

CARACTERIZAÇÃO QUÍMICA E ATIVIDADE INSETICIDA DO ÓLEO ESSENCIAL DE *Ageratum conyzoides* L. SOBRE A LAGARTA-DO-CARTUCHO DO MILHO *Spodoptera frugiperda* (SMITH, 1797) (Lepidoptera: Noctuidae)

CHEMICAL CHARACTERIZATION AND INSETICIDAL ACTIVITY OF THE ESSENTIAL OIL LEAVES OF *Ageratum conyzoides* L. ON FALL ARMYWORM *Spodoptera frugiperda* (SMITH, 1797) (Lepidoptera: Noctuidae)

Rafaela Karin LIMA¹; Maria das Graças CARDOSO²; Jair Campos MORAES³; Milene Aparecida ANDRADE⁴; Bruno Almeida MELO⁵; Vanessa Gregório RODRIGUES⁶

1. Doutoranda em Agroquímica, Departamento de Química, Universidade Federal de Lavras-UFLA, Lavras, MG, Brasil. rafakarin@yahoo.com.br; 2. Professora, Doutora, Departamento de Química-UFLA, Lavras, MG, Brasil; 3. Professor, Doutor, Departamento de Entomologia-UFLA, Lavras, MG, Brasil; 4. Mestranda em Agroquímica, Departamento de Química-UFLA, Lavras, MG, Brasil; 5. Graduando em Agronomia, Departamento de Entomologia-UFLA, Lavras, MG, Brasil; 6. Graduanda em Química, Departamento de Química-UFLA, Lavras, MG, Brasil.

RESUMO: Os produtos naturais estão cada vez mais presentes na agricultura na forma de pós e extratos, uma vez que estes não persistem no meio ambiente e apresentam baixa toxicidade ao homem e aos insetos polinizadores. Os objetivos desta pesquisa foram identificar e quantificar o óleo essencial de folhas de mentrasto *Ageratum conyzoides* e avaliar sua toxicidade para a lagarta-do-cartucho do milho *Spodoptera frugiperda*. O óleo essencial foi obtido pela técnica “arraste a vapor d’água”, utilizando-se um aparelho de Clevenger modificado e, posteriormente, submetido à análise por cromatografia em fase gasosa acoplada a um espectrômetro de massas CG-EM e CG. Verificou-se que o componente majoritário do óleo essencial de *A. conyzoides* foi o precoceno (87,0%). No teste de ingestão de seções de folha de milho tratadas, o óleo essencial apresentou atividade inseticida para a lagarta, causando mortalidade acima de 70%, a partir da concentração de 0,5%.

PALAVRAS-CHAVE: Precoceno. Produto natural. Biodegradável

INTRODUÇÃO

A lagarta-do-cartucho *Spodoptera frugiperda* (Smith, 1797) (Lepidoptera: Noctuidae) é considerada a principal praga da cultura do milho no Brasil. Este inseto ataca preferencialmente plantas jovens e pode reduzir em até 34% a produção dependendo da idade da planta (VALICENTE; CRUZ, 1991). A resistência deste inseto-praga aos inseticidas convencionais utilizados e o alto custo dos novos compostos ativos são os principais problemas encontrados para o seu controle (LIMA; YU et al., 2006, 2003).

Por outro lado, além da eficiência de controle, a biodegradabilidade dos pesticidas passou a ser um requisito de extrema importância, oferecendo maior segurança ao homem e ao meio ambiente. Os óleos essenciais são compostos voláteis, derivados de plantas que vem se destacando no controle de insetos, os quais já fazem parte de formulações de pesticidas capazes de matar e repelir insetos (ISMAN, 2000).

Alguns óleos essenciais já demonstraram ação inseticida e/ou repelente à lagarta *S. frugiperda*. Dentre eles, destacam-se o de citronela

(*Cymbopogon winterianus* J.), o de mil-folhas (*Achillea millefolium* L.), o de tomilho (*Thymus vulgaris* L.), o de goiabeira (*Psidium guajava* L.), apresentando como constituintes majoritários o citronelal e citronelol, germanceno-D, o timol e o 1,8-cineol e α -terpineol, respectivamente (CASTRO et al., 2006; LABINAS et al., 2006; LIMA, 2006).

O mentrasto *Ageratum conyzoides* L. (Asteraceae) é uma planta conhecida no Brasil e em outros países da América. O extrato desta planta apresenta propriedades fitoterápicas, analgésicas, cicatrizantes (MAGALHÃES; MOURA et al., 1998, 2005), alelopáticas, antimicrobianas (MARTINS et al., 2005) e inseticida (BOUDA et al., 2001). Várias classes de compostos já foram descritas como monos e sesquiterpenos, triterpenos, flavonóides, esteróis, alcalóides e óleo essencial, constituído de precocenos (I e II) com variações de 30 a 93% (MING, 1999; NÉBIÉ, OKUNADE, RANA et al., 2004, 2002, 2003).

Visando o controle de insetos-praga e em virtude da crescente busca de informações sobre novos compostos naturais, objetivou-se neste trabalho identificar e quantificar o óleo essencial de

folhas de mentrasto *A. conyzoides* e avaliar sua toxicidade para a lagarta-do-cartucho do milho *S. frugiperda*.

MATERIAL E MÉTODOS

Extração e caracterização do óleo essencial

Foram utilizadas folhas frescas de *A. conyzoides* coletadas na região de Lavras (MG) em dias ensolarados e ausentes de chuva, pela manhã, em torno das 7 horas entre maio e junho de 2007. O material vegetal foi identificado pelo Prof. Manoel Losada Gavilanes do Departamento de Biologia da Universidade Federal de Lavras e sua exsiccata encontra-se depositada no Herbário da UFLA (Registro 12.726).

O processo de extração do óleo essencial foi realizado no Laboratório de Química Orgânica da Universidade Federal de Lavras - UFLA. As folhas de *A. conyzoides*, após terem sido coletadas, foram picadas e pesadas (300g). O óleo essencial foi obtido pela técnica “arraste a vapor d’água”, utilizando-se um aparelho de Clevenger modificado. A extração foi realizada durante 2,5 horas. Coletou-se o hidrolato, separando-se a fase aquosa e orgânica por centrifugação em centrífuga de cruzeta horizontal a 965,36 g por 5 minutos. O óleo foi coletado com o auxílio de uma micropipeta, pesado e colocado em um frasco de vidro âmbar, devidamente limpo e envolto com papel alumínio (CASTRO et al., 2006).

Para identificação dos compostos, o óleo essencial foi submetido à cromatografia em fase gasosa, usando um equipamento da marca Shimadzu (GC-17A) acoplado a um espectrômetro de massas com detector seletivo (QP 5000). Para a análise empregou-se uma coluna cromatográfica do tipo capilar de sílica fundida e fase ligada (modelo DB5; 30 cm de comprimento 0,25 mm de diâmetro interno), usando como carreador o gás hélio (1 mL/min) nas temperaturas de 220°C no injetor e 240°C no detector. A temperatura do forno foi programada entre 40 a 240°C, com acréscimo de 3°C a cada minuto. A identificação dos compostos foi feita por comparações dos espectros de massas com os já existentes na biblioteca (Wiley 229) e pelo índice de Kovats (ADAMS, 1995).

A quantificação dos constituintes de cada óleo essencial foi realizada utilizando-se um cromatógrafo gasoso da marca Shimadzu (GC-17A), equipado com detector de ionização de chama de hidrogênio e coluna capilar modelo DB5 (30 cm de comprimento e 0,25 mm de diâmetro interno). O gás de arraste utilizado foi o nitrogênio (2,2 mL/min); a taxa split 1:10 e volume injetado de 1 µL. A

temperatura inicial da coluna foi de 45°C sendo programada para um acréscimo de 3°C a cada minuto, até a temperatura máxima de 240°C. As temperaturas do injetor e do detector foram fixadas em 220 e 240°C, respectivamente, com a pressão da coluna de 115 KPa. Foram realizadas três injeções, para o cálculo da concentração média de cada componente presente no óleo essencial. Sendo esta concentração encontrada, por normalização das áreas dos picos apresentados nos cromatogramas, dado em porcentagem (%) em relação ao volume injetado de óleo essencial.

Bioensaio toxicológico

A criação de lagartas foi realizada no Departamento de Entomologia da UFLA, em dieta artificial à base de feijão e levedura, sendo mantidas em câmara climatizada regulada a 25±2°C, umidade relativa de 70±10% e fotofase de 12 horas (KASTEN-JUNIOR, 1978).

Os tratamentos consistiram na diluição do óleo essencial em acetona nas concentrações 0,1; 0,5; 1,0; 2,0 e 3,0%. Para a montagem do experimento foram utilizadas seções de folhas de milho com 10 cm², que após limpas foram mergulhadas nos tratamentos durante 5 segundos. Utilizaram-se duas testemunhas, uma com água e outra com acetona. Após a total evaporação do solvente, as seções de folhas tratadas foram colocadas sobre placas de Petri de 6 cm de diâmetro, forradas com papel de filtro, as quais receberam 10 lagartas de 1° instar recém eclodidas (BORGONI; VENDRAMIM, 2005).

Adotou-se o delineamento inteiramente casualizado, com sete tratamentos e cinco repetições. A avaliação de mortalidade das lagartas foi realizada após 24 horas do contato das lagartas com os tratamentos. Os dados foram transformados em $\sqrt{X+0,5}$ e submetidos à análise de variância, sendo as médias comparadas pelo teste Tukey ($P \leq 0,05$) utilizando-se o programa estatístico Sisvar (Ferreira, 2000).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

O óleo essencial de *A. conyzoides* apresentou como compostos majoritários o precoceno (87,0 %), seguido do (E)-cariofileno (7,1 %) e, em baixas concentrações, os sesquiterpenos β -cubebeno, α -humuleno, germancreno-D, γ -cadineno e δ -cadineno (Tabela 1), confirmando os resultados relatados na literatura (CASTRO; MARTINS et al., 2004, 2005). De acordo com estudos de Rana e Blazquez (2003) o óleo essencial desta espécie

coletada na Índia apresentou o precoceno com (32,9%) e o (E)-cariofileno com (19,8%). A composição dos óleos essenciais é variável de

acordo com as condições ambientais e de cultivo, portanto podendo afetar na suas atividades biológicas (SIMÕES; SPTIZER, 2004).

Tabela 1. Composição química, concentração média \pm desvio padrão e índices de Kovats (calculado e tabelado) para o óleo essencial de *A. conyzoides*

Composto	Concentração (%)	I kcal*	I ktab*
β -cubebeno	0,7 \pm 0,00	1385	1390
(E)-cariofileno	7,1 \pm 0,13	1414	1404
α -humuleno	1,2 \pm 0,02	1449	1454
Precoceno	87,0 \pm 0,14	1466	1469
Germancreno-D	0,5 \pm 0,01	1478	1480
γ -cadineno	1,2 \pm 0,06	1488	1513
δ -cadineno	0,5 \pm 0,03	1516	1524

* I kcal = índice de Kovats calculado / I ktab = índice de Kovats tabelado (ADAMS, 1995)

Verificou-se que o óleo essencial de *A. conyzoides* foi tóxico para a lagarta *S. frugiperda* em todas as concentrações avaliadas, ocorrendo mortalidade até mesmo na concentração de 0,1% (Tabela 2). A mortalidade das lagartas nas diferentes

concentrações do óleo essencial diferiu significativamente das testemunhas, sendo crescente com o aumento da concentração. A partir de 0,5% a mortalidade foi superior a 70%, sendo praticamente 100% nas maiores concentrações.

Tabela 2. Porcentagem de mortalidade média \pm desvio padrão de lagartas *S. frugiperda* causada pelo óleo essencial de *A. conyzoides* após 24 horas

Tratamentos	Mortalidade (%)
Testemunha (sem tratamento)	0,0 \pm (0,0) d
Testemunha (acetona)	0,0 \pm (0,0) d
Óleo Essencial 0,1 %	14,0 (5,5) c
Óleo Essencial 0,5 %	76,0 (6,7) b
Óleo Essencial 1,0 %	96,0 (7,0) ab
Óleo Essencial 2,0 %	100,0 (0,0)a
Óleo Essencial 3,0 %	100,0 (0,0)a

*Médias seguidas da mesma letra não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey (P \leq 0,05).

Pelos resultados obtidos pode-se confirmar a toxicidade do óleo essencial de *A. conyzoides* para *S. frugiperda*. Visando o controle do besouro *Sitophilus zeamais* (Mots.) (Coleoptera: Curculionidae), BOUDA et al. (2001) estudaram o efeito do óleo essencial de *A. conyzoides* sobre este inseto, verificando alta mortalidade com concentração letal (CL₅₀) de 0,09 %. Esses autores atribuíram esta atividade a presença das substâncias precocenos I e II, encontradas em sua composição. Posteriormente, estudos MENDONÇA et al. (2005) observaram que o mosquito *Aedes aegypti* (L.) (Diptera: Culicidae) foi altamente sensível a este óleo essencial, ocorrendo 100% de mortalidade de larvas às 48 horas após o início dos experimentos.

Os resultados foram condizentes quanto à toxicidade do óleo essencial, e quando observados aspectos fisiológicos das lagartas, verificou-se que aquelas que sobreviveram, após 20 dias não cresceram comparado com a testemunha. A atividade inseticida de óleos essenciais pode ocorrer

de diversas formas causando mortalidade, deformações em diferentes estágios de desenvolvimento como também repelência, portanto, sua eficiência pode aumentar quando o mesmo atua também na sua fisiologia (ISMAN, 2000).

Algumas pesquisas têm associado os efeitos tóxicos do óleo essencial de *A. conyzoides* a insetos devido à presença de precocenos, que possuem ação sobre o hormônio juvenil induzindo metamorfose precoce em larvas e, conseqüentemente, de adultos com problemas morfológicos, fisiológicos e reprodutivos (MING; OKUNADE, 1999, 2002). A avaliação da atividade inseticida de óleos essenciais e extratos é o primeiro passo para a descoberta de novas moléculas que possam servir como modelo para a descoberta de novos inseticidas (BAKKALI et al., 2008).

CONCLUSÃO

O óleo essencial de *A. conyzoides* possui o precoceno (87,0 %) como composto majoritário, e apresentou atividade inseticida para a lagarta-do-cartucho *S. frugiperda*.

AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem a CAPES, ao CNPq e a FAPEMIG, pelo auxílio financeiro e as bolsas concedidas.

ABSTRACT: The natural products are increasingly present in agriculture in the form of powders and extracts, since they do not persist in the environment and have low toxicity to humans and the insect pollinators. The objectives of this research were evaluated of the chemical composition and bioactivity of the essential oil from leaves *Ageratum conyzoides* L., on the fall armyworm *Spodoptera frugiperda*. The essential oil was obtained by steam distillation, using the modified Clevenger apparatus, and the chemical composition was analyzed by gas chromatography coupled to mass spectroscopy GC-MS and GC. There is major component of essential oil of *A. conyzoides* was the precoceno (87.0%). In ingestion test with leaves of maize treated, the essential oil presented insecticidal activity, causing death of efficient control, over 70%, from the concentration of 0.5%.

KEYWORDS: Precocene. Natural product. Biodegradable.

REFERÊNCIAS

- ADAMS, R. P. **Identification of essential oil components by gas chromatography/mass spectroscopy.** Carol Stream: Allured, 1995. 469p.
- BAKKALI, F.; AVERBECK, S.; AVERBECK, D.; IDAOMAR, M. Biological effects of essential oils. **Food and Chemical Toxicology**, Oxford, v. 46, n. 2, p. 446–475, Feb. 2008.
- BORGONI, P. C.; VENDRAMIM, J. D. Efeito Subletal de Extratos Aquosos de *Trichilia* spp. Sobre o Desenvolvimento de *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith) (Lepidoptera: Noctuidae) em Milho. **Neotropical Entomology**, Londrina, v. 34, n. 2, p. 311-317, mar./abr. 2005.
- BOUDA, H.; TAPONDJOU, A.; FONTEM, D. A.; GUMEDZOE, M. Y. Effect of essential oils from leaves of *Ageratum conyzoides*, *Lantana camara* and *Chromolaena odorata* on the mortality of *Sitophilus zeamais* (Coleoptera: Curculionidae). **Journal Stored Product Research**, Oxford, v. 37, n. 2, p. 103-109, Apr. 2001.
- CASTRO, H. G. de; OLIVEIRA, L. O. de E; ALMEIDA, L. C. de B.; FERREIRA, F. A.; SILVA, D. J. H. da; MOSQUIM, P. R.; NASCIMENTO, E. A. Teor e composição do óleo essencial de cinco acessos de mentrasto. **Química Nova**, São Paulo, v. 27, n. 1, p. 55-57, jan./fev. 2004.
- 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**, Botucatu, v. 8, n. 4, p. 27-32, 2006.
- FERREIRA, D. F. Análises estatísticas por meio do Sisvar para Windows versão 4.0. In: REUNIÃO ANUAL DA REGIÃO BRASILEIRA DA SOCIEDADE INTERNACIONAL DE BIOMETRIA, 45., 2000, São Carlos. **Anais...** São Carlos: UFSCar., 2000. p. 255-258.
- ISMAN, M. B. Plant essential oil for pest and disease management. **Crop protection**, Oxford, v. 9, n. 8-10, p. 603-608, Sept./Dec. 2000.
- 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**, Piracicaba, v. 53, n. 1-2, p. 68-78, jun. 1978.

- 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**, Maringá, v. 24, n. 5, p. 1401-1405, Sept./ Oct. 2002.
- 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 Amazônica**, Manaus, v. 36, n. 2, p. 147-150, abr./jun. 2006.
- LIMA, R. K. **Caracterização química e bioatividades do óleo essencial de folhas de goiabeira sobre a lagarta-do-cartucho do milho**. 2006. 56 f. Dissertação (Mestrado em Agroquímica) – Universidade Federal de Lavras, Lavras.
- MAGALHÃES, J. F. G.; VIANA, C. F. G.; ARAGÃO JUNIOR, A. G. M.; MORAES, V. RIBEIRO, R. A.; VALE, M. R. Analgesic and antiinflammatory activities of *Ageratum conyzoides* in rats. **Phytotherapy Research**, London, v. 11, n. 3, p. 183-188, July/Sept. 1998.
- MARTINS, A. P.; SALGUEIRO, L. R.; GONÇALVES, M. J.; VILA, R.; CANIGUERAL, S.; TOMI, F.; CASANOVA, J. Essential oil composition and antimicrobial activity of *Ageratum conyzoides* from S. Tomé and Príncipe. **Journal Essential Oil Research**, Carol Stream, v. 17, n. 3, p. 239-242, May/June 2005.
- MENDONÇA, F. A. C.; SILVA, K. F. S.; SANTOS, K. K.; RIBEIRO JÚNIOR, K. A. L.; SANT'ANA, A. E. G. Activities of some Brazilian plants against larvae the mosquito *Aedes aegypti*. **Fitoterapia**, Amsterdam, v. 76, n. 7-8, p. 629- 636, Dec. 2005.
- MING, L. C. *Ageratum conyzoides*: a tropical source of medicinal and agricultural products. In: JANICK, J. (Ed.). **Perspectives on new crops and new uses**. Alexandria: ASHS, 1999. p. 469-473.
- MOURA, A. C. A.; SILVA, E. L. F.; FRAGA, M. C. A.; WANDERLEY, A. G.; AFIATPOUR, P.; MAIA, M. B. S. Anti-inflammatory and chronic toxicity study of the leaves of *Ageratum conyzoides* L. in rats. **Phytomedicine**, Jena, v. 12, n. 1-2, p. 138-142, Jan. 2005.
- NÉBIÉ, R. H. C.; YAMÉOGO, R. T.; BÉLANGER, A.; SIB, F. S. Composition chimique des huiles essentielles d'*Ageratum conyzoides* du Burkina Faso. **Comptes Rendus Chimie**, Paris, v. 7, n. 10-11, p.1019-1022, Oct./Nov. 2004.
- OKUNADE, A. L. *Ageratum conyzoides* L. Asteraceae. **Fitoterapia**, Amsterdam, v. 73, n. 1, p. 1-16, Feb. 2002.
- RANA, V. S.; BLAZQUEZ, M. A. Chemical composition of the volatile oil of *Ageratum conyzoides* aerial parts. **The International Journal of Aromatherapy**, Amsterdam, v. 13, n. 4, p. 203-206, 2003.
- SIMÕES, C. M.; SPITZER, V. Óleos voláteis. In: SIMÕES, C. M. O.; SCHENKEL, E. P.; GOSMANN, G.; MELLO, J. C. P.; MENTZ, L. A.; PETROVICK, P. R. **Farmacognosia: da planta ao medicamento**. 5. ed. Porto Alegre: UFRGS; Florianópolis: UFSC, 2004. p. 467-495.
- VALICENTE, F. H.; CRUZ, I. **Controle biológico da lagarta-do-cartucho do milho, *Spodoptera frugiperda*, com o baculovírus**. Sete Lagoas: EMBRAPA/CNPMS, 1991. 23 p. (Circular técnica, n. 15), 1991. 23 p.
- YU, S. J.; NGUYEN, S. N.; ABO-ELGHAR, G. E. Biochemical characteristics of insecticide resistance in the fall armyworm, *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith). **Pesticide Biochemistry and Physiology**, San Diego, v. 77, n. 1, p. 1-11, Sept. 2003.