

PRODUÇÃO E CARACTERIZAÇÃO DE MICROENCAPSULADO DE *ANNONA MURICATA* L. NO CONTROLE DE *PLUTELLA XYLOSTELLA* (LINNAEUS, 1758) (LEPIDOPTERA: PLUTELLIDAE)

Arestides Alves Lins¹*, José Pedro da Silva², Leandro Rocha Acioli¹, Izabel Vieira de Souza³, Roseane Cristina Predes Trindade⁴, Patrícia Da Silva Santos⁵

1. Estudante do curso técnico em Agroecologia do Instituto Federal de Alagoas – Campus Murici (IFAL)
2. Professor Dr. do IFAL – Campus Murici /Orientador
3. Professora Dra. Do IFAL – Campus Murici
4. Professora Dra. da Universidade Federal de Alagoas (UFAL)
5. Estudante de Agronomia do Centro de Ciências Agrárias (CECA/UFAL)

Resumo

A traça-das-crucíferas, *Plutella xylostella* (L., 1758) (Lepidoptera: Plutellidae) é a mais importante e agressiva praga das brássicas no Brasil e no mundo, principalmente por ter ciclo curto, sua fácil dispersão e grande capacidade de desenvolver resistência a inseticidas químicos. Dentre os diversos métodos para seu controle, tem-se o uso de extratos de plantas com ação inseticida, tais como espécies da família Annonaceae, como a graviola *A. muricata* L. (Annonaceae) que possui relatos de atividade inseticida, acaricida e vermífida. Por isso, o processo de microencapsulação resguarda e adia reações indesejáveis no material do núcleo, uma vez que afastam parcialmente ou completamente o material encapsulado do meio externo e otimizando seus efeitos contra as pragas. Desta forma, o objetivo deste trabalho foi produzir, caracterizar e testar o microencapsulado de extrato etanólico de *A. muricata* e sua toxicidade sobre *P. xylostella*.

Palavras-chave: Extratos Botânicos; Graviola; Traça-Das-Crucíferas.

Apoio financeiro: PRPPI/IFAL.

Introdução

O processo de microencapsulação por spray drying é uma das técnicas de secagem mais utilizada na indústria de medicamentos, fitoterápicos e bioinsetidas por sua estabilidade e possibilidade do controle das características do produto final (SOUZA, 2013). Nele os polímeros devem liberar completamente o solvente ou outro material que será usado durante o processo de encapsulação, proporcionar a máxima proteção ao material ativo contra condições ambientes, ser solúvel em solventes utilizados na indústria de alimentos, fármacos e bioinseticidas e inseticidas botânicos, além apresentar boa disponibilidade no mercado e baixo custo (GHARSALLAOUI et al., 2007).

A microencapsulação de defensivos alternativos demonstra vantagens quando comparado com outras formulações, pois além de serem mais seguros para o meio ambiente ao liberar o ingrediente ativo gradativamente, também é mais seguro para o trabalhador, que tem sua exposição com o produto minimizado (GOERTZ, 2006).

O principal controle *Plutella xylostella* (L., 1758) (Lepidoptera: Plutellidae) é através de produtos químicos (VILLAS BÔAS, 2004). Porém, a utilização inadequada desse controle pode causar sérios problemas ao meio ambiente e a saúde humana, além do aumento da população de insetos resistentes (LIMA NETO, 2014). Diante dessa realidade, surge a necessidade de outras formas de manejo que não ocasionem os problemas provocados pelos inseticidas sintéticos para o controle da praga.

Nesse contexto, como uma forma eficiente no controle alternativo e agroecológico vêm ganhando destaques o uso de plantas inseticidas ou inseticidas botânicos os oriundos da família das Anonáceas, em especial a variedade *A. Muricata*, muitas pesquisas têm mostrado que as plantas dessa família possuem bioativos conhecidos como acetogeninas que possuem capacidade inseticidas. (BERMEJO et al., 2005).

Com isso, o objetivo do trabalho foi produzir e realizar testes com o microencapsulado de extrato etanólico de *A. muricata*, além de testar sua toxicidade sobre o 1º instar da Traça-Das-Crucíferas, *P. xylostella*.

Metodologia

As sementes foram obtidas em uma agroindústria de processamento de frutas em Anadia/AL, foram secas, moídas e acondicionadas em recipientes hermeticamente fechados.

Para o preparo do extrato, o pó das sementes foi submetido à extração a frio com hexano [CH₃(CH₂)₄CH₃] em percolador de aço durante 2h, em seguida filtrado e sob a torta resultante da extração com hexano foi realizada a extração com etanol (C₂H₆O) seguindo a mesma metodologia, alterando apenas o tempo de 2 para 72 horas e com 3 repetições. Após a obtenção do extrato bruto foi feita a separação do solvente utilizando rotaevaporador, obtendo assim, o extrato etanólico.

Para a elaboração do microencapsulado foram usados maltodextrina, amido, gelatina e aerosil como polímeros e por spray drying, no Laboratório de Tecnologia de Controle de Medicamentos da UFAL, utilizando o aparelho de modelo Buchi® Mini Spray Dryer B-290 e temperatura de 100°C, taxa de alimentação de 10ml⁻¹, foi obtido o microencapsulado.

No processo de caracterização e para os estudos termogravimétricos (TGA) foi utilizado o aparelho

Shimadzu modelo TGA-50. Os dados termoanalíticos foram analisados utilizando o software TA-60WS Collection Monitor, versão 2.21.

No cultivo das mudas de couve Geórgia, *Brassica oleracea* var. *acephala* (Brassicaceae), as mesmas foram plantadas em canteiros, preenchidos com mistura de terra preta, esterco e torta de filtro na proporção 1:1:1.

A criação estoque da traça-das-crucíferas foi realizada segundo metodologia de Torres et al. (2006), utilizando-se dieta natural com couve manteiga cv Geórgia.

As estimativas da CL₅₀ e CL₉₉ foram realizadas a partir de pré-testes com os extratos etanólico e microencapsulado em diferentes concentrações para determinar valores próximos do limite inferior, com mortalidade quase nula, e do limite superior, com aproximadamente 100% de mortalidade. As concentrações testadas foram obtidas pela fórmula de BLISS (1934): $q = (a_n \div a_1) \frac{1}{n + 1}$ onde: q = razão da progressão geométrica (pg); n = número de concentrações a extrapolar; a_n e a₁ = limites superior e inferior da pg.

Foram confeccionados discos de 8 cm de diâmetro com folhas de Couve, os quais pulverizados com os extratos em diferentes concentrações, utilizando-se torre de Potter (POTTER, 1952) (Burkard, Rickmansworth, UK). Os discos foram tratados com extrato etanólico e extrato microencapsulado, distribuídos sobre uma superfície coberta com papel toalha, onde permaneceram ao ar livre para evaporação do excesso de água. As lagartas recém-eclodidas foram colocadas em placas de Petri de 15cm de diâmetro, contendo um disco tratado sobre papel de filtro umedecido com água destilada, para manutenção da umidade e mantidos em laboratório (temperatura de 26 ± 2°C, UR de 60 ± 10% e fotofase de 12h). A partir do terceiro dia da montagem do experimento, foi realizada a avaliação da mortalidade larval. As concentrações letais (CLs) foram estimadas pelo programa estatístico SAS (SAS Institute, 2003).

Resultados e Discussão

O estudo termogravimétrico do extrato de *A. muricata* revelou 5 processos de decomposição, a partir da avaliação de Tonset (início) e Tendset (fim) em cada etapa. A primeira etapa teve início a 25,30 °C e término a 141,18 °C, com perda de massa de 9,007 %, correspondente à perda de umidade e do solvente etanol residual contido no extrato. A segunda etapa com início de 141,18 °C e final de 278,52 °C com perda de massa intermediária de 25,545 % proveniente da degradação térmica. A terceira etapa com início na faixa de 278,52 °C e com fim na faixa de 383,71 °C, com degradação ou decomposição térmica mais acentuada com perda de massa de 26,026 %. A quarta e etapa residual teve início na faixa de 383,71 °C e final de 421,12 °C, com perda de massa de 29,688%. A quinta e última etapa teve início a uma faixa de 421,12 °C e final de 700,00 °C, com perda de massa de 8,761%, derivado da perda de voláteis durante a combustão residual. A termodecomposição total correspondeu a perda de massa de 99,025 % e resíduo mineral de 0,975% (Tabela 1).

A curva termogravimétrica do microencapsulado da *A. muricata* apresentou múltiplas etapas, com um total de 5 etapas de decomposição, a mesma quantidade quando comparado com o extrato etanólico. A primeira etapa foi de 25,00 a 141,18 °C com perda de massa de 6,150 % derivado da desidratação causada pela umidade contida na matriz polimérica do microencapsulado, apresentando menor percentual de umidade devido a processo de secagem e microencapsulamento pela técnica de secagem *Spray Drying*. A segunda etapa de decomposição ocorreu no intervalo de 141,18 a 278,52 °C, com perda de massa intermediária de 16,261%, proveniente da termodecomposição da amostra. A terceira etapa residual teve início a 278,52 °C e término a 400,93 °C com perda de massa de 35,220 %. A quarta etapa teve início a 400,93 °C e término a 487,94 °C com perda de massa de 22,709 %. A quinta etapa residual teve início a 487,94°C e término a 894,00°C, com perda de massa de 19,748 %. A termodecomposição total correspondeu a perda de massa de 100,00 % (Tabela 1).

Tabela 1 - Dados termogravimétricos do extrato etanólico, microencapsulado de *Annona muricata* e dos polímeros encapsulantes

Amostra	Etapas	TG		
		^a Ti(°C)	^b Tf(°C)	^c %m
Extrato Etanólico de <i>A. muricata</i>	I	25,30	141,18	9,007
	II	141,18	278,52	25,545
	III	278,52	383,71	26,026
	IV	383,71	421,12	29,688
	V	421,12	700,00	8,761
	I-V	25,30	700,00	99,025
Microencapsulado de <i>A. muricata</i>	I	25,00	141,18	6,150
	II	141,18	278,52	16,261
	III	278,52	400,93	35,220
	IV	400,93	487,94	22,709
	V	487,94	894,00	19,748
	I-V	25,00	894,00	100,000
	II	141,14	291,40	9,022
	III	291,40	346,56	35,845
	IV	346,56	897,85	18,336
I-IV	22,34	897,85	70,912	

^a Tonset: temperatura de início de perda de massa; ^b Tendset: temperatura final da perda de massa; ^c %m: perda de massa.

Fonte: Autor, 2020.

O extrato etanólico da semente de *A. muricata* apresentou menor toxicidade para a *P. xylostella*, visto que requereu uma concentração maior da quantidade do extrato para causar mortalidade as larvas, apresentando CL₅₀ e CL₉₉ estimadas em 0,20 e 5,67 mL/L, respectivamente. Para o microencapsulado do extrato etanólico, as CL₅₀ e CL₉₉ estimadas foram 0,11 e 4,16 mL/L, respectivamente, apresentando menores concentrações. O microencapsulado foi 1,78 vezes mais tóxico do que o extrato para a CL₅₀ e foi de 1,36 vezes mais tóxico do que o extrato para a CL₉₉ (Tabela 2).

Tabela 2 - Concentração letal (CL) do extrato etanólico de *Annona muricata* e do extrato microencapsulado sobre *Plutella xylostella*.

Produto	N	Inclinação± (EP)	CL ₅₀ (95% IC)	CL ₉₉ (95%IC)	X ²	RT CL ₅₀	RT CL ₉₉
Extrato etanólico	350	1,61±0,15	0,20mL/L (0,15-0,26mL/L)	5,67mL/L (3,17-12,90mL/L)	4,27	-	-
Microencapsula do	350	1,49±0,13	0,11mL/L (0,09-0,14mL/L)	4,16 mL/L (2,36-9,21mL/L)	8,68	1,78	1,36

N = Número de insetos, EP = Erro Padrão da Média, IC = Intervalo de Confiança, CL = Concentração Letal, χ^2 = Qui-quadrado (significativo ao nível de 5% de probabilidade), RT = Razão de Toxicidade

Fonte: Autor, 2020.

Para larvas de 3º instar de *P. xylostella*, a CL₉₉MICRO apresentou maior mortalidade com 98,00%, não diferindo da CL₉₉EXT. que demonstrou uma mortalidade de 92,00%. A CL₅₀MICRO apresentou 74,00% de mortalidade e não houve diferença estatística do CL₅₀EXT, Azamax e Decis, que tiveram mortalidades de 66,00, 66,00 e 62,00%, respectivamente. A testemunha apresentou a menor mortalidade com um valor de 4,00%, seguida dos polímeros com 8,00%, diferindo de todos os demais tratamentos (Tabela 3).

Na literatura, a atividade da ação inseticida de extratos vegetais no controle de *P. xylostella* já é bastante conhecida na literatura (JESUS et al., 2011; TRINDADE et al., 2013); ao mesmo tempo que, já se conhecem a bioatividade da *A. muricata* sobre a traças-das-crucíferas (GOMES et al., 2016; TRINDADE et al., 2018), o que também foi constatado neste presente estudo. Quando foi analisado o efeito letal dos extratos (Tabela 3), foi perceptível que o microencapsulado de *A. muricata* apresentou concentração inferior ao extrato etanólico. Resultados semelhantes também foram observados por Gavanji et al. (2013), ao avaliarem a eficiência de nanopartículas de enxofre sobre o ácaro *Tetranychus urticae* (Acari: Tetranychidae), estes autores observaram que as nanopartículas de enxofre em comparação com o enxofre, apresentaram efeitos mais significativos sobre adultos e ninfas de *T. urticae*, com concentrações letais menores para as nanopartículas de enxofre, tanto nos bioensaios laboratoriais como em casa de vegetação.

Não foi observado diferença na mortalidade das CL₅₀MICRO e CL₅₀EXT e CL₉₉EXT e CL₉₉MICRO. Indicando que os extratos das CL₅₀MICRO, CL₅₀EXT, CL₉₉EXT e CL₉₉MICRO não perderam sua capacidade inseticida.

Tabela 3 - Média e comparação da mortalidade de larvas de 3º instar de *Plutella xylostella* a Extrato etanólico e microencapsulado da semente de *Annona muricata*.

Tratamentos	Mortalidade
	3º Instar
Testemunha	4,00 ± 0,14a
Polímeros	8,00 ± 0,13a
Decis	62,00 ± 0,22b
Azamax	66,00 ± 0,24b
CL ₅₀ EXT.	66,00 ± 0,23b
CL ₅₀ MICRO.	74,00 ± 0,20b
CL ₉₉ EXT	92,00 ± 0,15c
CL ₉₉ MICRO	98,00c ± 0,11c
DMS	1,53
*DP	0,65
**EP	0,23

Médias seguidas da mesma letra, nas colunas, não diferem estatisticamente pelo teste de Tukey (P 0,05); CL₅₀EXT. e CL₉₉EXT = Concentração letal de extrato etanólico bruto que mata 50% e 99% dos indivíduos, respectivamente; CL₅₀MICRO e CL₉₉MICRO = Concentração letal de extrato microencapsulado que mata 50% e 99% dos indivíduos, respectivamente. *DP = Desvio Padrão **EP = Erro Padrão.

Fonte: Autor, 2020.

Nota-se que o tratamento químico Decis apresentou eficiência de mortalidade larval inferior aos tratamentos CL₉₉EXT e CL₉₉MICRO, sugerindo sua baixa eficiência no controle de *P. xylostella*. A baixa eficiência do produto comercial Decis, observada no presente estudo, pode ser elucidada pelo fato de uma provável obtenção de resistência do inseto a esse grupo químico, como foi descrito por Castelo Branco; Amaral (2002), em populações de traça das crucíferas, em Brasília, Distrito Federal.

O encapsulamento do extrato etanólico da semente de *A. muricata* dentro de membranas ou parede de polímeros melhora a eficiência, uma vez que, este método protege o princípio ativo contra distintas reações, podendo controlar também a taxa de liberação dos compostos e prevenindo assim, as perdas de compostos

voláteis. O microencapsulamento também aumenta a estabilidade do extrato no ambiente, impedindo a contaminação do ambiente e de agricultores. Além disso, a microencapsulação pode converter extratos líquidos em pó, que pode facilitar na manipulação e preparo da calda de aplicação no campo (RIYAJAN; SAKDAPIPANICH, 2009).

Conclusões

A microencapsulação por *Spray Drying* mostrou-se eficiente na encapsulação do extrato de *A. muricata*, com a obtenção de produto com qualidade que permite aplicá-los com eficiência sobre *P. xylostella*;

A CL₉₉ de microencapsulado de extrato etanólico de *A. muricata* apresentou eficiência de mortalidade de lagartas de 3º instar de *P. xylostella* em laboratório;

O microencapsulado de *A. muricata* apresentou potencialidades para o controle de lagartas de 3º instar de *P. xylostella* em condições de laboratório;

As CL₅₀ do extrato etanólico de *A. muricata* e do microencapsulado apresentaram mortalidades semelhantes aos produtos comerciais Azamax e Decis.

Referências bibliográficas

BERMEJO, A.; FIGADERE, B.; ZAFRA-POLO, M.C.; BARRACHINA, I.; ESTORNELL, E.; CORTES, D. Acetogenins from Annonaceae: recent progress in isolation, synthesis and mechanisms of action. **Natural Product Reports**, London, v. 22, n.2, p.269-303, 2005.

BLISS, C.I. The method of probits. **Science**, v. 79, p. 38-39, 1934.

CASTELO BRANCO, M.; AMARAL, P.S.T. Inseticidas para controle da traça-das-crucíferas: como os agricultores os utilizam no Distrito Federal. **Horticultura Brasileira**, v.20, n. 3, p. 410-415, 2002.

GAVANJI, S. et al. Comparative acaricidal efficacy of sulfur and nano sulfur against *Tetranychus urticae*. **International Journal of Scientific Research in Inventions and New Ideas**, v. 1, n. 2, p. 23-28, 2013.

GHARSALLAOUI, A. et al. Applications of spray-drying in microencapsulation of food ingredients: An overview. **Food Research International**. v. 40, p. 1107- 1121, 2007.

GOERTZ, G. and JAMES M. **Two-level theories and fuzzy-set analysis. Sociological Methods and Research** 33: 497–538. 2006.

GOMES, I.B. et al. Bioactivity of microencapsulated soursop seeds extract on *Plutella xylostella*. **Ciência Rural**, v. 46, n. 5, p. 771-775, 2016.

JESUS, F.G. et al. Efeito de plantas inseticidas no comportamento e biologia de *Plutella xylostella* (Lepidoptera: Plutellidae). **Arquivo do Instituto de Biologia**, v.78, n.2, p. 279-285, 2011.

LIMA NETO, J. E. **Deteção e monitoramento da resistência de *Plutella xylostella* (L.) (Lepidoptera: Plutellidae) a inseticidas de risco reduzido**. Dissertação de Mestrado, Recife, UFRPE, 39p.2014.

MAKADIA, H. K; SIEGEL, S. J. (2011). Poly Lactic-co-Glycolic Acid (PLGA) as Biodegradable Controlled Drug Delivery Carrier. **Polymers**. 3, 2011.

POTTER, C. An improved laboratory apparatus for applying direct sprays and surface films, with data on the electrostatic charge on atomized spray films. **Annals of Applied Biology**, v. 39, p. 1-29. 1952.

RIYAJAN S. A., SAKDAPIPANICH J.T. Development of a controlled release neem capsule with a sodium alginate matrix, crosslinked by glutaraldehyde and coated with natural rubber. **Polym Bull.**, v. 63, n. 4, p. 609–622, 2009.

SAS® Statistical Analysis System, **SAS Institute Inc.**, 2003.

TORRES, A. L. et al. Efeito de extratos aquosos de *Azadirachta indica*, *Melia azedarach* e *Aspidosperma pryrifolium* no desenvolvimento e oviposição de *Plutella xylostella*. **Bragantia**, v. 65, n. 3, p. 447-457, 2006.

TRINDADE, R.C.P. et al. Toxicity of soursop extracts to diamondback moth. **Bioscience Journal**, v. 34, n. 1, p. 104-111, 2018.

TRINDADE, R.C.P; LIMA, I. SANT'ANA, A.E.G.; SILVA, P.P. Atividade de extratos de plantas na mortalidade de lagartas da traça-das-crucíferas, *Plutella xylostella* L. (LEPIDOPTERA: PLUTELLIDAE). **Ciência Agrícola**, v. 11, n. 1, 2013.

VILLAS BÔAS, G.L.; CASTELO BRANCO, M.; MEDEIROS, M.A.; MONNERAT, R.G.; FRANÇA, F.H. Inseticidas para o controle da traça-das-crucíferas e impactos sobre a população natural de parasitoides. **Horticultura Brasileira**, Brasília, v. 22, n.4, p.696-699, out-dez 2004.