

## EFEITO DE NANOEMULSÃO A BASE DE ÓLEO ESSENCIAL DE *Cymbopogon* sp. SOBRE *Raoiella indica*

Camila Groner Milbratz<sup>1</sup>, Ana Beatriz Mamedes Piffer<sup>2</sup>, Marcos Delboni Scardua<sup>1</sup>, Luiz Gustavo Santos Silva<sup>3</sup>, Hidelgardo Seibert Franca<sup>3</sup>, Ronilda Lana Aguiar<sup>1</sup>, Anderson Mathias Holtz<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Espírito Santo – Campus Itapina, Rodovia BR-259, Km 70 – Zona Rural - 29717-000 – Colatina – ES, Brasil, [camilagroner05@gmail.com](mailto:camilagroner05@gmail.com), [@marcos.scardua@gmail.com](mailto:@marcos.scardua@gmail.com), [@ronilda.aguiar@ifes.edu.br](mailto:@ronilda.aguiar@ifes.edu.br), [@anderson.holtz@ifes.edu.br](mailto:@anderson.holtz@ifes.edu.br)

<sup>2</sup>Universidade Federal do Espírito Santo, Centro de Ciências Agrárias e Engenharias – Campus Alegre, Alto Universitário - 29500-000 - Guararema, Alegre - ES, Brasil, [@ana.piffer123@gmail.com](mailto:@ana.piffer123@gmail.com).

<sup>3</sup>Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Espírito Santo / Laboratório de Desenvolvimento de Bioprodutos, Avenida Min. Salgado Filho, 1000, Soteco - 29106-010- Vila Velha – ES, Brasil, [@luiz.gustavo\\_santos@outlook.com](mailto:@luiz.gustavo_santos@outlook.com), [@hildegardo.franca@ifes.edu.br](mailto:@hildegardo.franca@ifes.edu.br).

### Resumo

O ácaro vermelho da palmeira, *Raoiella indica* Hirst, 1924 (Prostigmata: Tenuipalpidae), destaca-se pela alta capacidade reprodutiva, adaptação a novos hospedeiros e alto poder de dispersão, representando uma séria ameaça para culturas como o coco e a banana. Portanto, este estudo teve como objetivo avaliar o potencial acaricida da nanoemulsão do óleo essencial de Citronela sobre o ácaro vermelho da palmeira. Os óleos essenciais são metabólitos secundários extraídos de diversas partes de plantas aromáticas, que contém compostos que apresentam atividade larvicida, inseticida e acaricida. Além disso, seu efeito é potencializado pelas nanoemulsões. Foram realizadas 7 repetições, com 10 indivíduos de *R. indica* por repetição. Posteriormente, foi aplicado o óleo essencial em diferentes concentrações: 0,00% (controle), 0,1; 0,14; 0,19; 0,26; 0,36; e 0,5% em fêmeas adultas de *R. Indica*. O efeito acaricida foi avaliado às 12, 24, 36, 48, 60 e 72 horas após a pulverização. A análise estatística foi realizada com teste de Tukey, observando que a maior concentração do óleo essencial de citronela resultou em 100% de mortalidade dos indivíduos de *R. Indica*.

**Palavras-chave:** Citronela. Controle alternativo. Ácaro vermelho da palmeira.

**Área do Conhecimento:** Engenharia agrônoma – Agronomia.

### Introdução

Considerando as pragas que foram recentemente introduzidas nas Américas, o ácaro-vermelho-das-palmeiras, *Raoiella indica* Hirst, 1924 (Prostigmata: Tenuipalpidae), é a mais invasiva, tendo se espalhado rapidamente por vários países do Caribe, Estados Unidos, México, Venezuela, Colômbia e Brasil (Amaro *et al.*, 2021). Estes mesmos autores argumentam que no Brasil a referida espécie praga está presente em vários estados, com elevado potencial de dispersão em outras regiões, representando uma séria ameaça para culturas como o coco, banana, palmeiras nativas e exóticas e flores tropicais, como as da família Heliconiaceae.

*R. indica* destaca-se por apresentar alta capacidade reprodutiva, reprodução por partenogênese, rápida disseminação e adaptação a novos hospedeiros (Navia *et al.*, 2015). Esta praga possui hábito polífago e geralmente se alimenta na face abaxial das folhas, por meio da introdução das quelíceras (semelhantes à estiletos dos insetos sugadores) nos estômatos através do ostíolo, causando amarelecimento, manchas escuras e dessecamento das folhas. Em populações elevadas esta espécie pode promover ataques severos e danos significativos, podendo causar a morte de coqueiros novos no viveiro ou no campo e acarretar uma redução de 90% da produtividade (Ochoa *et al.*, 2011; Navia *et al.*, 2015). Além disso, o ataque do ácaro pode causar danos estéticos em áreas turísticas, principalmente em regiões litorâneas, onde o coqueiro e outras palmeiras são um importante componente da paisagem (Navia *et al.*, 2015).

O controle dessa praga é frequentemente realizado por produtos químicos sintéticos em várias partes do mundo, e, embora essa abordagem seja eficaz, há preocupações quanto ao impacto

ambiental causado por uso desses inseticidas e acaricidas, além de afetarem organismos não alvos. Portanto, busca-se métodos alternativos para controle dessa praga. Uma das formas de controle alternativo que podem ser utilizadas sobre estas espécies de pragas é o uso de nanoemulsões de subprodutos de origem vegetal. As nanoemulsões são reconhecidas como forma de veículos para substâncias não solúveis ou pouco miscíveis em água. É um sistema coloidal termodinamicamente instável de dois líquidos imiscíveis que são cineticamente estabilizados por um surfactante devido a formação de gotas em escala nanométricas no sistema fornecendo uma série de vantagens, como maior estabilidade, características organolépticas favoráveis, maior poder de penetração por membranas, maior biodisponibilidade, incremento da solubilidade em água para substâncias pouco solúveis e até mesmo liberação controlada de substâncias presentes nos produtos (Ortiz-zamora *et al.*, 2020). Nesse sentido, o óleo de citronela é um dos mais utilizados, sendo relatado no combate de mosquitos da dengue, malária, e febre amarela (Isman, 2006; Daflon *et al.*, 2021). Dessa forma, o presente trabalho objetivou utilizar a nanoemulsão do óleo essencial de Citronela (*Cymbopogon sp.*) para o controle alternativo do ácaro vermelho das palmeiras (*R. indica*).

## Metodologia

### Criação de *Raoiella indica*

A criação do ácaro foi realizada em mudas de coqueiro anão (*Cocos nucifera* L.), plantadas em vasos de 5 litros, utilizando-se terra e esterco de curral curtido, e, mantidas em casa de vegetação, no setor de Horticultura do IFES – Campus Itapina. Para infestação inicial, folíolos com *R. indica* foram colocados em contato com mudas de coco anão. Quando as plantas apresentaram sintomas de alta infestação pelos ácaros, como amarelecimento e necrose foliar, estas foram colocadas junto as plantas sadias para que os ácaros colonizem outra planta e a criação fosse contínua. As mudas foram irrigadas com auxílio de um sistema de gotejamento automatizado e os tratos culturais foram realizados conforme a necessidade. Produtos químicos não foram utilizados para controle de pragas e doenças.

### Obtenção dos óleos essenciais

O óleo essencial utilizado neste projeto foi o óleo de citronela (*Cymbopogon sp.*) adquirido comercialmente e posteriormente formulado em nanoemulsão. A escolha dessa espécie vegetal se deu através dos resultados obtidos de investigações anteriores por alunos colaboradores do projeto.

### Métodos de emulsificação por baixo aporte de energia

A fase oleosa e os tensoativos foram adicionados em um béquer e aquecidos a  $75 \pm 5^\circ\text{C}$ . A fase aquosa, constituída de água destilada, também foi aquecida a essa temperatura e posteriormente adicionada lentamente sobre a fase oleosa, sob agitação constante, por um período de 10 minutos. Em seguida, o sistema foi resfriado à temperatura ambiente, sob agitação constante, por mais 10 minutos. As nanoemulsões contendo óleos essenciais e substâncias termolábeis foram preparadas conforme a metodologia proposta por Ostertag, Weiss e McClements (2012), com algumas modificações. A fase oleosa e os tensoativos foram agitados por 30 minutos à temperatura ambiente. Posteriormente, a fase aquosa foi adicionada sob fluxo constante e o sistema foi agitado por mais 60 minutos à temperatura ambiente. As nanoemulsões obtidas foram acondicionadas ao abrigo da luz para análise do tamanho de partícula (Fernandes *et al.*, 2014; Lima *et al.*, 2021; Ortiz-Zamora *et al.*, 2020).

### Determinação do valor de Equilíbrio Hidrófilo-Lipófilo (EHL) requerido da fase oleosa

Foram preparadas diversas emulsões constituídas por 5% de fase oleosa, 5% de tensoativos e 90% de fase aquosa. Uma ampla faixa de EHL foi obtida por meio da utilização de diferentes proporções de um par de tensoativos.

O EHL resultante de cada mistura de tensoativos foi determinado com base na fórmula a seguir:

Onde:

EHL<sub>m</sub> é o valor de EHL resultante da mistura de dois tensoativos

EHL<sub>A</sub> é o valor de EHL do tensoativo mais hidrofóbico

EHL<sub>B</sub> é o valor de EHL do tensoativo mais hidrofílico

A% é o percentual do tensoativo mais hidrofóbico

B% é o percentual do tensoativo mais hidrofílico

A% + B% = 100

O valor de EHL requerido para os óleos foi definido pelo EHL do tensoativo ou mistura de tensoativos capaz de formar a emulsão com menor tamanho médio de gotícula e mais estável (Salager, 2000).

#### Diagrama ternário

Este método se baseia na utilização de um triângulo equilátero, em que cada um dos vértices corresponde a 100 % da composição de cada constituinte da formulação. A razão tensoativo/cotensoativo correspondente ao EHL requerido do óleo vegetal empregado foi mantido e novas emulsões foram preparadas variando-se a proporção entre os constituintes (água, tensoativo/cotensoativo/óleo). A análise do tamanho médio das gotículas das emulsões geradas foi realizada com o intuito de se traçar a zona de nanoemulsão (Fernandes *et al.*, 2014).

#### Método de Emulsificação/Evaporação do Solvente

As nanoemulsões foram preparadas conforme metodologia descrita por Leonget *et al.* (2011), com algumas modificações. A amostra foi solubilizada em um solvente orgânico adequado, enquanto o (s) tensoativo (s) foram solubilizados em água destilada. A fase orgânica foi adicionada sob agitação constante sobre a fase aquosa, sendo o sistema agitado pelo período de 10 minutos. Em seguida, o solvente orgânico evaporou sob pressão reduzida e as nanoemulsões obtidas acondicionadas ao abrigo da luz para análise do tamanho de partícula.

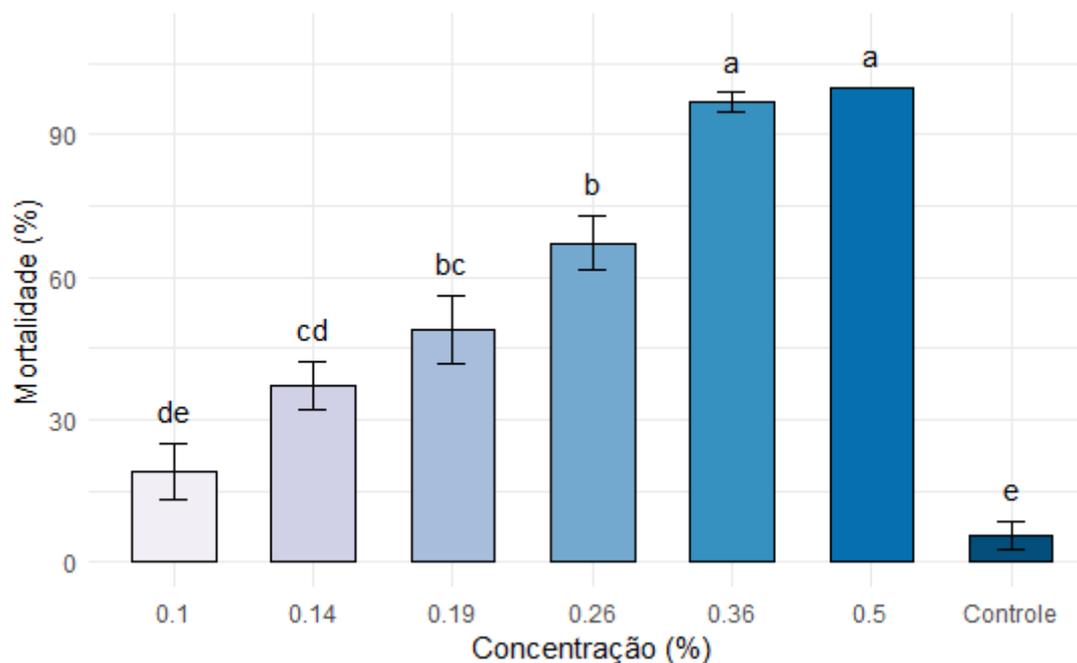
#### Bioensaios com nanoemulsões de óleos essenciais sobre *Raoiella indica* em laboratório

As nanoemulsões de óleos essenciais foram testadas sobre adultos de *R. indica* em diferentes concentrações (0,1; 0,14; 0,19; 0,26; 0,36; e 0,5%) à medida que os óleos essenciais foram se apresentando estáveis na preparação das nanoemulsões. Cada tratamento foi composto por 9 repetições, com 10 indivíduos por repetição. As unidades experimentais foram compostas por placas de Petri (10,0 x 1,2 cm), com discos de folha de de coqueiro com cerca de 4 cm de diâmetro, tendo algodão umedecido ao redor para manter a turgescência da folha e evitar a fuga dos ácaros. A pulverização foi realizada utilizando um aerógrafo modelo Alfa 2, conectado a um compressor calibrado com pressão constante de 1.3 psi e 1mL de solução para cada repetição. Um grupo controle usando água destilada foi utilizado como comparativo. As unidades experimentais foram mantidas em câmaras climatizadas do tipo B.O.D., à temperatura de  $25 \pm 1^\circ\text{C}$ , umidade relativa  $70 \pm 10\%$  e fotofase de 12h. O efeito acaricida foi avaliado 12, 24, 36, 48, 60 e 72 horas após as pulverizações. A mortalidade corrigida foi calculada em relação à testemunha pela fórmula de Abbott (1925).

#### Resultados

O teste apresentou uma mortalidade significativa dos indivíduos expostos ao óleo essencial de citronela. Conforme ilustrado na Figura 01, houve um aumento consistente na taxa de mortalidade ao longo do experimento, diretamente correlacionado com o aumento da concentração do óleo essencial. Observa-se que, a partir da concentração de 0,36%, as taxas de mortalidade ultrapassaram os 90%, evidenciando a eficácia do óleo em níveis relativamente baixos. Esses dados sugerem que até mesmo pequenos incrementos na concentração do óleo essencial de citronela podem causar um aumento expressivo na mortalidade de *R. indica*, destacando seu potencial como acaricida.

Figura 1- Porcentagem de mortalidade de *Raoiella indica* nas diferentes concentrações do óleo essencial de *Cymbopogon* sp. Temp.:  $25 \pm 1^\circ\text{C}$ , UR  $70 \pm 10\%$  e 12h de fotofase.



Fonte: os autores

## Discussão

Através destes resultados, é possível observar a eficiência do óleo essencial de citronela no controle do ácaro vermelho das palmeiras. Atividades promovidas por esse óleo essencial também foram registradas no inseto gorgulho do milho, nas concentrações de 0,2%, 0,4%, 0,6% e 0,8% (Lopes, Monkolski, Monkolski e Siqueira, 2023). Os resultados destacaram um aumento significativo na repelência da praga nas duas maiores concentrações. Além disso, a aplicação do óleo teve um efeito significativo na redução da postura de ovos nos tratamentos com 0,4% e 0,6%.

Os óleos essenciais são metabólitos secundários extraídos de diversas partes de plantas aromáticas, possuem composição química complexa e garantem aos vegetais vantagens adaptativas no meio em que estão inseridos. A atividade desses óleos é principalmente devida a terpenoides e compostos fenólicos, que demonstram, por exemplo, alta atividade antibacteriana (Oussalah *et al.*, 2007). Esses metabólitos causam toxicidade às pragas, desempenhando diversas funções, como inibição alimentar, toxicidade direta, impedimento da oviposição, interrupção da transdução do sinal neuronal e à interferência na replicação do DNA, na síntese de proteínas e na atividade enzimática (Divekar *et al.*, 2022).

Estudos indicam que os óleos essenciais extraídos da citronela independente da área de cultivo, geralmente contêm como compostos majoritários, o citronelal, citronelol, geraniol, eugenol e limoneno (Ganjewala, 2009). O citronelal e o geraniol são reconhecidos por suas propriedades larvicidas (Martins 2006). O composto de Citronelal ainda é o repelente natural mais confiável e mais utilizado no mundo no combate a mosquitos transmissores de malária, dengue e febre amarela (Isman, 2006). Pesquisas como as de Santos *et al.* (2015) corroboram com o desse experimento, sugerindo que o óleo essencial de citronela demonstrou eficiência significativa como acaricida podendo ser intensificada a sua utilização como alternativa de controle de *Rhipicephalus (Boophilus) microplus*.

Ademais, os óleos essenciais tem seu efeito inseticida e acaricida potencializado pelo uso de nanoemulsões. O tamanho reduzido das partículas acelera a penetração do produto através da cutícula do artrópode, desempenhando um papel crucial em sua atividade inseticida. A eficiência das nanoformulações pode variar conforme o tempo de exposição, a concentração das formulações e o método de aplicação (Heydari *et al.*, 2019).

Entretanto, a mortalidade também pode ter relação com o método de exposição direta do óleo sobre o ácaro e seu alimento, pois quando ocorre ação direta sobre o inseto, as substâncias atingem o sistema nervoso central, causando a morte imediata (Buszewski *et al.*, 2019).

### Conclusão

A nanoemulsão do óleo essencial de citronela demonstrou um aumento gradual no efeito acaricida sobre o ácaro vermelho das palmeiras em diferentes concentrações.

### Referências

AMARO, George Correa *et al.* Distribuição Geográfica Atual e Potencial do Ácaro-vermelho-das-palmeiras (*Raoiella indica* Hirst) no Brasil. **Embrapa: BOLETIM DE PESQUISA E DESENVOLVIMENTO** 52, Roraima, v. 10, n. 10, p. 10-10, dez. 2021.

BUSZEWSKI, B. *et al.* A holistic study of neonicotinoids neuroactive insecticides—properties, applications, occurrence, and analysis. **Environmental Science and Pollution Research**, v. 26, n. 34, p. 34723–34740, 13 set. 2019.

DAFLON, T. M. *et al.* O uso da citronela no controle da dengue: revisão. **Saúde e meio ambiente: revista interdisciplinar**, v. 10, p. 170-182, 2021.

DIVEKAR, P. A. *et al.* Plant Secondary Metabolites as Defense Tools against Herbivores for Sustainable Crop Protection. [S.l.], v. 23, n. 5, p. 2690–2690, 28 fev. 2022

GANJEWALA, D. Cymbopogon essential oils: chemical compositions and bioactivities. **International Journal of Essential Oil Therapeutics**, v. 3, p. 56-65, 2009.

HEYDARI, M. *et al.* Eco-friendly pesticide based on peppermint oil nanoemulsion: preparation, physicochemical properties, and its aphicidal activity against cotton aphid. [S.l.], v. 27, n. 6, p. 6667–6679, 24 dez. 2019

ISMAN, M. B. Botanical insecticides, deterrents, and repellents in modern agriculture and an increasingly regulated world. **Annu. Rev. Entomol.**, v. 51, p. 45-66, 2006.

LOPES, Suelen Zanco Balbinoti; MONKOLSKI, Alexandre; MONKOLSKI, Jakeline Galvão de França; SIQUEIRA, Diogo José. Influência do óleo essencial de citronela na repelência e mortalidade de *Sitophilus zeamais*. **Scientific Electronic Archives**, [S.L.], v. 16, n. 4, 30 mar. 2023. Scientific Electronic Archives.

MARTINS, R.M. Estudo in vitro da ação acaricida do óleo essencial da gramínea Citronela de Java (*Cymbopogon winterianus* Jowitt) no carrapato *Boophilus microplus*. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v.8, n.2, p.71- 8, 2006

NAVIA, D. *et al.* Ácaro vermelho das palmeiras, *Raoiella indica* Hirst. In: VILELA, E.F.; ZUCCHI, R.A. (Ed.). **Pragas introduzidas no Brasil: Insetos e ácaros**. Piracicaba: FEALQ, p. 418 – 452, 2015.

OCHOA, R. *et al.* Herbivore exploits chink in armor of Host. **Am Entomol**, v.57, n.1, p.26–29,2011

ORTIZ-ZAMORA, L. *et al.* Preparation of non-toxic nano-emulsions based on a classical and promising Brazilian plant species through a low-energy concept. **Industrial Crops and Products**, v. 158, p. 112989, 15 dez. 2020.

OUSSALAH, M. *et al.* Inhibitory effects of selected plant essential oils on the growth of four pathogenic bacteria: *E. coli* O157:H7, *Salmonella* Typhimurium, *Staphylococcus aureus* and *Listeria monocytogenes*. **Food Control**, v. 18, n. 5, p. 414-420, 2007

SANTOS, Tânia Regina Bettin dos; CASTRO, Natália Ávila de; BRETANHA, Lizandra Czermainski; SCHUCH, Luiz Filipe Damé; FREITAG, Rogério Antônio; NIZOLI, Leandro Quintana. ESTUDO IN VITRO DA EFICÁCIA DE CITRONELA (*Cymbopogon wynterianus*) SOBRE CARRAPATO *Rhipicephalus (Boophilus) microplus*. **Science And Animal Health**, [S.L.], v. 3, n. 1, p. 135, 2 abr. 2015. Universidade Federal de Pelotas. <http://dx.doi.org/10.15210/sah.v3i1.4765>.

#### **Agradecimentos**

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico “CNPq”, à Fundação de Apoio à Pesquisa e Inovação do Espírito Santo “FAPES” e ao Instituto Federal do Espírito Santo - Campus Itapina pelo apoio a esta pesquisa.