

AÇÃO DE NANOEMULSÃO DO ÓLEO ESSENCIAL DE *Cymbopogon flexuosus* NO MANEJO ALTERNATIVO DE *Raoiella indica*.

Márcia Breda dos Santos¹, Evellyn Zuqui Bolsoni¹, Ana Beatriz Mamedes Piffer², Gabriela da Silva Perini³, Erickson Rodrigues Dutra³, Hildegardo Seibert França³, Anderson Mathias Holtz¹.

¹Instituto Federal do Espírito Santo/Campus Itapina, Rodovia BR 259 - KM 70 - Trecho Colatina X Baixo Guandu, Distrito de Itapina, Zona Rural, 29717-000-ES, Brasil, marciabreda3@gmail.com, evellynzuqui@outlook.com, anderson.holtz@ifes.edu.br.

²Universidade Federal do Espírito Santo, Centro de Ciências Agrárias e Engenharias – Campus Alegre, Alto Universitário - 29500-000 - Guararema, Alegre - ES, Brasil, @ana.piffer123@gmail.com.

³Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Espírito Santo – Campus Vila Velha, - Laboratório de Desenvolvimento de Bioproductos, Avenida Ministro Salgado Filho, Soteco - 29106-010, Vila Velha – ES, Brasil, ggabriell053@gmail.com, ericksonRD7@gmail.com , hildegardo.franca@ifes.edu.br.

Resumo

A espécie *Raoiella indica* Hirst, 1924 (Prostigmata: Tenuipalpidae), é uma praga de grande importância econômica, sendo hospedeira de plantas da família Arecaceae. O controle tradicional desta praga é feito com produtos químicos, mas devido aos impactos ambientais, há o intuito de buscar alternativas de manejo sustentável. O presente estudo teve como objetivo analisar a ação acaricida da nanoemulsão do óleo essencial de *Cymbopogon flexuosus* no manejo de ácaro vermelho das palmeiras. As concentrações utilizadas foram de 0,5%; 0,36%; 0,26%; 0,19%; 0,14%; 0,1%, 0,0% (solução controle). Os resultados sugerem que os compostos bioativos presentes no capim-limão, são eficazes no controle de *Raoiella indica*, oferecendo uma alternativa sustentável aos pesticidas sintéticos. A nanoemulsão de capim-limão demonstrou potencial acaricida no controle do ácaro vermelho das palmeiras, apresentando maior eficiência nas concentrações maiores.

Palavras-chave: Ácaro vermelho das palmeiras. Capim-limão. Controle.

Área do Conhecimento: Engenharia agronômica - Agronomia

Introdução

Registrada inicialmente na Índia, em 1924, a espécie *Raoiella indica* Hirst, 1924 (Prostigmata: Tenuipalpidae), comumente conhecido como ácaro vermelho das palmeiras, é atualmente uma praga de grande importância econômica, possuindo 100 espécies listadas como hospedeiras, das quais destacam-se as palmeiras (Arecaceae) (Souza Neto *et al.*, 2021). O uso de produtos químicos sintéticos tem sido a forma convencional de controle do ácaro-vermelho-das-palmeiras. Contudo, os impactos ambientais causados por esses produtos, especialmente sobre organismos não-alvo, são preocupantes, incentivando a busca por métodos alternativos de controle de pragas (Ruiz-Jimenez *et al.*, 2023).

Uma das formas de controle alternativo que podem ser utilizadas sobre esta espécie de praga 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 (Rai *et al.*, 2018). 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).

Aliado a tecnologia de nanoemulsões os óleos e extratos de plantas com propriedades inseticidas e acaricidas têm sido alternativas promissoras para o manejo sustentável de pragas agrícolas, visto que muitas vezes possuem capacidade de controle similar aos produtos sintéticos e são menos tóxicos ao meio ambiente (Spletozer *et al.*, 2021).

A exemplo de plantas com propriedades inseticidas e acaricidas, as do gênero *Cymbopogon* têm sido muito utilizadas pela sua capacidade inseticida/acaricida e demais propriedades medicinais. O óleo essencial de capim-limão apresenta alta atividade antimicrobiana, antifúngica e antioxidante, principalmente, devido a concentração elevada de citral na sua composição química (Guimarães *et al.*, 2011; Majewska *et al.*, 2019; Oladeji *et al.*, 2019). Dessa forma, o presente trabalho objetivou utilizar a nanoemulsão do óleo essencial de Capim-limão (*Cymbopogon flexuosos*) para o controle do Ácaro vermelho das palmeiras (*R. indica*).

Metodologia

1. 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, estas foram colocadas junto as plantas sadias para permitir a colonização contínua pelos ácaros. As mudas foram irrigadas por um sistema de gotejamento automatizado e os tratos culturais foram realizados conforme necessário. Produtos químicos não foram utilizados.

2. Bioensaios de nanoemulsão

2.1 Obtenção dos óleos essenciais

O óleo essencial utilizado de Lemongrass (*Cymbopogon flexuosus*) foi adquirido comercialmente e posteriormente formulado em nanoemulsão.

2.2 Métodos de emulsificação por baixo aporte de energia

A fase oleosa e os tensoativos foram adicionados em um bêquer e aquecidos a $75 \pm 5^{\circ}\text{C}$. A fase aquosa foi aquecida a essa temperatura e 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 de 10 minutos. As nanoemulsões 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).

2.2.1 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_m é o valor de EHL resultante da mistura de dois tensoativos; EHL_A é o valor de EHL do tensoativo mais hidrofóbico; EHL_B 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 e 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).

2.2.2 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).

2.3 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.

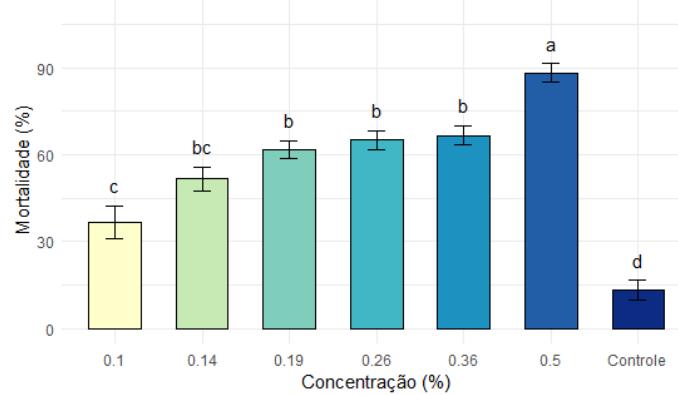
3. Bioensaios com nanoemulsões de óleos essenciais sobre *Raoiella indica* em laboratório

As concentrações utilizadas foram: 0,5%; 0,36%; 0,26%; 0,19%; 0,14%; 0,1%, 0,0%. Cada tratamento foi composto por 6 repetições, com 10 indivíduos por repetição. As unidades experimentais foram compostas por placas de Petri (10,0 x1,2 cm), com discos de folha de coqueiro com 4 cm de diâmetro, tendo algodão umedecido ao redor para manter a turgescência da folha. 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.

Resultados

De acordo com o teste de toxicidade, à medida que ocorreu aumento da concentração da nanoemulsão do óleo de Lemongrass, houve um aumento na mortalidade dos indivíduos adultos de *R. indica* (Figura 01).

Figura 01: Porcentagem de mortalidade de *Raoiella indica* nas diferentes concentrações da nanoemulsão do óleo de *Cymbopogon flexuosus*. Temp.: $25 \pm 1^\circ\text{C}$, UR $70 \pm 10\%$ e 12h de fotofase.



Fonte: Piffer ABM (2024)

Visto que a mortalidade ocorreu de forma crescente em relação a concentração da nanoemulsão, pode-se perceber que um pequeno aumento da quantidade utilizada, ocasionou a respectiva morte dos indivíduos de *R. indica*, proporcionando mortalidade dos indivíduos de 88,3% na maior concentração ao final de 72h de avaliação (Figura 01).

Discussão

Em virtude desses resultados, destaca-se a eficiência da nanoemulsão de *Cymbopogon flexuosus* em relação a mortalidade dos ácaros de *R. indica*. Acredita-se que esta mortalidade tenha relação com os compostos secundários presentes na composição química do capim-limão aliada às propriedades da nanoemulsão que facilitam a penetração do óleo no organismo do ácaro-praga, visto que segundo Saada *et al.* (2020), as nanoemulsões possuem um sistema mais homogêneo, alta capacidade de solubilização e uma estabilidade termodinâmica, devido ao tamanho reduzido das suas partículas.

Os metabólitos secundários são compostos naturais produzidos em plantas com objetivo principal de proteção a estresses abióticos e bióticos (Borges Pacheco; Amorim Alves, 2020). A presença de compostos secundários, potencialmente bioativos no óleo de Capim-limão, como fenóis, terpenos, álcoois, cetonas, ésteres e principalmente aldeídos têm sido constantemente registrados (Shah *et al.*, 2011), tornando essa planta com possível potencial no controle de artrópodes pragas. Dessa forma, segundo Dutra e Perini (2023), o óleo essencial de capim-limão possui o monoterpeno citral como seu principal componente, o qual apresenta atividade biológica contra insetos, pragas de culturas, fungos fitopatogênicos e nematóides prejudiciais. Dessa maneira, infere-se que a morte dos indivíduos tenha principal relação com a presença de monoterpeno citral na nanoemulsão de *C. flexuosus*.

Ao decorrer das avaliações da mortalidade, foi possível analisar que os indivíduos de *R. indica* encontravam-se mortos com os palpos e pernas retraídos ou colados no folíolo utilizado para montagem das arenas, o que impedia os organismos de se movimentarem e, consequentemente, de se alimentarem, dessa forma, essa observação também pode ter relação com a mortalidade dos ácaros.

Porém, não é somente a atividade acaricida da composição química da nanoemulsão do óleo essencial de capim-limão que pode estar relacionada com os resultados obtidos. A mortalidade de *R. indica* pode também estar associada ao método de exposição direta do óleo sobre o ácaro e seu alimento. Sendo assim, apesar dos resultados favoráveis, é necessário a realização de testes em campo para confirmar a capacidade acaricida através da nanoemulsão de óleo essencial de *Cymbopogon flexuosus*.

Conclusão

A nanoemulsão do óleo essencial de Capim-limão (*C. flexuosus*), em diferentes concentrações, apresentaram efeito acaricida sobre o ácaro vermelho das palmeiras *R. indica*, em condições controladas de laboratório, onde a mortalidade cresceu de acordo com o aumento das concentrações.

Referências

- BORGES, Larissa Pacheco *et al.* METABÓLITOS SECUNDÁRIOS DE PLANTAS. Revista Agrotecnologia, Ipamere, v. 11, n. 1, p. 54-67, 8 mar. 2020. Disponível em: https://core.ac.uk/outputs/288224916/?utm_source=pdf&utm_medium=banner&utm_campaign=pdf-decoration-v1. Acesso em: 15 ago. 2024.
- CARRILLO, Daniel *et al.* First Report of *Raoiella indica* (Acari: tenuipalpidae) in colombia. Florida Entomologist, [S.L.], v. 94, n. 2, p. 370-371, 1 jun. 2011. Walter de Gruyter GmbH. Disponível em: <https://bioone.org/journals/Florida-Entomologist/volume-94/issue-2/024.094.0241/First-Report-of-iRaoiella-indica-i-Acari--Tenuipalpidae-in/10.1653/024.094.0241.full>. Acesso em: 14 ago. 2024.
- DOWLING, A. P. G. *et al.* Phylogenetic investigation of the genus *Raoiella* (Prostigmata: tenuipalpidae). Experimental And Applied Acarology, [S.L.], v. 57, n. 3-4, p. 257-269, 13 set. 2011. Springer Science and Business Media LLC. Disponível em:

<https://link.springer.com/article/10.1007/s10493-011-9483-z#article-info>. Acesso em: 14 ago. 2024.

DUTRA, Erickson Rodrigues; PERINI, Gabriela da Silva. NANOEMULSÕES DE ÓLEOS ESSENCEIROS E SEU POTENCIAL PESTICIDA CONTRA *Raoiella indica*. 2023. Experimental and Applied Acarology, v. 57, n. 3, p. 215-225, 2012.

FLECHTMANN, Carlos H. W. et al. The red palm mite, *Raoiella indica* Hirst, a threat to palms in the Americas (Acari: prostigmata. Systematic And Applied Acarology, [S.L.], v. 9, p. 109, 31 jul. 2004. Systematic and Applied Acarology Society. Disponível em:

https://bioone.org/journals/Systematic-and-Applied-Acarology/volume-9/issue-1/saa.9.1.16/The-red-palm-mite-iRaoiella-indica-i-Hirst-a-threat/10.11158/saa.9.1.16.full?casa_token=GvxZqJjCXXkAAAAA:_hYdot6BPuX3BksBfeEgLiZ-12ezDIRg4WikUPENFJrGkffBMAW6MmE0tMK3dxthRGJ59hD26zU. Acesso em: 14 ago. 2024.

GUIMARÃES, Luiz Gustavo de Lima et al. Atividades antioxidante e fungitóxica do óleo essencial de capim-limão e do citral. Revista Ciência Agronômica, Lavras, v. 42, n. 2, p. 464-472, jun. 2011. FapUNIFESP (SciELO). Disponível em: <https://www.scielo.br/j/rca/a/MjxmxfFtg3WXB5p3WtLPJp/?format=html#>. Acesso em: 14 ago. 2024.

KANE, Ethan C. et al. *Raoiella indica* (Acari: tenuipalpidae). Experimental And Applied Acarology, [S.L.], v. 57, n. 3-4, p. 215-225, 6 mar. 2012. Springer Science and Business Media LLC. Disponível em: <https://link.springer.com/article/10.1007/s10493-012-9541-1>. Acesso em: 14 ago. 2024.

MAJEWSKA, Ewa et al. Lemongrass (*Cymbopogon citratus*) Essential Oil: extraction, composition, bioactivity and uses for food preservation : a review. Polish Journal Of Food And Nutrition Sciences, [S.L.], v. 69, n. 4, p. 327-341, 18 nov. 2019. Institute of Animal Reproduction and Food Research of the Polish Academy of Sciences. Disponível em:
file:///C:/Users/ACER/Downloads/Lemongrass%20_Cymbopogon.pdf. Acesso em: 14 ago. 2024.

NAVIA, D et al. First Report of the Red Palm Mite, *Raoiella indica* Hirst (Acari: Tenuipalpidae), in Brazil. Neotropical Entomology, [s. l.], v. 40, n. 3, p. 409-411, 19 set. 2010. Disponível em: <https://www.alice.cnptia.embrapa.br/alice/bitstream/doc/898710/1/2011neotropicalentomologymarsaro.pdf>. Acesso em: 14 ago. 2024.

NAVIA, Denise et al. Spatial forecasting of red palm mite in Brazil under current and future climate change scenarios. Pesquisa Agropecuária Brasileira, [S.L.], v. 51, n. 5, p. 586-598, maio 2016. FapUNIFESP (SciELO). Disponível em: <https://www.scielo.br/j/pab/a/Qhxj85LgrnXsyNhFdx6qPNn/?lang=en>. Acesso em: 14 ago. 2024.

OLADEJI, Oluwole Solomon et al. Phytochemistry and pharmacological activities of *Cymbopogon citratus*: a review. Scientific African, [S.L.], v. 6, p. 1-11, nov. 2019. Elsevier BV. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S2468227619306982>. Acesso em: 15 ago. 2024.

ORTIZ-ZAMORA, Lisset 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, [S.L.], v. 158, p. 112989-112989, dez. 2020. Elsevier BV. Disponível em:
https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0926669020309067?casa_token=uCngKZYOLTYA AAAA:a9NkzmbzP-L1MOSgxDeWM3WGsj7JqSEfB7Z9bRd5bfc-9ubkgY_3bmi5pQnbl4SoDt_tLiOJ9g. Acesso em: 15 ago. 2024.

RAI, Vineet Kumar et al. Nanoemulsion as pharmaceutical carrier for dermal and transdermal drug delivery: formulation development, stability issues, basic considerations and applications. **Journal Of**

Controlled Release, [S.L.], v. 270, p. 203-225, jan. 2018. Elsevier BV. Disponível em:
https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0168365917310568?casa_token=Si0D0ts1_cgAAA-AA:LAcUsEggpFqn1U0CECOQXS7hoLRv3oUZv7c5uwhW6CwmP0n09tDsoGAZXjEdaBN99DwVw0v6NM. Acesso em: 22 set. 2024.

RUIZ-JIMENEZ, K. Z., OSORIO-OSORIO, R., HERNANDEZ-HERNANDEZ, L. U., OCHOA-FLORES, A. A., SILVA-VAZQUEZ, R., & MENDEZ-ZAMORA, G. (2021). Acaricidal activity of plant extracts against the red palm mite *Raoiella indica* (Acari: Tenuipalpidae). *Revista de la Sociedad Entomológica Argentina*, 80(1).

SAADA, Nagah S. et al. Evaluation and utilization of lemongrass oil nanoemulsion for disinfection of documentary heritage based on parchment. *Biocatalysis And Agricultural Biotechnology*, [S.L.], v. 29, p. 1-13, out. 2020. Elsevier BV. Disponível em:
https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1878818120315814?casa_token=OHurCL959cgAA-AAA:Xtle6LPtaqSAK5OBkZLkmdHdOGbEM9e36X7KW42oB5xzpe0Qlmc2eaS59gHbb6wbjDn9-Akh9t4. Acesso em: 15 ago. 2024.

SHAH, Gagan et al. Scientific basis for the therapeutic use of *Cymbopogon citratus*, stapf (Lemon grass). *Journal Of Advanced Pharmaceutical Technology & Research*, [S.L.], v. 2, n. 1, p. 3, 2011. Medknow. Disponível em:
https://journals.lww.com/japtr/fulltext/2011/02010/scientific_basis_for_the_therapeutic_use_of.3.aspx. Acesso em: 15 ago. 2024.

SOUSA NETO, Eduardo P. et al. Carnaúba [*Copernicia prunifera* (Miller) H. E. Moore, Arecaceae], uma nova hospedeira de *Raoiella indica* Hirst, 1924 (Acari: tenuipalpidae). *Entomological Communications*, [S.L.], v. 3, p. 1-2, 8 dez. 2021. Sociedade Entomologica do Brasil. Disponível em:
<https://www.entomologicalcommunications.org/index.php/entcom/article/view/ec03045/103>. Acesso em: 15 ago. 2024.

SPLETOZER, Aline Gonçalves et al. Plantas com potencial inseticida: enfoque em espécies amazônicas. *Ciência Florestal*, [S.L.], v. 31, n. 2, p. 974-997, 1 jun. 2021. Universidad Federal de Santa Maria. Disponível em: <https://periodicos.ufsm.br/cienciaflorestal/article/view/32244/pdf>. Acesso em: 15 ago. 2024.

STARK, John D. et al. Reproductive Potential: its influence on the susceptibility of a species to pesticides. *Ecotoxicology And Environmental Safety*, [S.L.], v. 37, n. 3, p. 273-279, ago. 1997. Elsevier BV. Disponível em:
<https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0147651397915529>. Acesso em: 16 ago. 2024.