pelas pupas sobre efeito do óleo de citronela (99,8%) pode estar associada à interrupção metabólica da pupa. A tenacidade dos óleos, ou seja, a resistência que este fluido exerce sobre o seu escoamento, tende a ser mais intensa em tubulações (viscosidade mecânica) (Teixeira, *et al.*, 2005) como os canais traqueais das pupas. Desse modo, o contato do óleo com a pupa pode ter obstruído os espiráculos, ou até mesmo penetrado nos canais traqueais, cessando total ou parcialmente a respiração, levando ao comprometimento funcional e morte da pupa. Assim, a efetividade dos componentes do óleo de citronela não pode ser comprovada, tendo em vista que a mortalidade pode ter sido provocada, em parte pela ação do óleo, independente do princípio ativo vegetal. Entretanto, alguns trabalhos indicam a mortalidade de adultos provocados por óleo de citronela, tal como o de Gorski & Tomczak (2010), que obtiveram uma mortalidade de 100% em *Aulacorthum solani* Kalt (Hemiptera: Aphididae) na concentração de 0,1%. Testes com utilização de óleo mineral, sem a presença de princípio ativo, poderão dar um indicativo do papel deste na mortalidade das pupas.

Altafini *et al.* (2008), realizando testes de atratividade, verificou adaptação satisfatória de *G. molesta* em olfatômetro em “y”, onde os espécimes, expostos no tubo com extratos das plantas hospedeiras, se locomoveram em direção a fonte do extrato. No entanto, a movimentação comportamental dos indivíduos, utilizando os óleos de citronela e de capim-limão, não foi equânime ao estudo citado. Todos exerceram (i) movimentação intensa e desorientada no interior do tubo ou (ii) imobilidade e forte antenação ou (iii) fuga do sistema, indicando que, tais óleos utilizados, não se apresentam como alternativa para atração em adultos, de mariposa - oriental.

Na reprodução, a escolha do local de oviposição é tão importante quanto à quantidade ou a viabilidade dos ovos. Segundo Blaney & Simmonds (1990), a avaliação de um local se deve a presença de quimiorreceptores tarsais que interagem com uma infinidade de aleloquímicos, interpretando possíveis localidades para a postura. Nesse sentido, a diferença significativa no

tratamento de dupla escolha, entre a região tratada e não na tratada, pode estar associada ao comportamento avaliativo de substrato pré-postura. Portanto, o efeito deterrente do óleo de citronela sobre a oviposição pode ser importante ferramenta para prevenir estabelecimento de *G. molesta*. No entanto, cabe ressaltar a ocorrência de mortalidade dos adultos na gaiola tratada, podendo, desse modo, mascarar tais resultados. Por outro lado, tal mortalidade pode indicar a ação do óleo sobre os adultos da mariposa, uma vez que há relatos de mortalidades em adultos de afídeos, tripes, mosca-branca e ácaros (Cloyd *et al.*, 2009; Gorski & Tomczak, 2010).

A partir dos resultados obtidos pode-se inferir que os óleos de citronela e de capim-limão têm potencial para o controle de *G. molesta* em diferentes fases de desenvolvimento.

BIBLIOGRAFIA

ALTAFINI, D.L.; SANT'ANA, J.; REDAELLI, L.R.; LORSCHTEITER, R. Influência de fatores endógenos na percepção eletrofisiológica e comportamental de *Grapholita molesta* (Buck) (Lepidoptera: Tortricidae) a voláteis de plantas hospedeiras. Arq. Inst. Biol., São Paulo, v.76, n.4, p. 651-648, 2008.

ARIOLI, C. J.; MOLINARI, F.; BOTTON, M.; GARCIA, M. S. Técnica de criação de *Grapholita molesta* (Busck, 1916) (Lepidoptera: Tortricidae) em laboratório utilizando dieta artificial para produção de insetos visando estudos de comportamento e controle. Boletim de Pesquisa e Desenvolvimento, Embrapa Uva e Vinho, n. 13, 2007.

AYRES, M. *et al.* BioEstat 4.0 Aplicações estatísticas nas áreas da ciência biológica e médica. Sociedade Civil Mamirauá/CNPq, Belém, Brasil. p. 324, 2006.

BLANEY, W M.; SIMMONDS, M.S.J., A behavioural and electrophysiological study of the role of tarsal chemoreceptors in feeding by adults of *Spodoptera littoralis*, *Heliothis virescens* and *Helicoverpa armigera*. Journal of Insect Physiology v. 36, p. 743-756, 1990.

BOTTON, M.; ARIOLLI, C.J.; COLLETTA, V.D. Monitoramento da mariposa oriental *Grapholita molesta* (Busck, 1916) na cultura do pessegueiro. Bento Gonçalves: Embrapa Uva e Vinho, (Embrapa Uva e Vinho, Comunicado Técnico, 38), p. 4, 2001.

CLOYD, R. A. *et al.*; Effect of Commercially Available Plant-Derived Essential Oil Products on Arthropod Pests. Journal of Economic Entomology. v. 102:n. 4, p. 1567-1579, 2009.

COUTO, M. E. O. Coleção de plantas medicinais aromáticas e condimentares. Documentos 157, versão on line. Embrapa. p. 69 – 70, 2006.

- COWLES, R.S.. Manipulating oviposition of the onion fly, *Delia antiqua* (Meigen) by stimulo deterrent diversion. PhD thesis. Michigan State University, East Lansing, 1990.
- Finney D. J. Probit analysis, 3rd edn. Cambridge University Press, Cambridge, London, 1971.
- FÜLLER, T. N. Caracterização fenotípica, fitoquímica e molecular de *Elionurus* sp. HUMB. & BOMPL ex WILD (Capim-limão), Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Faculdade de Agronomia, 2007. www.lume.ufrgs.br/handle/10183/15451, acessado em 18 de novembro de 2010, às 23hs.
- GLIESSMAN, S. Agroecologia: Processos Ecológicos em Agricultura Sustentável. Porto Alegre: Editora da Universidade/UFRGS. 2000.
- GONZALEZ, R. H. La grafolita, una nueva polilla de la manzana en curico. Curico: Fruticola, v.1, n.2, p. 7-11, 1980.
- GONZALEZ, R. H. Fenologia de la polilla oriental del durazno. Aconex, Santiago, n.12, p. 5-12, 1986.
- GONZALEZ, R. H. Las polillas de la fruta em Chile (Lepidoptera: Tortricidae; Pyralidae). Santiago: Facultad de Ciências Agronômicas de Chile, p. 188, 2003
- GORSKI, R., TOMCZAK, M. Usefulness of natural essential oils in the control of foxglove aphid (*Aulacorthum solani* Kalt.) occurring on eggplant (*Solanum melongena* L.). Ecological Chemistry and Engineering S-Chemia I Inzynieria Ekologiczna S v. 17 n. 3 p. 345-349, 2010.
- HENDERSON, C.F. and E. W. TILTON. Tests with acaricides against the brow wheat mite, J. Econ. Entomol. 48:157-161. 1955.
- HERTER, F. G, *et al.* Horário de Captura de *Grapholita molesta* em Pessegueiro. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE ENTOMOLOGIA, 10. Rio de Janeiro. Resumos... Rio de Janeiro, SEB p. 111, 1986.
- IBGE. Pesquisa mensal de previsão e acompanhamento das safras agrícolas no ano civil: janeiro 2005. Levantamento Sistemático da Produção Agrícola, v.17, p.1-62, 2005. Disponível em <ftp://ftp.ibge.gov.br/Producao_Agricola>. Acesso em: 8 de Nov. 2010.
- IVALDI – SENDER, C. Techniques simples pour um élevage permanent de la tordeuse orientale, *Grapholita molesta* (Lepidoptera, Tortricidae) sur milieu artificiel. Annales Zoologie Ecologie Ani-male, v. 6 n. 2, p. 337-343.,1974

- JOÃO, P.L., J.I. ROSA, V.C. FERRI & M.D. MARTINELLO. Levantamento da fruticultura comercial do Rio Grande do Sul. Porto Alegre, EMATER, p. 80 (Realidade Rural 28), 2001.
- LABINAS, A. M. & CROCOMO, W. B. Effect of Java grass (*Cymbopogon winterianus* Jowitt) essential oil on fall armyworm *Spodoptera frugiperda* (J. E. Smith, 1797) (Lepidoptera, Noctuidae). *Acta Scientiarum*. v. 24, n. 5, p. 1401-1405, 2002.
- Lima W. C., Paquola A. C. M., Varani A. M., Van Sluys M.-A., Menck C. F. M. Laterally transferred genomic islands in Xanthomonadales related to pathogenicity and primary metabolism. *FEMS Microbiol. Lett.* v 281, p 87–97, 2008.
- LONGHI - WAGNER, H. M. Diversidade Florística dos campos sul-brasileiros: Poaceae. In: CONGRESSO NACIONAL DE BOTÂNICA, 54., 2003, Belém. Resumos. Sociedade Botânica do Brasil. p. 117 – 120, 2003.
- MALAVASI, A; ZUCCHI, R.A; SUGAYAMA, R.L. Biogeografia. In: MALAVASI, A; ZUCCHI, R.A. (Eds.) Moscas-das-frutas de importância econômica no Brasil - conhecimento básico e aplicado. Ribeirão Preto: Holos, 2000. p.93-98.
- MELLO, L. M. R.; Cadastro vitícola. In: MELLO, L. M. R.. de. (Ed.). Cadastro vitícola do Rio Grande do Sul – 1995 / 2000. Versão 1.0 Bento Gonçalves: Embrapa Uva e Vinho / Ibravin. CD –ROM, 2001.
- MURRAY B.I. Botanical insecticides, deterrents, and repellents in modern agriculture and an increasingly regulated world. *Annual Review of Entomology* v. 51 n. 45–66, 2006.
- MURRAY, C & C. PINKHAM. Towards a Decision Support Tool to Address Invasive Species in Garry Oak & Associated Ecosystems in BC. Prepared by ESSA Technologies Ltd. Victoria, B.C. for the GOERT Invasive Species Steering Committee, Victoria, B.C. p 96, 2002.
- NEGRELLE RRB, GOMES EC. *Cymbopogon citratus* (DC) Stapf: chemical and pharmacological review. *Rev Bras Pl Med* v.9, n. 80-92, 2007.
- NOVELINO, A.M.S. ; DAEMON, E. ; SOARES, G.L.G. . Avaliação da atividade repelente do timol, mentol, salicilato de metila e ácido salicílico sobre larvas de *Boophilus microplus* (Canestrini, 1887) (Acari: Ixodidae). *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia*, v. 59, p. 700-704, 2007.
- NUÑES, S.; PAULLIER, J. *Cydia molesta* (BUSK). In: Bemtancourt, C. M.; Scatoni I.B.; Lepidopteros de importância econômica. Reconocimiento biologia

y daños de las plagas agrícolas y forestales. Uruguay: Agropecuaria hemisfério sur S.R.L. p 32 – 40. 1995.

PADULLA L.F.L.; ALVES S.B. *Arq. Inst. Biol.*, São Paulo, v.76, n.2, p. 297-302, abr./jun., 2009.

SALLES, L.A.B. de. Principais pragas e seu controle. In: MEDEIROS, C.A.B.; RASEIRA, M. do C. A cultura do pessegueiro. Brasília: EMBRAPA- CPACT,. Cap.8, p. 206-242. 1998.

SANGWAN, A. H. A.; *et al.* Regulation of essential oil productions in plants. *Plant growth regulation*, Netherlands, v. 34, p. 3-31, 2001.

SANTA CECÍLIA, L.V.C.; DE SOUZA, J.C. de. Pragas das frutíferas de clima temperado. Informe Agropecuário, Belo Horizonte, v.11, n.125, p.43-56, 1985.

SIMÕES, C. M. O. *et al.* . FARMACOGNOSIA: da planta ao medicamento. 2. Ed. Porto Alegre. Editora da UFRGS. Florianópolis : Editora da UFSC, 2000.

TAWATSIN, A., S. D. WRATTEN, S. R. Roderic, U. THAVARA & Y. TECHADAMRONGSIN. Repellency of volatile oils from plants against three mosquito vectors. *J. Vector Ecol.* V. 26, n.1 76-82, 2001.

TEIXEIRA, O. P. B. *et al.* , Mecânica dos fluidos: algumas considerações sobre a viscosidade. In: XVI Simpósio Nacional de Ensino de Física, 2005.

UNGANAI, L.S., & F.N. KOGAN,. Drought monitoring and corn yield estimation in Southern Africa from AVHRR data, *Remote Sensing of Environment*, v. 63, n. 219–232, 1998.

WILLINK, E.; SALAS, H.; COSTILLA, M. A. El minador de la hoja de los cítricos, *Phyllocnistis citrella* en el NOA. *Avance Agroindustrial*, Tucuman, v.16, n.65, p.15-20, 1996.