

Universidade Federal da Grande Dourados
Faculdade de Ciências Biológicas e Ambientais
Programa de Pós-Graduação em
Entomologia e Conservação da Biodiversidade

BIOATIVIDADE DE EXTRATOS METANÓLICOS DE
ESPÉCIES DE ANNONACEAE E MELIACEAE SOBRE
Spodoptera frugiperda (J.E. SMITH) (LEPIDOPTERA:
NOCTUIDAE) E ANÁLISE FITOQUÍMICA

Alessandra Fequetia Freitas

Dourados-MS
Agosto/2014

Universidade Federal da Grande Dourados
Faculdade de Ciências Biológicas e Ambientais
Programa de Pós-Graduação em
Entomologia e Conservação da Biodiversidade

Alessandra Fequetia Freitas

BIOATIVIDADE DE EXTRATOS METANÓLICOS DE ESPÉCIES DE
ANNONACEAE E MELIACEAE SOBRE *Spodoptera frugiperda* (J.E.
SMITH) (LEPIDOPTERA: NOCTUIDAE) E ANÁLISE FITOQUÍMICA

Tese apresentada à Universidade Federal da
Grande Dourados (UFGD), como parte dos
requisitos exigidos para obtenção do título
de DOUTOR EM ENTOMOLOGIA E
CONSERVAÇÃO DA BIODIVERSIDADE.
Área de Concentração: Biodiversidade
e Conservação.

Orientador (a): Fabricio Fagundes Pereira
Co-orientadora: Anelise Samara Nazari Formagio

Dourados-MS
Agosto/2014

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP).

F866b	Freitas, Alessandra Fequetia. Bioatividade de extratos metanólicos de espécies de Annonaceae e Meliaceae sobre <i>Spodoptera frugiperda</i> (J.E.Smith) (Lepidoptera: Noctuidae) e análise fitoquímica. / Alessandra Fequetia Freitas. – Dourados, MS: UFGD, 2014. 103f. Orientador: Prof. Dr. Fabricio Fagundes Pereira. Co-orientadora: Profa. Dra. Anelise S. N. Formagio. Tese (Pós-Graduação em Entomologia e Conservação da Biodiversidade) – Universidade Federal da Grande Dourados. 1. 1. Plantas inseticidas. 2. Antibiose. 3. <i>Spodoptera frugiperda</i>. I. Título. CDD – 632.9
-------	--

Ficha catalográfica elaborada pela Biblioteca Central – UFGD.

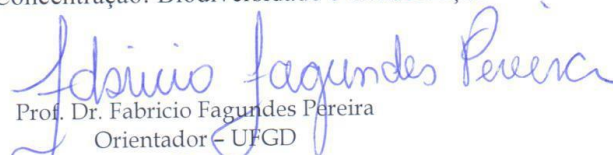
©Todos os direitos reservados. Permitido a publicação parcial desde que citada a fonte.

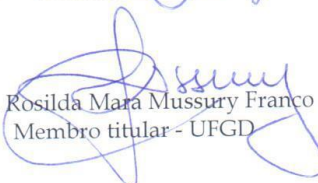
“BIOATIVIDADE DE EXTRATOS METANÓLICOS DE ESPÉCIES DE ANNONACEAE E
MELIACEA SOBRE *Spodoptera frugiperda* (J. E. SMITH) (LEPIDOPTERA: NOCTUIDAE
E ANÁLISE FITOQUÍMICA”

Por

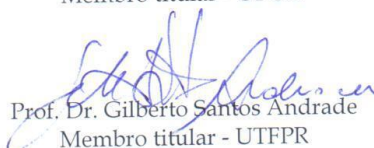
ALESSANDRA FEQUETIA FREITAS

Tese apresentada à Universidade Federal da Grande Dourados (UFGD),
como parte dos requisitos exigidos para obtenção do título de
DOUTOR EM ENTOMOLOGIA E CONSERVAÇÃO DA BIODIVERSIDADE
Área de Concentração: Biodiversidade e Conservação


Prof. Dr. Fabricio Fagundes Pereira
Orientador - UFGD


Profª. Drª. Rosilda Mara Mussury Franco Silva
Membro titular - UFGD


Profª. Drª. Maria do Carmo Vieira
Membro titular - UFGD


Prof. Dr. Gilberto Santos Andrade
Membro titular - UTFPR


Profª. Drª. Adriana Mary Mestriner Felipe de Melo
Membro titular - UFGD

Aprovada em: 06 de agosto de 2014.

Biografia do Acadêmico

Alessandra Fequetia Freitas, natural de Birigui (30-07-1985), filiação: Neusa Maria Fequetia Freitas e João Esteves Freitas.

A minha vida estudantil iniciou-se na Escola Estadual Professora Maria Mathilde Castein Castilho, em Glicério - SP, onde cursei o primário e ensino fundamental.

Em 1999, me mudei para Dourados, Mato Grosso do Sul onde cursei o ensino médio na Escola Imaculada Conceição (2000-2002).

Em 2003, ingressei no ensino superior no curso de Ciências Biológicas na Universidade Federal de Mato Grosso do Sul (UFMS), hoje Universidade Federal da Grande Dourados (UFGD). Cursei o Bacharelado e a Licenciatura (2003-2007).

Em 2008, ingressei no Programa de Pós Graduação em Entomologia e Conservação da Biodiversidade, nível de Mestrado (2008-2010) pela Universidade Federal da Grande Dourados (UFGD).

Em 2011, ingressei no Curso de Doutorado em Entomologia e Conservação da Biodiversidade pela Universidade Federal da Grande Dourados (UFGD) (2011-2014).

Em 2014, fui aprovada no concurso da UFGD para o cargo de assistente em administração.

Agradecimentos

A Deus, por permitir esta conquista, por me proporcionar sabedoria e me fortalecer em momentos difíceis.

À Universidade Federal da Grande Dourados (UFGD), pela oportunidade de crescimento profissional.

Ao Programa de Pós Graduação em Entomologia e Conservação da Biodiversidade, da Universidade Federal da Grande Dourados (UFGD), pelo apoio e oportunidade de realizar o curso de Doutorado.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), pelo auxílio financeiro concedido através de bolsa de estudo.

Ao Prof. Dr. Fabricio Fagundes Pereira, pela orientação, pela paciência, dedicação e entusiasmo. Agradeço por todos os ensinamentos profissionais e pessoais transmitidos nesse tempo de convivência.

À Professora Dra. Anelise Samara Nazari Formagio, pela co-orientação, pela paciência, dedicação, pelas valiosas sugestões na melhoria deste trabalho e todos os ensinamentos.

À Professora Dra. Mara Mussury pela colaboração nas correções dos trabalhos.

À Professora Dra. Maria do Carmo por me sugerir a seguir esta linha de pesquisa e também por ela e o Professor Dr. Néstor Heredia me cederem uma área para o plantio do milho necessária para meu experimento.

Aos Professores do Curso de Pós-Graduação em Entomologia, pelos ensinamentos transmitidos.

À Jéssica Terilli Lucchetta, pelo auxílio na condução dos experimentos, e inestimável companhia.

À minha amada família, especialmente ao meu pai João Esteves Freitas e minha mãe Neusa Maria Fequetia Freitas pela dedicação, amor, confiança, incentivo constante e apoio incondicional.

À minha amiga Maria Lidia Matsumoto, pela sua fiel companhia.

À minha amiga Silvia Cristina Heredia Vieira, por toda a ajuda em minhas dificuldades com os extratos vegetais.

Ao meu namorado, Giovani Martins Bonato, pelo amor dedicado a mim, pela paciência, compreensão e apoio.

Aos amigos: Andréa Souza, Mirian Y. Matsumoto, Tatiane Zaratini Teixeira, Lenice Arruda, Alice Lucécia Martins, Cláudia Zanella, Paullo Ramos, Meire Tiba e Carla Volobuff.

Aos colegas dos laboratórios: Lecobiol, Live, e de Plantas Medicinais.

À Carla Cristina Dutra, pelo fornecimento da lagarta-do-cartucho do milho (*S. frugiperda*) e pelo ensinamento sobre a criação desta espécie.

À Elisângela Vargas, José Nicácio e Rogério Hidalgo, por me auxiliarem na análise estatística.

Ao professor Dr. Marcos Gino Fernandes, pelo fornecimento do laboratório para a realização dos experimentos.

À professora Cácia, pelas dicas de melhorias do trabalho.

À Magda Fernandes, pela sua contribuição na estrutura física do laboratório utilizado para o experimento.

À Empresa Semeali, pelo fornecimento das sementes de milho.

À Faculdade Anhanguera pela oportunidade de lecionar o estágio de docência e também aos professores Rafael Brune Caboco e Professor Alan de Souza Silva.

Enfim, a todos que direta ou indiretamente contribuíram para a realização deste trabalho, meus sinceros agradecimentos.

BIOATIVIDADE DE EXTRATOS METANÓLICOS DE ESPÉCIES DE
ANNONACEAE E MELIACEAE SOBRE *Spodoptera frugiperda* (J.E.
SMITH) (LEPIDOPTERA: NOCTUIDAE) E ANÁLISE FITOQUÍMICA

Resumo Geral	9
Abstract	10
Introdução Geral	11
Revisão Bibliográfica	13
Características morfológicas e ciclo de vida de <i>Spodoptera frugiperda</i>	13
Gênero <i>Annona</i> (Annonaceae)	14
Gênero <i>Trichilia</i> (Meliaceae)	15
Objetivos Gerais	21
Hipótese(s)	21
Manuscrito 1: O efeito de extratos metanólicos de espécies de <i>Annona</i> no desenvolvimento e reprodução de <i>Spodoptera frugiperda</i> (J.E. Smith) (Lepidoptera: Noctuidae)	22
Manuscrito 2: Ação bioinseticida de diferentes partes vegetais de <i>Annona coriacea</i> (Annonaceae) em <i>Spodoptera frugiperda</i> (Lepidoptera: Noctuidae)	46
Manuscrito 3: Efeito de extratos de <i>Trichilia silvatica</i> C. DC. no desenvolvimento e reprodução de <i>Spodoptera frugiperda</i> (J.E. Smith) (Lepidoptera: Noctuidae)	68
Manuscrito 4: Potencial inseticida de sementes de <i>Annona dioica</i> , <i>Annona cacans</i> e <i>Annona crassiflora</i> sobre <i>Spodoptera frugiperda</i> (J. E. Smith) (Lepidoptera: Noctuidae)	93
Considerações Finais	103

Resumo Geral

As espécies vegetais da família Annonaceae e Meliaceae têm atraído considerável atenção de vários pesquisadores, devido ao seu potencial biológico. Os gêneros *Annona* (Annonaceae) e *Trichilia* (Meliaceae), dentre as várias atividades relatadas, destacam-se pelo seu potencial inseticida. O objetivo deste trabalho foi avaliar a atividade inseticida de plantas nativas de Mato Grosso do Sul pertencentes aos gêneros *Annona* e *Trichilia* sobre a biologia da lagarta-do-cartucho do milho (*Spodoptera frugiperda* J.E.Smith, 1797) (Lepidoptera: Noctuidae). O trabalho foi iniciado com um “screening” dos extratos brutos das espécies vegetais de *Annona coriacea* (folha, epicarpo da infrutescência, flor e semente), *Annona cacans* (folha e semente), *Annona crassiflora* (semente), *Annona dioica* (folha e semente) e *Trichilia silvatica* (folha, casca do caule e flor). No bioensaio com *S. frugiperda*, folhas de milho foram tratadas com extratos e fornecidas às lagartas de segundo instar. As folhas da testemunha foram tratadas com água destilada. Foram avaliadas as características biológicas da fase juvenil e adulta de *S. frugiperda*. Nas espécies das plantas com maior atividade inseticida, realizou-se o estudo químico dos principais constituintes responsáveis por essa atividade. As espécies e partes vegetais consideradas mais promissoras para o controle de *S. frugiperda* foram: *A. coriacea* (folha e semente), *A. crassiflora* (semente), *A. cacans* (semente), *A. dioica* (semente) e *T. silvatica* (folha). O estudo químico revelou alto teor de compostos fenólicos e flavonoides nas folhas de *A. coriacea* e nas folhas de *T. silvatica*. Foram isolados das frações de *T. silvatica* os compostos: α -tocoferol, sitosterol 3-O-glicopiranosídeo, mustakone e N-metilprolina. O isolamento de N-metilprolina é relatado pela primeira vez em *T. silvatica*. Os resultados indicam que as espécies vegetais *A. coriacea* (folha e semente), *A. crassiflora* (semente), *A. cacans* (semente), *A. dioica* (semente) e *T. silvatica* (folha) têm potencial para o desenvolvimento de inseticidas botânicos para o controle de *S. frugiperda*.

Abstract

Plant species of Annonaceae and Meliaceae family have attracted considerable attention of many researchers due to its biological potential. The *Annona* genus belonging to the family Annonaceae and *Trichilia* to the family Meliaceae stand out for their potential insecticide. The objective was to evaluate the insecticidal activity of native plants of Mato Grosso do Sul belonging to the genus *Annona* (Annonaceae) and *Trichilia* (Meliaceae) on the biology of *Spodoptera frugiperda* J.E.Smith, 1797 (Lepidoptera: Noctuidae). The work was initiated with a "screening" crude extracts of plant species *Annona coriacea* (leaf, fruit peel, flower and seed), *Annona cacans* (leaf and seed), *Annona crassiflora* (seed), *Annona dioica* (leaf and seed) and *Trichilia silvatica* (leaf, bark and flower). The bioassay *S. frugiperda*, maize leaves were treated with extracts provided to the second instar caterpillars. In the control distilled water was used. The biological characteristics of juvenile and adult stage of *S. frugiperda* were evaluated. In species with higher insecticidal activity, we carried out the study of the major chemical constituents responsible for insecticidal activity. The most promising for the control of *S. frugiperda* plant species were considered: *Annona coriacea* (leaves and seeds), *Annona crassiflora* (seeds), *Annona cacans* (seeds), *Annona dioica* (seeds) and *Trichilia silvatica* (leaves). Chemical studies revealed high content of phenolic compounds and flavonoids in the leaves of *A. coriacea* and leaves of *T. silvatica*. The chemical study of the hexane fraction resulted in isolated α -tocopherol, chloroform fraction in sitosterol 3-O- glucopyranoside and mustakone, hydromethanol fraction in N-methylproline. The isolation of N- methylproline is reported for the first time in *T. silvatica*. Our results indicate that species *A. coriacea* (leaf and seed), *A. crassiflora* (seed), *A. cacans* (seed), *A. dioica* (seed) and *T. silvatica* (leaf) have potential for the development of botanical insecticides.

Introdução Geral

Estudos relacionados aos métodos de controle alternativos de insetos, especificamente com extratos vegetais, têm sido intensificados (Conceschi et al., 2011). A busca por espécies vegetais com atividade bioinseticida vem despertando o interesse da comunidade científica, uma vez que o uso inadequado de inseticidas sintéticos na agricultura gera consequências negativas, como resíduos nos alimentos, contaminação ambiental, seleção de populações de insetos resistentes e efeitos prejudiciais sobre inimigos naturais (Carvalho et al., 2008).

A lagarta-do-cartucho *Spodoptera frugiperda* (J.E.Smith, 1797) (Lepidoptera: Noctuidae), comum em gramíneas em todo continente americano, é considerada a mais importante praga da cultura do milho nas condições do Brasil, causando prejuízos aos agricultores (Gallo et al., 2002). O método de controle mais utilizado atualmente para esta praga é o químico, que além de aumentar os custos de produção, tem efeito poluidor no meio ambiente, causando desequilíbrio biológico além de deixar resíduos nos alimentos quando utilizado inadequadamente (Correia et al., 2009).

A eficiência e a seletividade observadas nos inseticidas naturais refletem a contribuição que a natureza pode fornecer na busca de alternativas para os produtos convencionais, porém as informações disponíveis sobre a caracterização, modo de ação, toxicologia, concentrações e formas de aplicação são ainda escassas (Menezes, 2005). O uso de táticas de controle que causem menor impacto ambiental é de primordial importância, o que tem motivado à retomada de estudos com plantas inseticidas, como uma alternativa aos inseticidas sintéticos (Bogorni & Vendramim, 2003). Assim, é interessante um estudo com plantas medicinais nativas do Estado do Mato Grosso do Sul, enfocando neste trabalho especial interesse nas Meliaceae e Annonaceae, consideradas estas, por conter espécies botânicas promissoras para serem usadas como plantas inseticidas, além de serem encontradas em matas e no Cerrado do Estado.

Neste trabalho, foi realizada a avaliação da atividade inseticida de espécies do gênero *Annona* (Annonaceae) e *Trichilia* (Meliaceae) e estudo da constituição química das espécies mais ativas visando o controle da lagarta-do-cartucho do milho (*Spodoptera frugiperda*) (Lepidoptera: Noctuidae).

Referências

- Bogorni, P.C., J.D. Vendramim. 2003. Bioatividade de extratos aquosos de *Trichilia* spp. sobre *S. frugiperda* (J. E. Smith) (Lepidoptera: Noctuidae) em milho. Neotrop. Entomol. 32: 665-669.
- Carvalho, G.A., N.M. Santos, E.C. Pedroso, A.F. Torres. 2008. Eficiência do óleo de nim (*Azadirachta indica* A. Juss) no controle de *Brevicoryne brassicae* (Linnaeus, 1758) e *Myzus persicae* (Sulzer, 1776) (Hemiptera: Aphididae) em couve-manteiga *Brassica oleracea* Linnaeus var. *acephala*. Arq. Inst. Biol. 75: 181-186.
- Conceschi, M.R., T.F. Ansante, F. Mazzonetto, J.D. Vendramim, V.L.M. Sossai, L.C. Pizetta, R.Z. Corbani. 2011. Efeito de extratos aquosos de *Azadirachta indica* e de *Trichilia pallida* sobre lagartas de *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith) (Lepidoptera: Noctuidae) em milho. BioAssay 6: 1-6.
- Correia, A.A., V.W. Teixeira, A.A.C. Teixeira, J.V. Oliveira, J.B. Torres. 2009. Morfologia do canal alimentar de lagartas de *Spodoptera frugiperda* (J E Smith) (Lepidoptera: Noctuidae) alimentadas com folhas tratadas com nim. Neotrop. Entomol. 38: 83-91.
- Gallo, D., O. Nakano, S. Silveira Neto, R.P.L. Carvalho, G.C. Batista, E. Berti Filho, J. R.P. Parra, R.A. Zucchi, S.B. Alves, J.D. Vendramin, L.C. Marchini, J.R.S. Lopes, C. Omoto. 2002. Entomologia agrícola. Fealq, Piracicaba, p 920.
- Menezes, E.L.A. 2005. Inseticidas botânicos: seus princípios ativos, modo de ação e uso agrícola. Seropédica: Embrapa Agrobiologia, Rio de Janeiro, 58 p.

Revisão Bibliográfica

Características morfológicas e ciclo de vida de *Spodoptera frugiperda*

Ovo

Os ovos são colocados em massas, com média de 100 ovos, em camadas sobrepostas (Cruz & Figueiredo, 1994). Logo após a oviposição, o ovo é de coloração verde-clara, passando a uma cor mais alaranjada após 12 a 15 horas (Rubin, 2009). A fase de ovo tem duração de 3 dias a 25°C e viabilidade média de 92% (Murúa & Virla, 2004).

Larva

As larvas inicialmente são claras, passando para pardo escuro a esverdeada até quase preta (Carneiro, 2008). A lagarta completamente desenvolvida mede cerca de 40 mm (Santiago, 2005). Inicialmente, as larvas ocasionam os sintomas de “folhas raspadas”, à medida que a larva cresce, ela migra para o cartucho do milho causando sérios danos (Rubin, 2009). A presença da lagarta na planta de milho no interior do cartucho pode ser indicada pela quantidade de excrementos ainda frescos existentes na planta (Santiago, 2005). O período larval pode ser completado em 15 dias, durante o verão (Rubin, 2009).

Pupa

Quando a lagarta atinge o máximo de seu desenvolvimento, ela se dirige ao solo, onde constrói uma galeria, dentro da qual passa a fase de pupa. As pupas apresentam coloração marrom-avermelhada, e tamanho de 13 a 16 mm (Rubin, 2009). O período pupal varia de 10 a 12 dias nas épocas mais quentes do ano (Santiago, 2005).

Adulto

O inseto adulto é uma mariposa com cerca de 35 mm de envergadura e apresentam coloração cinza. As asas anteriores do macho possuem manchas mais claras, diferenciando-os das fêmeas. As asas posteriores de ambos os sexos são de coloração clara (Rubin, 2009). A longevidade do adulto é de cerca de 12 dias e a oviposição

ocorre a partir do terceiro dia após a emergência da fêmea. O ciclo completo do inseto (ovo-adulto) se dá em aproximadamente 30 dias (Murúa & Virla, 2004).

Gênero *Annona* (Annonaceae)

Dentre as inúmeras espécies, pertencentes à Annonaceae, muitas são denominadas como inseticidas e parasitocidas (Muhammad et al., 2001). Essa família compreende cerca de 130 gêneros e aproximadamente 2300 espécies, distribuídas em regiões tropicais e subtropicais na África, Ásia, Austrália, América Central e do Sul. No Brasil esta família está representada com aproximadamente 27 gêneros e 290 espécies (Moreira, 2005). Plantas desta família são relatadas como uma rica fonte de alcaloides, acetogeninas e algumas amidas, classes de compostos com uma ampla variedade de atividade biológica. Esta família é a única que se destaca por apresentar acetogeninas de anonáceas, as quais demonstraram atividade antitumoral, antimalarial, anthelmíntica, antimicrobiana, antiprotozoaria, pesticida e antiséptica (Alali et al., 1999).

O gênero *Annona* (Annonaceae) consiste de mais de 110 espécies distribuídas na Ásia, América e África subtropical. Estudos químicos de espécies deste gênero mostram o isolamento de alcaloides, amidas, peptídeos e acetogeninas, como principais metabólitos secundários. Uma das espécies mais estudadas, *Annona cherimola*, da qual foram isolados alcaloides, como cherimolina, annocherina A e B, cherianoina e romucosina H; acetogeninas, aromina A; amidas e ciclopeptídeos (Chen et al., 1997; 1998; 1999; 2001).

Das espécies *Annona atemoya*, *A. glabra*, *A. muricata*, *A. cornifolia*, *A. foetida* e de *A. glauca*, também foram isolados compostos derivados de acetogeninas, amidas e alcaloides derivados de triptamina e de β -carbolinas (Santos et al., 2006; Gleye et al., 1999; Costa et al., 2006).

Nosso interesse na investigação da atividade inseticida das espécies pertencentes ao gênero *Annona* é devido ao relato da presença de acetogeninas, alcaloides e amidas. Alcaloides e amidas isolados de muitas espécies do gênero *Piper* (Piperaceae) são os principais responsáveis pela atividade inseticida, sendo esta classe de compostos não exclusivas deste gênero (Parmar et al., 1997). Dentre os alcaloides naturais mais importantes utilizados no controle de pragas estão a nicotina e a *nor*-nicotina, os quais tem sua atividade inseticida relacionada com sua semelhança na

configuração e distribuição de cargas com a acetilcolina, os que as tornam extremamente tóxicas a muitas espécies de insetos, relacionada principalmente a presença do anel piridínico nas suas estruturas.

Gênero *Trichilia* (Meliaceae)

A Meliaceae tem sido bastante investigada por apresentar uma fonte rica de compostos, particularmente limonoides (derivados triterpenos), com promissora atividade biológica contra insetos e diferentes modos de ação (Champagne et al., 1992).

Dentre as Meliaceae, destacam-se *Azadirachta indica*, conhecida no Brasil por nim ou nime e *Melia azederach* (cinamomo, pára-raios ou santa-bárbara), que são consideradas as mais eficientes plantas inseticidas já estudadas. Seus efeitos foram comprovados sobre aproximadamente 400 espécies de insetos (Martinez, 2002).

O “screening” de plantas pertencentes à Meliaceae identificou o gênero *Trichilia* como uma fonte de plantas com potencial para o desenvolvimento de uma planta-base inseticida.

O gênero *Trichilia*, constituído de aproximadamente 230 espécies, distribuído principalmente na América tropical, possui substâncias com atividade inseticida comparável à da azadiractina, mas possivelmente com estrutura molecular mais simples e, portanto, com síntese viável economicamente (Mikolajczak & Reed, 1987; Ramirez et al., 2000; Wheeler et al., 2001).

Trabalhos da literatura demonstraram a atividade inseticida do gênero *Trichilia*, sobre a lagarta-do-cartucho do milho *S. frugiperda*, dos extratos etanólicos de *Trichilia connaroides*, *T. prieureana*, *T. roka* e *T. triphyllaria*, os quais ocasionaram mortalidade igual ou superior a 80% das lagartas, sendo que apenas a última espécie não afetou a sobrevivência do inseto (Mikolajczak & Reed, 1987).

O extrato etanólico de *Trichilia hirta*, *T. glabrata* e *T. connaroides*, apresentaram boa inibição do crescimento de *Peridroma saucia* (Hubner, 1808) (Lepidoptera: Noctuidae) e *Spodoptera litura* (Fabricius) (Lepidoptera: Noctuidae). O extrato de *T. connaroides* e o limonoide, hirtina, isolado de *T. hirta*, apresentaram os resultados mais significativos, sendo que o constituinte hirtina, inibiu o crescimento da larva de *P. saucia* com valor EC_{50} de 13 ppm (Xie et al., 1994).

Em outro trabalho, foi reportada a avaliação da atividade inseticida do extrato metanólico das espécies *T. quadrijuga*, *T. maritima*, *T. hirta*, *T. pleeana*, *T. americana* e *T. glabra* sobre o *S. litura*. Todas as espécies testadas reduziram o crescimento larval quando comparado com o controle. A espécie mais ativa foi a *T. americana*, que na concentração de 1000 ppm reduziu o crescimento de 96% da larva (Wheeler et al., 2001).

A atividade inseticida dos extratos aquosos e orgânicos das folhas e ramos da meliácea *Trichilia pallens* foi avaliada sobre a traça-do-tomateiro (*Tuta absoluta*) (Meyrick, 1917) (Lepidoptera: Gelechiidae). Os ensaios mostraram que o extrato aquoso e a fração diclorometano das folhas foram mais eficientes, logo a mais promissora como fonte de substâncias com atividade inseticida sobre *T. absoluta* (Cunha et al., 2006).

Estudos fitoquímicos descritos na literatura para o gênero *Trichilia* mostram o isolamento de limonoides como principais constituintes, e de outros compostos como triterpenos, esteroides, cumarinas e lignanas glicosiladas (Cortez et al., 1998). Os limonoides são, provavelmente, os maiores representantes da classe dos terpenos com atividade inseticida e são conhecidos como meliacinas, devido seu sabor amargo e suas principais fontes são as espécies da família Meliaceae, Rutaceae e Cneoraceae.

Do extrato das cascas do caule da espécie *T. estipulada*, foi reportado o isolamento de limonoides (Cortez, 2000). Da espécie *T. catigua* foram isolados os limonoides angolensato de metila, mistura epimérica de fotogedunina, cedrelona e 11 β -metoxicedrelona (Matos et al., 2006). Além destes, outros derivados limonoides foram isolados de *T. Pallida* (Simmonds et al., 2001), *T. elegans* (Garcez et al., 1996; 2000), *T. hirta* (Cortez et al., 1992), *T. prieuriana* (Olugbade, 1991), *T. havanensis* (Arenas & Rodriguez-Hahn, 1990), *T. roka* (Nakatani et al., 1985), *T. dregeana* (Mulholland & Taylor, 1980), *T. rubra* (Musza et al., 1995) e de *T. clausenii* (Pupo et al., 1996; 1998). Além da pronunciada atividade inseticida relatada por espécies do gênero *Trichilia*, alguns extratos também apresentaram uma variedade de propriedades biológicas, incluindo analgésica (Arenas & Rodriguez-Hahn, 1990) e inibição do crescimento de insetos (Xie et al., 1994).

Referências

- Alali FQ, Liu XX & Mclaughlin JL (1999). Annonaceous acetogenins: Recent progress. J. Nat. Prod. 62: 504-540.
- Arenas C, Rodrigues-Hahn L (1990). “Limonoids from *Trichilia havanensis*”. Phytochem. 29: 2953-2956.
- Carneiro TR (2008). Dinâmica populacional de *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith) (Lepidoptera: Noctuidae) em milho safra e safrinha e competição entre *Telenomus remus* Nixon (Hymenoptera: Scelionidae) e *Trichogramma pretiosum* Riley (Hymenoptera: Trichogrammatidae). Tese, Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Jaboticabal, SP, Brasil, p 130.
- Champagne DE, Koul O, Isman MB, Scudder GGE, Towers GHN (1992). Biological activity of limonoids from the Rutales. Phytochem. 31: 377-394.
- Chen CY, Chang FR, Wu YC (1997). Cherimoline, a novel alkaloid from the stems of *Annona cherimola*. Tetrahedron Lett. 38: 6247-6248.
- Chen CY, Chang FR, Yen HF, Wu YC (1998). Amides from the stems of *Annona cherimola*. Phytochem. 49: 1443-1447.
- Chen CY, Chang FR, Chiu HF, Wu MJ, Wu YC (1999). Aromin-A, an Annonaceous acetogenin from *Annona cherimola*. Phytochem. 51: 429-33.
- Chen CY, Chang FR, Pan WB, Wu YC (2001). Four alkaloids from *Annona cherimola*. Phytochem. 56: 753-757.
- Cortez DAG, Fernandes JB, Vieira PC, Silva MFGF, Ferreira AG (2000). A limonoid from *Trichilia stipulata*. Phytochem. 55:711-713.

Cortez DAG, Fernandes JB, Vieira PC, Silva MFGF, Ferreira AG, Cass QB, Pirani JR (1998). Meliacin butenolides from *Trichilia stipulata*. *Phytochem.* 49: 2493-2496.

Cortez DAG, Vieira PC, Fernandes JB, Silva MFGF, Ferreira AG (1992). “Limonoids from *Trichilia hirta*”. *Phytochem.* 31: 625-628.

Costa EV, Pinheiro MLB, Xavier CM, Silva JRA, Amaral ACF, Souza ADL, Barison A, Campos FR, Ferreira AG, Machado GMC, Leon LLP (2006). *J. Nat. Prod.* 69: 292-294.

Cruz I. & Figueiredo MLC (1994). Estudos preliminares do parasitoide *Telenomus* sp. Nixon sobre ovos de *Spodoptera frugiperda*. Relatório Técnico anual do Centro Nacional de Pesquisa de Milho e sorgo 1992-1993. Sete Lagoas, v. 6, p. 104-105.

Cunha US, Vendramim JD, Rocha WC, Vieira PC (2006). Frações de *Trichilia pallens* com atividade inseticida sobre *Tuta absoluta*. *Rev. Pesq. Agropec. Bras.* 41(11): 1579-1585.

Garcez FR, Garcez WS, Rodrigues ED, Pott VJ, Roque NF (1996). Seco-Protolimonoids from *Trichilia elegans* ssp. *elegans*. *Phytochem.* 42: 1399-1403.

Garcez FR, Garcez WS, Roque NF, Castellano EE, Zukerman-Schpector J (2000). “7 β -Oxygenated Limonoids from *Trichilia elegans* ssp. *elegans*”. *Phytochem.* 55: 733-740.

Gleye C, Laurens A, Laprevote O, Serani L, Hocquemiller R (1999). Isolation and structure elucidation of sabadelin, an acetogenin from roots of *Annona muricata*, *Phytochem.* 52: 1403-1408.

Martinez SS (2002). O nim, *Azadiractina indica* – Natureza, usos múltiplos, produção. Londrina, Paraná, Brasil.

Matos AP (2006). Busca de compostos inseticidas: estudo de espécies do gênero *Trichilia* (Meliaceae). Universidade Federal de São Carlos. Tese de doutorado.

Matos AP, Nebo L, Calegari ER, Batista-Pereira LG, Vieira PC, Fernandes JB, Silva MFGF, Filho PF, Rodrigues RR (2006). Atividade Biológica de Extratos Orgânicos de *Trichilia* spp. (Meliaceae) sobre *Spodoptera frugiperda* (J. E. Smith) (Lepidoptera: Noctuidae) em Dieta Artificial. BioAssay 1: 1-6.

Mikolajczak KL, Reed DK (1987). Extractivess of seeds of the Meliaceae: effects on *Spodoptera frugiperda* (J.E.Smith), *Acalyma vittatum* (F.), and *Artemia salina* Leach. J. Chem. Ecol. 13: 99-111.

Moreira IC, Lago JHG & Roque NF (2005). Sesquiterpenes, diterpenes, steroids and alkaloid from branches of *Xylopia brasiliensis* Spreng (Annonaceae). Biochem. Syst. Ecol. 33: 948-951.

Muhammad I, Dunbar DC, Takamatsu S, Walker LA, Clark AM (2001). Antimalarial, cytotoxic, and antifungal alkaloids from *Duquetia hadrantha*. J. Nat. Prod. 64: 559-62.

Mulholland DA, Taylor DAH (1980). "Limonoids from the Seed of the Natal Mahogany, *Trichilia dregeana*". Phytochem. 19: 2421-2425.

Murúa G & Virla E (2004). Population parameters of *Spodoptera frugiperda* (Smith) (Lep.: Noctuidae) fed on corn and two predominant grasess in Tucuman (Argentina). Acta Zool. Mex. 20: 199-210.

Musza L L, Killar LM, Speight P, Barrow CJ, Gillum AM, Cooper R (1995). Minor limonoids from *Trichilia rubra*. Phytochem. 39: 621-624.

Nakatani M, Iwashita T, Naoki H, Hase T (1985). Structure of a limonoid antifeedant from *Trichilia roka*. Phytochem. 24(1): 195-196.

Olugbade TA (1991). Tetracyclic triterpenoids from *Trichilia prieuriana* leaves. *Phytochem.* 30: 698-700.

Parmar et al. (1997). Phytochemistry of the genus *Piper*. *Phytochem.* 46: 597-673.

Pupo MT, Vieira PC, Fernandes JB, Silva MFGF (1996). A cycloartane triterpenoid and ω -phenyl alkanolic and alkenolic acids from *Trichilia clausenii*. *Phytochem.* 42: 795-798.

Pupo MT, Vieira PC, Fernandes JB, Silva MFGF (1998). γ -Lactones from *Trichilia clausenii*. *Phytochem.* 48: 307-310.

Ramírez MC, Toscano RA, Arnason J, Omar S, Rojas CMCG, Mata R (2000). Structure, conformation and absolute configuration of new antifeedant dolabellanes from *Trichilia trifolia*. *Tetrahedron*, 56: 5085-5091.

Rubin LA (2009). Manejo da lagarta-do-cartucho, *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera, Noctuidae), na cultura do milho. Monografia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, Brasil, p 76.

Santiago GP (2005). Avaliação dos efeitos de extratos aquosos de plantas sobre a biologia da lagarta-do-cartucho, *Spodoptera frugiperda* (J. E. Smith, 1797) mantida em dieta artificial. Dissertação, Universidade Federal do Piauí, Teresina, Brasil, p 94.

Santos LAR, Boaventura MAD, Pimenta LPS (2006). Cornifolin, a new bis-tetrahydrofuran annonaceous acetogenin from *Annona cornifolia*. *Biochem. System. Ecol.* 34: 78-82.

Simmonds MSJ (2001). Importance of flavonoids in insect-plant interactions: Feeding and oviposition. *Phytochem.* 56: 245-252.

Wheeler DA, Isman MB, Sanchez-Vindas PE, Arnason JT (2001). Screening of Costa Rican *Trichilia* species for biological activity against the larvae of *Spodoptera litura* (Lepidoptera: Noctuidae). *Biochem. System. Ecol.* 29: 347-358.

Xie YS, Isman MB, Gunning P, Mackinnon S, Arnason JT, Taylor DR, Sanchez P, Hasbun C, Towers GHN (1994). Biological activity of extracts of *Trichilia* species and the limonoid hirtin against lepidopteran larvae. *Biochem. Syst. Ecol.* 22(2): 129-136.

Objetivos Gerais

- Avaliar a bioatividade de espécies dos gêneros *Annona* (Annonaceae) e *Trichilia* (Meliaceae) sobre a biologia de *S. frugiperda*.
- Realizar o estudo químico das espécies que apresentarem maior potencial inseticida.

Hipótese(s)

H₀ Os extratos vegetais de espécies dos gêneros *Annona* (Annonaceae) e *Trichilia* (Meliaceae) não comprometerão o desenvolvimento e reprodução da lagarta-do-cartucho do milho *S. frugiperda*.

H₁ Os extratos vegetais comprometerão o desenvolvimento e reprodução da lagarta-do-cartucho do milho *S. frugiperda*.

Correspondencia

Alessandra Fequetia Freitas, Rodovia Dourados-Itahum, Km 12, Cidade Universitária,
Caixa Postal – 533 CEP: 79.804-970, Telefone: (67) 3410-2198 Dourados-MS, Brasil;
a_ffreitas@yahoo.com.br

PEST MANAGEMENT

O efeito de extratos metanólicos de espécies de *Annona* no desenvolvimento e
reprodução de *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith) (Lepidoptera: Noctuidae)

AF FREITAS¹, FF PEREIRA¹, ASN FORMAGIO², JT LUCCHETTA¹, MC VIEIRA², RM
MUSSURY¹

¹Fac de Ciências Biológicas e Ambientais, ²Fac de Ciências Agrárias, Univ Federal da
Grande Dourados, Dourados, MS, Brasil

Edited by Raúl N Guedes – UFV

Received 13 September 2013 and accepted 06 May 2014

Running title: Effects of *Annona* extracts on *Spodoptera frugiperda*

Abstract

Spodoptera frugiperda (J.E. Smith) (Lepidoptera: Noctuidae) causes significant losses in corn crops and necessitates the use of alternative control strategies, such as the application of bioinsecticides. We report the effect of methanolic leaf extracts of *Annona dioica*, *Annona cacans*, and *Annona coriacea* on the development and reproduction of *S. frugiperda*. A quantitative analysis was carried out to determine the total concentration of phenolics, flavonoids, and condensed tannin (CT) in leaf extracts. Corn leaves were immersed in a 1% methanolic leaf extract solution and fed to second instars of *S. frugiperda*. Leaf disks dipped in the synthetic insecticide Connect® (Bayer CropScience Ltda) composed of a neonicotinoid (imidacloprid) and a pyrethroid (β -cyfluthrin), which are harmful to *S. frugiperda*, was used as positive control. Distilled water was used as a negative control treatment. The leaf extract of *A. coriacea* decreased larval survivorship, arrested pupal development, and affected the weight gain of *S. frugiperda*. *Annona dioica* also affected larval survivorship, but its effects were more pronounced for the adult stage, as fecundity, fertility, egg hatchability and embryonic development were severely affected. Leaf extracts from *A. cacans* had no effect on *S. frugiperda*. The leaf extracts of *A. dioica* and *A. coriacea* showed a higher content of flavonoids and phenols, respectively. Our results indicated that both *A. dioica* and *A. coriacea* have the potential for development as botanical insecticides.

Keywords

Annonaceae, antibiosis, araticum, insecticidal effects, sustainable pest management

Introdução

A crescente conscientização e demanda por inseticidas menos prejudiciais ao ambiente têm estimulado estudos de metabólitos secundários de plantas para controlar insetos praga nas últimas décadas (Boeke *et al* 2004). Bioinseticidas apresentam baixa persistência no ambiente, ou seja, eles degradam mais rapidamente, sem deixar resíduos nos alimentos e no ambiente, atendendo às expectativas atuais da sociedade (Klocke 1987, Matos *et al* 2006).

A lagarta-do-cartucho *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith) (Lepidoptera: Noctuidae) é um inseto polífago, que é distribuído em todas as Américas, atacando e danificando grande número de plantas cultivadas, incluindo as de alto valor agrônomo, como cana-de-açúcar, milho, arroz e algodão (Andrews, 1988). Annonaceae é uma grande família (130 gêneros e 2.300 espécies) (Mass *et al* 2001, Cronquist 1993) distribuída nas regiões tropicais e subtropicais da África, Ásia, Austrália, América Central e América do Sul (Pontes *et al* 2007). Cerca de 29 espécies de Annonaceae exibem propriedades inseticidas e parasitoides, devido à presença de acetogeninas (Hernández & Angel 1997, Jacobson 1989, Isman 1995, Hernández 2001, Muhammad *et al* 2001).

O gênero *Annona* é considerado muito importante economicamente por apresentar algumas espécies que são amplamente cultivadas e comercializadas no Brasil, como *A. squamosa* (fruta-do-conde), *A. muricata* (graviola), *A. reticulata* (condessa) e *A. cherimola* (cherimóia). Estudos químicos de espécies deste gênero mostram o isolamento de terpenos, alcaloides, flavonoides, e acetogeninas de anonáceas, como principais metabólitos secundários (Lage 2011). Estudos realizados com extratos vegetais de *Annona muricata* Vell., *A. coriacea* Mart., *A. crassiflora* Mart., *A. montana* Macfad, *A. squamosa* L., *A. atemoya* Mabb. demonstraram atividade

biológica contra diferentes insetos (Trindade *et al* 2011, Llanos *et al* 2008, Silva *et al* 2007, Coelho *et al* 2007, Oliveira 2009, Blessing *et al* 2010, Leatemia & Isman 2004, Seffrin *et al* 2010).

O objetivo da busca de novos extratos de origem vegetal contra insetos é desenvolver alternativas aos inseticidas convencionais, com redução de impactos negativos sobre a saúde e ao meio ambiente. O estudo investigou o efeito do extrato metanólico das folhas de *Annona dioica* St. Hil., *Annona cacans* Warm. e *Annona coriacea* Mart. sobre o desenvolvimento e reprodução de *S. frugiperda*. Fenóis totais, flavonoides e taninos condensados dos extratos também foram investigados.

Material e Métodos

O trabalho foi desenvolvido no Laboratório de Entomologia, da Faculdade de Ciências Biológicas e Ambientais (FCBA) e Laboratório de Plantas Medicinais, da Faculdade de Ciências Agrárias (FCA), da Universidade Federal da Grande Dourados (UFGD).

Obtenção dos Insetos. Lagartas de *S. frugiperda* foram obtidas da criação mantida em dieta artificial conforme metodologia proposta por Parra (2001), no Laboratório de Entomologia da Faculdade de Ciências Biológicas e Ambientais (FCBA).

Material Vegetal. As plantas em estudo foram coletadas em formações vegetais do município de Dourados, Mato Grosso do Sul. A cidade de Dourados está situada a 22°14'16"S e 54° 48'02"W, em altitude média de 452 m. As plantas em estudo foram

identificadas pela Dra. Zefa Valdevina Pereira e as exsiccatas de *Annona coriacea* (DDMS 186), *A. dioica* (DDMS 4598) e *A. cacans* (DDMS 4885) encontram-se depositadas no Herbário da Faculdade de Ciências Biológicas e Ambientais, da Universidade Federal da Grande Dourados (UFGD), Dourados, MS.

Obtenção dos extratos. O material vegetal (folhas) de cada espécie foi seco em estufa de ar circulante a 45°C, até peso constante. Após secagem, foram triturados em moinho de facas (MA340/A) e submetidas à extração por maceração com metanol 100% (P.A) por 10 dias. Posteriormente foram filtradas e concentradas em evaporador rotativo (MA-120) sob pressão reduzida, para obtenção dos extratos metanólicos.

Determinação do teor de fenóis totais. O conteúdo fenólico total nas amostras foi determinado utilizando o método de Folin-Ciocalteu (Meda *et al* 2005). Especificamente, 100 µL da amostra em metanol (1 g / L) foi misturada com 1,0 mL de água destilada e 0,5 mL (v / v 1:10) de reagente de Folin-Ciocalteu. Após 3 min, foram adicionados 1,5 mL de uma solução saturada de Na₂CO₃ (2%). Após 30 min, a absorbância foi medida a 765 nm utilizando um espectrofotômetro. A quantificação foi realizada utilizando-se uma curva padrão de ácido gálico preparado em 80% de metanol, e os resultados foram expressos em mg de equivalentes de ácido gálico, por grama de extrato. A equação para a curva de ácido gálico foi $\hat{y} = 5,9437x + 0,0351$ com coeficiente de correlação $r = 0,998$. A solução de metanol foi utilizada como um branco. Todos os ensaios foram realizados em triplicata.

Determinação dos flavonoides. Para determinar o nível de flavonoides, 500 µL da amostra foi misturada com 1,5 mL de etanol a 95%, 0,1 mL de cloreto de alumínio a 10% ($\text{AlCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$), 0,1 mL de acetato de sódio ($\text{NaC}_2\text{H}_3\text{O}_2 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$) (1 M), e 2,8 mL de água destilada, e mantida à temperatura ambiente durante 40 min. A densidade óptica foi medida a 415 nm utilizando um espectrofotômetro. O mesmo procedimento foi utilizado para a análise do branco (Lin e Tang 2007). Para calcular a concentração de flavonoides, preparou-se uma curva de calibração (2,5, 5,0, 10,0, 20,0, 25,0, 50,0, 100,0, e 125,0 µg/mL), utilizando como padrão a quercetina. Os resultados foram expressos em mg de equivalentes de quercetina por grama de extrato. A equação da curva de quercetina foi $\hat{y} = 12,341x + 0,009$, com coeficiente de correlação $r = 0,998$. Todos os ensaios foram realizados em triplicata.

Determinação de taninos condensados (TC). As concentrações de taninos condensados foram determinados utilizando uma versão modificada do método desenvolvido por Maxson & Rooney (1972). As amostras foram misturadas com 5 mL de reagente de vanilina de HCl (8% de ácido clorídrico concentrado em metanol e 4% de vanilina, em metanol). A absorbância a 500 nm foi lida após 20 min. Catequina foi usado como o padrão. Os resultados foram calculados em mg de taninos por grama da amostra. A equação da curva de catequina foi $\hat{y} = 0,80399x + 0,002$, com coeficiente de correlação $r = 0,996$. Todos os ensaios foram realizados em triplicata.

Efeito sobre o desenvolvimento de *S. frugiperda*. Foram preparadas soluções aquosas a 1%, as quais foram utilizadas nos ensaios, segundo método de Roel e Vendramim (1999). Acrescentaram-se 9,4µl/100 mL de água destilada de Tween 80% para melhor

solubilização. Folhas de milho híbrido XB 6012 (28 cm² aproximadamente), com 50 a 60 dias de idade, foram imersas na solução do extrato por aproximadamente dois segundos, sendo a seguir mantidas em condição ambiente para evaporação do excesso de líquido, da mesma forma como utilizado por Bogorni e Vendramim (2003). As folhas de milho tratadas com extrato e as das testemunhas (tratadas com água destilada – testemunha negativa e tratadas com o inseticida Connect - Neonicotinóide (Imidacloprido) e Piretróide (Beta-ciflutrina) – testemunha positiva) foram colocadas em placas de Petri (90 x 15 mm), onde foi acondicionada uma lagarta de 2º ínstar de *S. frugiperda* por placa. Optou-se por lagartas de 2º ínstar devido à maior sensibilidade de lagartas de 1º ínstar a outros fatores que poderiam levar a mortalidade do inseto. O inseticida Connect foi utilizado na dose comercial recomendada como testemunha positiva, por ser reconhecidamente nocivo a *S. frugiperda*. As folhas foram substituídas diariamente por novas folhas tratadas com a solução aquosa a 1%. (Roel e Vendramim, 1999). Foi avaliada a viabilidade larval (porcentagem de lagartas que atingiram a fase de pupa), duração larval (duração em dias da fase larval), viabilidade pupal (porcentagem de pupas que atingiram a fase adulta), duração pupal (duração em dias da fase de pupa), biomassa das pupas (mg). O delineamento experimental foi inteiramente casualizado, com cinco tratamentos, envolvendo três espécies vegetais, testemunha, e inseticida padrão, com cinco repetições, sendo cada uma composta por dez lagartas, totalizando cinquenta lagartas por tratamento.

Efeito sobre a fase reprodutiva: Adultos virgens e de mesma idade provenientes de lagartas previamente intoxicadas durante toda a fase larval foram utilizados para avaliação dos seguintes parâmetros: pré-oviposição (duração em dias da emergência da

fêmea até o primeiro dia de sua oviposição), oviposição (duração em dias do primeiro dia de oviposição até o último dia de oviposição da fêmea), pós-oviposição (duração em dias do último dia de oviposição até o dia da morte da fêmea), total de ovos/fêmea (quantidade de ovos colocados durante o período de oviposição da fêmea), viabilidade dos ovos (porcentagem de lagartas eclodidas), período de incubação dos ovos (período em dias desde a postura dos ovos até a eclosão das lagartas) e longevidade dos adultos (duração em dias da emergência até a morte dos machos e fêmeas). O delineamento experimental foi inteiramente casualizado, com três tratamentos, envolvendo duas espécies vegetais e testemunha, com cinco repetições por tratamento, sendo cada casal considerado uma repetição.

Análise estatística. O delineamento experimental adotado nos testes foi inteiramente casualizado sendo os resultados submetidos à análise de variância e quando significativo a 5% de probabilidade, as médias foram comparadas pelo Teste de Tukey, através do programa SISVAR (Ferreira, 2011).

Resultados

Os extratos metanólicos obtidos das folhas de *A. dioica*, *A. cacans* e *A. coriacea* apresentaram rendimentos de 30,56; 23,85 e 48,20%, respectivamente. Das três espécies analisadas, os extratos metanólicos de *A. dioica* (EMAD) e *A. coriacea* (EMACo) apresentaram os maiores teores de flavonoides, com valores de 650,00 e 480,45 mg de quercetina/g de extrato, respectivamente. O teor de fenóis totais foi maior no EMACo e no extrato metanólico de *A. cacans* (EMACa), com valores de 756,68 e 560,22 mg de ácido gálico/g de extrato, respectivamente (Fig. 1). Os taninos

condensados nos extratos avaliados apresentaram valores máximos de 266,33 mg / g (Figura 1).

Spodoptera frugiperda alimentada com folhas de milho com extrato de *A. coriacea* apresentou menor biomassa de pupas ($93,42 \pm 6,35$ mg) quando comparada à testemunha ($198,80 \pm 2,67$ mg). Por outro lado as tratadas com extrato de *A. dioica* ou *A. cacans* não tiveram redução do peso pupal (Tabela 1).

O extrato de *A. dioica* e *A. coriacea* reduziram a viabilidade da fase larval de *S. frugiperda* (Tabela 1). Verificou-se que muitas lagartas, quando atingiam os últimos ínstaes larvais, permaneciam na fase intermediária larva-pupa por vários dias, sem conseguir empupar normalmente, até a morte devido ao efeito de *A. dioica* (Fig. 2).

Do número de insetos restantes, não houve diferença significativa entre os extratos e a testemunha quanto à viabilidade pupal (Tabela1). As pupas inviáveis devido à ação dos extratos geralmente apresentavam deformações e coloração escura (Fig. 3 e 4).

A duração da fase larval foi similar entre os extratos e a testemunha (Tabela1). A duração da fase pupal foi prolongada pela ação do extrato de *A. coriacea* ($14,77 \pm 1,32$ dias).

Na fase adulta, os períodos de pré-oviposição, oviposição e pós-oviposição de *S. frugiperda* não apresentaram diferenças significativas em relação à testemunha (Tabela 2).

O extrato de folhas de *A. cacans* não interferiu na fecundidade das fêmeas de *S. frugiperda*, representada pelo número total médio de ovos, e não afetou a viabilidade e período de incubação desses ovos (Tabela 2). Extrato de *A. dioica* diminuiu a

quantidade de ovos/fêmea, assim como também afetou a viabilidade média dos ovos, e o período de incubação desses ovos, diferindo em relação à testemunha (Tabela 2).

Apenas um casal de adultos de *S. frugiperda* formou-se quando suas lagartas foram alimentadas com folhas de milho tratadas com o extrato metanólico de *A. coriacea*, não sendo possível avaliar estatisticamente as variáveis biológicas desta. Foi observado que a fecundidade da fêmea desse casal foi reduzida, com postura de apenas 9 ovos, sendo todos inviáveis. Observaram-se também deformações nas asas das fêmeas adultas (Fig.5).

A longevidade de adultos (machos e fêmeas) de *S. frugiperda* foi semelhante entre os extratos e a testemunha (Tabela 2).

Discussão

Os compostos orgânicos presentes na espécie vegetal *A. coriacea* reduziram a viabilidade da fase larval e biomassa das pupas de *S. frugiperda*. A menor biomassa das pupas deve-se à pouca ingestão de alimento pelas lagartas, por existir nos extratos compostos inibidores da alimentação (Huang *et al* 1996, Carpinella *et al* 2002). Outro fator que pode levar à redução da biomassa das pupas é a ativação do sistema citocromo P-450, um importante mecanismo de degradação de metabólitos tóxicos (Breuer *et al* 2003), desviando, dessa maneira, recursos que normalmente seriam utilizados para ganho de biomassa na fase larval (Torrecillas and Vendramim 2001). Larvas que consomem dietas ricas em proteínas produzem pupas mais pesadas e adultos que produzem mais ovos que os insetos alimentados com dietas pobres em proteínas (Maroneze e Gallegos 2009). Estudos mostram que extratos vegetais, como da mamoma (*Ricinus communis*), podem conter um fator anti-nutricional inibidor de tripsina (Soetan 2008, Rossi *et al* 2012). Inibidores de tripsina atuam na digestão primária,

interrompendo o processo de digestão das proteínas dentro da membrana peritrófica (Terra e Ferreira 2005). Se as proteínas presentes no alimento não são digeridas, elas serão excretadas resultando em fraca absorção de aminoácidos, o que leva a uma deficiência nutricional nos insetos e morte (Jongsma e Bolter 1997).

Annona coriacea é popularmente conhecida como "marolo" ou "araticum-do-cerrado" no Brasil, e estudos têm relatado que acetogeninas são os principais constituintes desta espécie (Meneses Da Silva 1996). Acetogeninas da Annonaceae podem ter atividades citotóxicas, antitumorais, antiparasitárias, pesticidas, antimicrobianas e imunossupressoras (Cavé *et al* 1997). Compostos de plantas podem atuar de várias maneiras, especialmente quando há um complexo de moléculas ativas capazes de afetar os insetos. Estudos têm mostrado que os compostos orgânicos de plantas com atividade inseticida podem agir como inibidores de alimentação em insetos, podem afetar o crescimento, desenvolvimento, reprodução, e comportamento dos insetos (Menezes 2005). Neste estudo, as substâncias ativas parecem ter agido sobre o sistema neuroendócrino dos insetos, por interferir nos processos normais de metamorfose. Muitos dos insetos permaneceram em fase de pré-pupa e muitas pupas foram mal formadas. Após a emergência, os adultos apresentaram deformações em suas asas ou outras partes do corpo. Este modo de ação é similar ao da azadiractina e seus derivados, que normalmente causam a inibição do crescimento e alterações na metamorfose de insetos (Martinez 2011).

Inseticidas que atuam por contato podem agir rapidamente levando à morte dos insetos, como verificado pelas larvas alimentadas com o extrato de *A. coriacea*. As substâncias tóxicas com uma ação rápida contra os insetos apresentam atividade neurotóxica (Bowman 2006). A fase de pupa prolongada induzida por extratos de *A.*

coriacea é importante, pois pode aumentar o período de exposição de uma praga para os inimigos naturais e também aumentar a duração média de cada geração, reduzindo assim o crescimento da população em geral (Torres *et al* 2001).

A atividade observada para EMAD e EMACo é provavelmente devido a presença de flavonoides, compostos fenólicos e acetogeninas, como já relatado para outras espécies de *Annona* (Yang *et al* 2009). Os compostos fenólicos têm sido regularmente avaliados em muitos estudos sobre as interações entre plantas e herbívoros (Ossipov *et al* 1995). Em insetos, flavonoides interferem com a muda, reprodução, alimentação e comportamento (Reyes-Chilpa *et al* 1995, Musayimana *et al* 2001, Simmonds 2001) e agem como anti-alimentar (Morimoto *et al* 2000).

Além de afetar a viabilidade larval, os metabólitos secundários em *A. dioica* afetaram os adultos de *S. frugiperda*, aumentando o período de incubação dos ovos e reduzindo a fecundidade e a fertilidade das fêmeas. A redução da viabilidade dos ovos é conhecida como ação transovariana, o que pode ser observado nos ovos após três a quatro dias (Pratissoli *et al* 2004). Costa *et al* (2004) observaram que a qualidade e quantidade de nutrientes obtidos durante a alimentação das larvas podem influenciar o número de ovários por ovário e, por extensão, reduzir o potencial de produção de ovos. No campo, a redução do número de ovos e da taxa de eclosão podem influenciar diretamente a densidade larval e reduzir os danos que causam (Maroneze & Gallegos 2009). Os efeitos provocados por *A. dioica* demonstram que a classe de compostos presentes podem influenciar determinadas fases do ciclo de desenvolvimento do inseto. A redução da fecundidade e da viabilidade de ovos são importantes efeitos de extratos de plantas sobre a reprodução de insetos (Costa *et al* 2004).

Estudos químicos relatam o isolamento e caracterização de alcaloides (Dos Santos *et al* 2003), flavonoides, e mistura de estigmasterol, sitosterol, e sitosterol-3- β -O-glicopiranosídeo (Vega *et al* 2007, Formagio *et al* 2013) em *A. dioica*. Os flavonoides representam uma importante classe de polifenóis com forte atividade biológica, incluindo potencial alelopático e inibidores enzimáticos. Alcaloides, em geral, são tóxicos e são evitados através de animais e insetos nas suas dietas.

As quantidades de compostos orgânicos nas folhas de *A. cacans* na concentração a 1%, não foram suficientes para exercer um efeito negativo sobre *S. frugiperda* (Tabelas 1, 2). As espécies de plantas, com resultados menos promissores, como *A. cacans*, não devem ser desconsideradas, outras concentrações e outras partes da planta, tais como as sementes, cascas e flores, devem ser testadas, porque as concentrações de metabolitos secundários podem variar de acordo com a parte da planta (Gobbo-Neto & Lopes 2007).

Os extratos metanólicos das folhas de *A. coriacea* e *A. dioica*, exceto *A. cacans*, influenciaram negativamente o desenvolvimento e a reprodução de *S. frugiperda*. A identificação das espécies de plantas com potencial como bioinseticidas podem auxiliar futuros estudos abordando o fracionamento e isolamento das moléculas ativas, com o objetivo de introdução de produtos botânicos, como mais uma alternativa no controle de *S. frugiperda*.

Agradecimentos - À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), pela bolsa concedida e à empresa Semeali, pela doação das sementes de milho.

References

- Andrews KL (1988) Latin American research on *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae). Fla Entomol 71: 630-650
- Blessing LT, Cólom OA, Popich S, Neske A, Bardón A (2010) Antifeedant and toxic effects of acetogenins from *Annona montana* on *Spodoptera frugiperda*. J Pest Sci 83: 307-310
- Boeke SJ, Kossou DK, Van Huis A, Van Loon JJA, Dicke M (2004) Field trials with plant products to protect stored cowpea against insect damage. Int J Pest Manag 50: 1-9
- Bogorni PC, Vendramim JD (2003) Bioatividade de extratos aquosos de *Trichilia* spp. sobre *S. frugiperda* (J. E. Smith) (Lepidoptera: Noctuidae) em milho. Neotrop Entomol 32: 665-669
- Bowman D D (2006) Georgis Parasitologia Veterinária. Manole, Barueri, p 422
- Breuer M, Hoste B, De Loof A, Nagvi SNH (2003) Effect of *Melia azedarach* extract on the activity of NADPH-cytochrome c reductase and cholinesterase in insects. Pestic Biochem Physiol 76: 99-103
- Carpinella MC, Ferrayoli C, Valladares G, Defago M, Palacios S (2002) Potent limonoid insect antifeedant from *Melia azedarach*. Biosci Biotechnol Biochem 66: 1731-1736
- Cavé A, Figadère B, Laurens A, Cortes D (1997) Acetogenins from Annonaceae. Fortschr Chem Org Naturst Prog Chem Org Nat Prod 70: 81-288
- Cechinel Filho V, Yunes RA (1998) Estratégias para a obtenção de compostos farmacologicamente ativos a partir de plantas medicinais, conceitos sobre modificação estrutural para a otimização da atividade. Quím Nova 21: 99-105
- Coelho MB, Marangoni S, Macedo MLR (2007) Insecticidal action of *Annona coriacea* lectin against the flour moth *Anagasta kuehniella* and the rice moth *Corcyra cephalonica* (Lepidoptera: Pyralidae). Comp Biochem Physiol 146: 406-414
- Costa ELN, Silva RFP, Fiuza LM (2004) Efeitos, aplicações e limitações de extratos de plantas inseticidas. Acta Biol Leopold 26: 173-185
- Cronquist A. (1993) An Integrated System of Classification of Flowering Plants. Columbia University Press, New York, NY, p 1262

- Dos Santos PRD, Morais AA, Braz-Filho R (2003) Alkaloids from *Annona dioica*. J Braz Chem Soc 14:396-400
- Ferreira DF (2011) Sisvar: a computer statistical analysis system. Ciênc Agrotec (UFLA) 35:1039-1042
- Formagio ASN, Kassuya CAL *et al* (2013) The flavonoid content and antiproliferative, hypoglycaemic, anti-inflammatory and free radical scavenging activities of *Annona dioica* St. Hill. BMC Complement Altern Med 13:14
- Gallo D, Nakano O *et al* (2002) Entomologia agrícola. Fealq, Piracicaba, p 920
- Gobbo-Neto L, Lopes NP (2007) Plantas medicinais: fatores de influência no conteúdo de metabólitos secundários. Quím Nova 30: 374-381
- Hernández CR (2001) Plantas contra Plagas – potencial práctico de ajo, anona, nim, chile y tabaco. RAPAM, Estado de México, p 133
- Hernández CR, Angel DN (1997) Anonáceas con propiedades insecticidas. In: São José AR, Souza IVB, Morais OM, Reboucas TNH (eds) Anonáceas: produção e mercado (pinha, graviola, atemóia e cherimólia). DFZ/UESB, Vitória da Conquista, Bahia, pp 229-239
- Huang RC, Tadera K, Yagi F, Minami Y, Okamura H, Iwagawa T, Nakatani M (1996) Limonoids from *Melia azedarach*. Phytochem 43: 581-583
- Isman MB (1995) Leads and prospects for the development of new botanical insecticides. In: Roe RM, Kuhr RJ (eds) Reviews in Pesticide Toxicology. Toxicology Communications Inc., Raleigh, NC, USA, pp 1-20
- Jacobson M (1989) Botanical pesticides: past, present and future. In: Arnason JT, Philogene BJR, Morand P (eds) Inseticides of plant origin. American Chemical Society, Washington, pp 1-10
- Jongsma MA, Bolter C (1997) The adaptation of insect to plant protease inhibitors. J Insect Physiol 43: 885-895
- Klocke JA (1987) Natural plant compounds useful in insect control. In: Waller GR (ed) Allelochemicals: Role in agriculture and forestry. American Chemical Society, Washington, pp 396-415
- Lage GA (2011) Isolamento, identificação química e bioprospecção de metabólitos secundários nas folhas de *Annona crassiflora* Mart. Dissertação, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, Brasil, p 108

- Leatemia JA, Isman MB (2004) Insecticidal activity of crude seed extracts of *Annona* spp, *Lansium domesticum* and *Sandoricum koetjape* against lepidopteran larvae. *Phytoparasit* 32: 30-37
- Llanos CAH, Arango DL, Giraldo MC (2008) Actividad insecticida de extractos de semilla de *Annona muricata* (Annonaceae) sobre *Sitophilus zeamais* (Coleoptera: Curculionidae). *Rev Colomb Entomol* 34: 76-82
- Lin JY, Tang CY (2007) Determination of total phenolic and flavonoid contents in selected fruits and vegetables, as well as their stimulatory effects on mouse splenocyte proliferation. *Food Chem.* 101: 140–147
- Maroneze DM, Gallegos DMN (2009) Efeito de extrato aquoso de *Melia azedarach* no desenvolvimento das fases imatura e reprodutiva de *Spodoptera frugiperda* (J. E. Smith, 1797) (Lepidoptera: Noctuidae). *Semina Ciênc Agrar.* 30: 537-550
- Martinez SS (2011) O nim, *Azadiractina indica* – Natureza, usos múltiplos, produção. IAPAR, Londrina, p 205
- Mass PJM, Kamer MV, Junnika H, Mello-Silva R, Rainer H (2001) Annonaceae from central- eastern Brazil. *Rodriguésia* 52: 65–98
- Matos AP, Nebo L *et al* (2006) Atividade Biológica de Extratos Orgânicos de *Trichilia* spp. (Meliaceae) sobre *Spodoptera frugiperda* (J. E. Smith) (Lepidoptera: Noctuidae) em Dieta Artificial. *BioAssay* 1: 1-6
- Maxson ED, Rooney LW (1972) Evaluation of methods for tannin analysis in sorghum grain. *Cereal Chem.* 49: 719-729
- Meda A, Lamien CE, Romito M, Millogo J, Nacoulma OG (2005) Determination of the total phenolic, flavonoid and proline contents in burkina fasan honey, as well as their radical scavenging activity. *Food Chem.* 91: 571–577
- Meneses Da Silva EL, Roblot F, Mahuteau J, Cavé A (1996) Coriadienin, the first annonaceous acetogenin with two double bonds isolated from *Annona coriaceae*. *J Nat Prod* 59: 528-30
- Menezes ELA (2005) Inseticidas botânicos: seus princípios ativos, modo de ação e uso agrícola. Seropédica: Embrapa Agrobiologia, Rio de Janeiro, 58 p
- Morimoto M, Kumeda S, Komai K (2000) Insect antifeedant flavonoids from *Gnaphalium affine* D. Don. *J Agric Food Chem* 48: 1888-1891

- Muhammad I, Dunbar DC, Takamatsu S, Walker LA, Clark AM (2001) Antimalarial, cytotoxic, and antifungal alkaloids from *Duguetia hadrantha*. J Nat Prod 64: 559-62
- Musayimana T, Saxena RC, Kairu EW, Ogol CPKO, Khan ZR (2001) Effects of neem seed derivatives on behavioral and physiological responses of the *Cosmopolites sordidus* (Coleoptera: Curculionidae). J Econ Entomol 94: 449-454
- Oliveira AC (2009) Efeito Antialimentar do Extrato Metanólico de *Annona crassiflora* Mart. sobre o Percevejo Marrom *Euschistus heros* (Fabr. 1798) (Heteroptera: Pentatomidae). Rev Bras Agroecol 4: 2633-2636
- Ossipov V, Nurmi K, Loponen J, Prokopiev N, Haukioja E, Piltlaja K (1995) HPLC isolation and identification of flavonoids from white birch *Betula pubescens* leaves. Biochem. Syst. Ecol. 23: 213-222
- Parra JRP (2001) Técnicas de criação de insetos para programas de controle biológico. Fealq, Piracicaba, p 134
- Pontes WJT, Oliveira JCS De, Câmara CAG Da, Gondim Júnior MGC, Oliveira JV De, Schwartz MOE (2007) Atividade acaricida dos óleos essenciais de folhas e frutos de *Xylopia sericea* sobre o ácaro rajado (*Tetranychus urticae* Koch). Quím Nova 30: 838-841
- Pratissoli D, Thuler RT, Pereira FF, Reis EF Dos, Ferreira AT (2004) Ação transovariana de lufenuron (50 g/l) sobre adultos de *Spodoptera frugiperda* (J. E. Smith) (Lepidoptera: Noctuidae) e seu efeito sobre o parasitóide de ovos *Trichogramma pretiosum* Riley (Hymenoptera: Trichogrammatidae). Ciênc agrotec 28: 9-14
- Reyes-Chilpa R, Viveros-Rodriguez N, Gomez-Garibay F, Alavez-Solano D (1995) Antitermitic activity of *Lonchocarpus castilloi* flavonoids and heartwood extracts. J Chem Ecol 21: 455-463
- Roel AR, Vendramin JD (1999) Desenvolvimento de *S. frugiperda* (J. E. Smith) em genótipos de milho tratados com extrato acetato de etila de *Trichilia pallida* (Swartz). Sci Agric 56: 581-586
- Rossi GD, Santos CD, Carvalho GA, Alves DS, Pereira LLS, Carvalho GA (2012) Biochemical analysis of a castor bean leaf extract and its insecticidal effects against *Spodoptera frugiperda* (Smith) (Lepidoptera: Noctuidae). Neotrop Entomol 41: 503-509

- Seffrin RC, Shikano I, Akhtar Y, Isman MB (2010) Effects of crude seed extracts of *Annona atemoya* and *Annona squamosa* L. against the cabbage looper, *Trichoplusia ni* in the laboratory and greenhouse. *Crop Prot* 29: 20-24
- Silva APT, Pereira MJB, Bento LF (2007) Extrato metanólico da semente de araticum (*Annona coriacea*) (Mart.) sobre a mortalidade da traça-do-tomateiro (*Tuta absoluta*). *Rev Bras Agroecol* 2: 1150-1153
- Simmonds MSJ (2001) Importance of flavonoids in insect-plant interactions: Feeding and oviposition. *Phytochem* 56: 245-252
- Soetan KO (2008) Pharmacological and other beneficial effects of Antinutritional factors in Plants - A Review. *Afr J Biotechnol* 7: 4713-4721
- Terra WR, Ferreira C (2005) Biochemistry of digestion. In: Gilbert LI, Iatrou K, Gill SS (eds) *Comprehensive Molecular Insect Science*. Elsevier, Oxford, pp 171-224
- Torrecillas SM, Vendramim JD (2001) Extrato aquoso de ramos de *Trichilia pallida* e o desenvolvimento de *Spodoptera frugiperda* em genótipos de milho. *Sci Agric* 58: 27-31.
- Torres AL, Barros R, Oliveira JV (2001) Efeito de extratos aquosos de plantas no desenvolvimento de *Plutella xylostella* (L.) (Lepidoptera: Plutellidae). *Neotrop Entomol* 30: 151-156
- Trindade RCP, Luna JS, Lima MRF, Silva PP, Sant'ana AEG (2011) Larvicidal activity and seasonal variation of *Annona muricata* (Annonaceae) extract on *Plutella xylostella* (Lepidoptera: Plutellidae). *Rev Colomb Entomol* 37: 223-227
- Vega MRG, Esteves-Souza A, Vieira IJC, Mathias L, Braz-Filho R, Echevarria A (2007) Flavonoids from *Annona dioica* leaves and their effects in Ehrlich carcinoma cells DNA-topoisomerase I and II. *J Braz Chem Soc* 18: 1554-1559
- Yang H, LI X, Tang Y, Zhang N, Chen J, Cai B (2009) Supercritical fluid CO₂ extraction and simultaneous determination of eight annonaceous acetogenins in *Annona* genus plant seeds by HPLC-DAD method. *J Pharm Biomed Anal.* 49: 140-144

Tabela 1. Médias ($\pm$ EP) de biomassa das pupas, duração e viabilidade da fase larval e pupal de *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae) alimentadas com folhas de milho tratadas com extratos metanólicos de plantas medicinais da família Annonaceae (Temp.: 25 ± 1 °C, UR: $70 \pm 10\%$ e fotofase: 14h).

	Biomassa das Pupas (mg)	Duração Larval (dias)	Viabilidade Larval (%)	Duração Pupal (dias)	Viabilidade Pupal (%)
Controle	198,8 $\pm$ 2,67 a n=47	16,2 $\pm$ 0,17 a n=50	93,9 $\pm$ 1,63 a n=50	10,2 $\pm$ 0,11 b n=47	94,6 $\pm$ 2,42 a n=47
<i>Annona dioica</i>	180,2 $\pm$ 6,64 a n=33	14,2 $\pm$ 0,82 a n=50	66,0 $\pm$ 6,78 b n=50	9,7 $\pm$ 0,37 b n=33	78,4 $\pm$ 12,35 a n=33
<i>Annona cacans</i>	192,4 $\pm$ 2,78 a n=43	14,4 $\pm$ 0,59 a n=50	86,0 $\pm$ 5,09 ab n=50	11,9 $\pm$ 0,59 ab n=43	97,1 $\pm$ 2,86 a n=43
<i>Annona coriacea</i>	93,4 $\pm$ 6,35 b n=12	13,8 $\pm$ 1,99 a n=50	24,0 $\pm$ 11,66 c n=50	14,7 $\pm$ 1,32 a n=12	64,2 $\pm$ 18,62 a n=12

Letras distintas na mesma coluna diferem entre si a 5% de probabilidade pelo teste de Tukey. EP = erro padrão. n= número de insetos

"No tratamento Imidacloprid, β -ciflutrina, os dados não foram suficientes para conduzir a análise, devido à mortalidade dos insetos no primeiro dia."

Tabela 2. Médias ($\pm$ EP) de pré-oviposição, oviposição, pós-oviposição, quantidade de ovos, período de incubação e viabilidade dos ovos, e longevidade das fêmeas e dos machos de adultos *S. frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae). Temp.: 25 ± 1 °C, UR: $70 \pm 10\%$ e fotofase: 14h.

	Pré – oviposição (dias)	Oviposição (dias)	Pós – oviposição (dias)	Número de ovos (unidade)	Período de incubação dos ovos (dias)	Viabilidade dos ovos (%)	Longevidade das fêmeas (dias)	Longevidade dos machos (dias)
Controle	4,00 $\pm$ 0,54a	6,80 $\pm$ 0,40a	2,10 $\pm$ 0,71a	815,30 $\pm$ 184,24a	3,42 $\pm$ 0,25b	80,45 $\pm$ 3,47a	12,30 $\pm$ 1,10a	10,10 $\pm$ 0,94a
A. dioica	3,40 $\pm$ 0,74a	3,60 $\pm$ 1,16a	5,66 $\pm$ 1,76a	142,40 $\pm$ 50,88b	4,64 $\pm$ 0,22a	7,38 $\pm$ 7,38b	8,80 $\pm$ 2,74a	10,80 $\pm$ 0,37a
A. cacans	3,80 $\pm$ 1,15a	5,60 $\pm$ 1,20a	3,50 $\pm$ 0,86a	1153,60 $\pm$ 330,43a	2,92 $\pm$ 0,08b	65,88 $\pm$ 16,13a	12,20 $\pm$ 0,80a	9,60 $\pm$ 1,16a

Letras distintas na mesma coluna diferem entre si a 5% de probabilidade pelo teste de Tukey. EP = erro padrão.

"Nos tratamentos Imidacloprid, β -ciflutrina e *A. coriacea* os dados não foram suficientes para conduzir a análise, devido à mortalidade dos insetos".

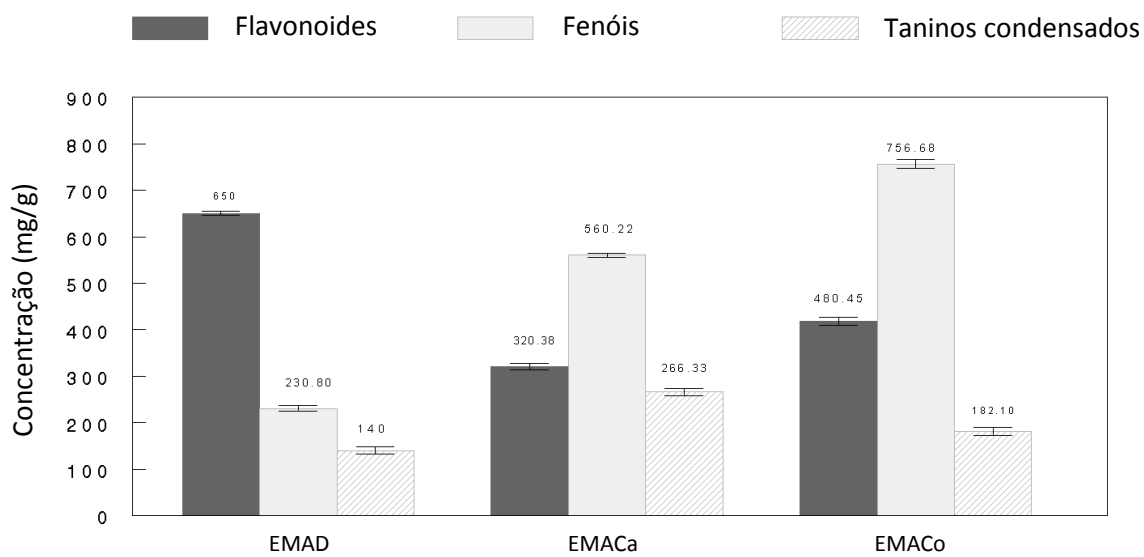


Fig. 1. Teor de fenóis totais, flavonoides e taninos condensados no extrato metanólico de *Annona dioica* (EMAD), *Annona cacans* (EMACa) e *Annona coriacea* (EMACo).

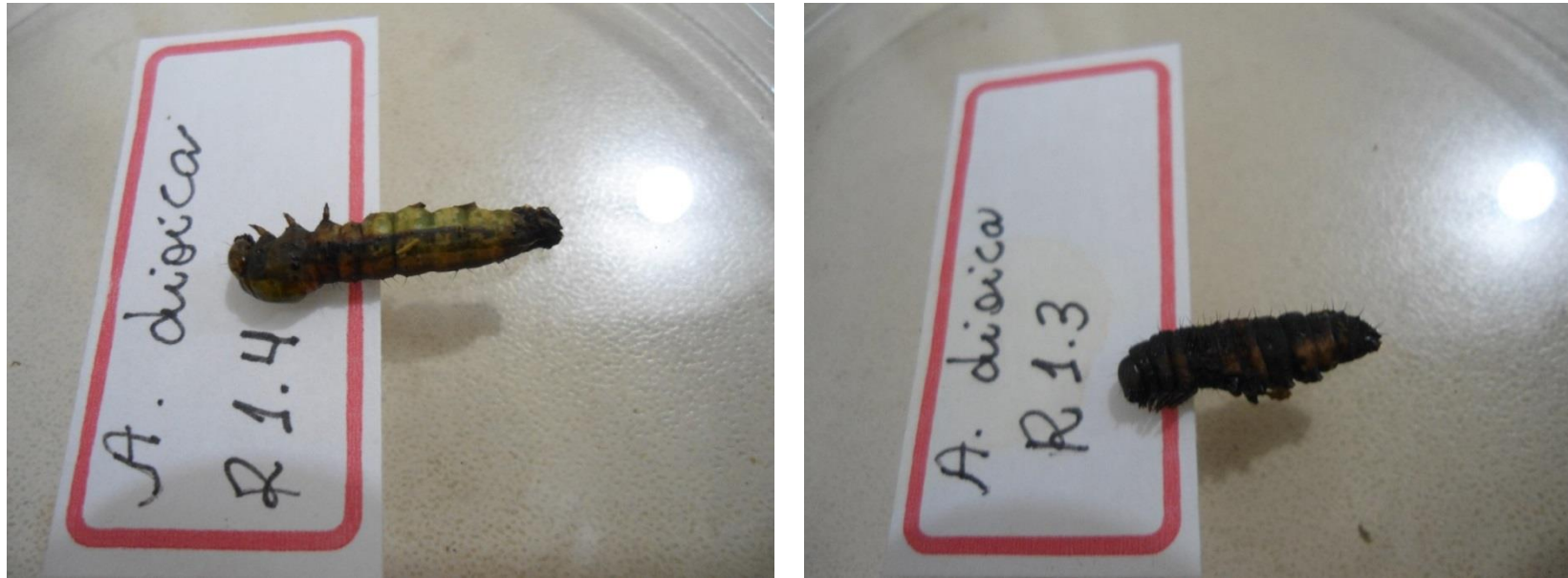


Fig. 2. Efeito de extrato metanólico de *Annona dioica* sobre *Spodoptera frugiperda*, fase de pré-pupa.



Fig.3. Efeito de extratos metanólicos de *Annona* sobre pupas de *Spodoptera frugiperda*. À esquerda, pupa com coloração escura e pupa normal à direita.



Fig.4. Efeito de extratos metanólicos de *Annona* em pupas de *Spodoptera frugiperda*.



Fig.5. Adulto de *Spodoptera frugiperda* com deformações em suas asas devido à ação do extrato metanólico de *Annona coriacea*.

AÇÃO BIOINSETICIDA DE DIFERENTES PARTES VEGETAIS DE *Annona coriacea*
 (ANNONACEAE) em *Spodoptera frugiperda* (LEPIDOPTERA: NOCTUIDAE)

ALESSANDRA F. FREITAS¹, M.Sc.; FABRICIO F. PEREIRA¹, Ph. D.; ANELISE S. N. FORMAGIO², Ph. D.; JÉSSICA T. LUCCHETTA¹; MARIA DO CARMO VIEIRA², Ph. D.; ROSILDA M. M. F. SILVA¹, Ph. D.

Universidade Federal da Grande Dourados (UFGD), ¹Faculdade de Ciências Biológicas e Ambientais (FCBA), ²Faculdade de Ciências Agrárias (FCA), Rodovia Dourados-Itahum, Km 12, Cidade Universitária, Caixa Postal – 533 CEP: 79.804-970, Dourados-MS, Brasil.

Autor correspondente: Alessandra Fequetia Freitas, a_ffreitas@yahoo.com.br.

Abstract

Spodoptera frugiperda (J.E. Smith) (Lepidoptera: Noctuidae) is one of the major insect pests in maize. To control these insects the use of alternative insecticides has been considered. The objective of this study was to evaluate the effect of the methanol extracts from the various plant parts of *Annona coriacea* Mart. such as the flower, fruit peel and seeds on the development and reproduction of *S. frugiperda*. The corn leaves were immersed in various extracts at concentration of 1%. After solvent had evaporated, the second instar caterpillars of *S. frugiperda* were placed on Petri dishes (90 x 15 mm) and the larvae were fed with these leaves. Distilled water was used in the negative control, whereas, the synthetic insecticide Connect® - neonicotinoid (Imidacloprid) and pyrethroid (β -cyfluthrin) were utilized, for the positive control. The *A. coriacea* seeds were observed to behave in a manner very similar to the insecticide Connect® as it reduced the duration of the larval stage and caused 100% mortality. The pupal biomass, oviposition period and female longevity were also reduced by methanol extracts from the flower and fruit peel.

The polyphenol content of the methanol extracts from the flower, fruit peel and seeds were low, showing values of 124.65, 133.54 and 144.70 mg gallic acid/g extract, respectively. Our results indicated that methanol extracts from the seeds was the most potential extract for insecticide use.

Key words: *Annona*, antibiosis, bioactivity, botanical insecticide, fall armyworm.

INTRODUÇÃO

Spodoptera frugiperda (JE Smith) (Lepidoptera: Noctuidae) é um importante lepidóptero praga que ataca diversas culturas economicamente importantes em vários países. Em sua fase larval, é conhecida como lagarta-do-cartucho e é a principal praga da cultura do milho no Brasil (Praça *et al.*, 2006).

O alto índice de infestação de *S. frugiperda* e os grandes prejuízos econômicos ocasionados por este inseto favoreceram a uma dependência do uso intensivo de inseticidas químicos para o seu controle. O uso indiscriminado desses inseticidas tem contribuído para o desenvolvimento de populações com resistência a diversas classes de inseticidas, incluindo organofosforados, carbamatos e piretróides (Yu, 1991; Yu, 1992; Diez-Rodrigues e Omoto, 2001; Yu *et al.*, 2003; Carvalho *et al.*, 2013).

As plantas têm mecanismos de proteção que lhes permitem resistir a uma variedade de condições desfavoráveis, incluindo ataques de insetos e microorganismos fitopatogênicos (Malek e Dietrich, 1999; Stotz *et al.*, 1999; Valueva e Moslov, 2004). A fim de evitar os efeitos nocivos ao meio ambiente ocasionados pelos inseticidas sintéticos, tem ocorrido um crescente interesse na utilização de metabólitos secundários de plantas para o manejo de insetos pragas (Malik e Mujtaba Naqvi, 1984; Mikolajczak e Read, 1987, Mikolajczak *et al.*, 1989; Kubo, 1997; Wheeler e Isman, 2000; Bogorni e Vendramim, 2003; Torres *et al.*, 2003; Céspedes *et al.*, 2000, 2001, 2004, 2005; Coelho *et al.*, 2007; Rozman *et al.*, 2007; Akhtar *et al.*, 2008; Maroneze, 2009; Seffrin *et al.*, 2010; Ukeh e Umoetok, 2011; Trindade *et al.*, 2011; Knaak *et al.*, 2012; Ukeh *et al.*, 2012; Oz *et al.*, 2013; Carneiro *et al.*, 2013; Zavala-Sánchez, *et al.*, 2013).

A família Annonaceae compreende cerca de 130 gêneros e aproximadamente 2300 espécies, distribuídas em regiões tropicais e subtropicais na África, Ásia, Austrália, América Central e do Sul (Pontes *et al.*, 2007). No Brasil, essa família está representada por aproximadamente 27 gêneros e 290 espécies (Moreira, 2005), as quais são relatadas como uma rica fonte de alcaloides, acetogeninas e algumas amidas, classes de compostos com ampla variedade de atividade biológica. Cerca de 29 espécies de anonáceas possuem propriedades inseticidas (Hernández e Angel, 1997; Muhammad *et al.*, 2001).

A família Annonaceae destaca-se por apresentar acetogeninas de anonáceas, as quais demonstraram atividade antitumoral, antimalarial, anthelmíntica, antimicrobiana, antiprotozoaria, pesticida e antiséptica (Alali *et al.*, 1999).

O gênero *Annona* (Annonaceae) consiste em mais de 110 espécies distribuídas na Ásia, América e África subtropical. Estudos químicos de espécies deste gênero mostram o isolamento de alcaloides, amidas, peptídeos e acetogeninas, como principais metabólitos secundários (Lage, 2011). Neste contexto, a espécie *Annona coriacea* Mart. (Annonaceae) (Fig. 1 e 2), popularmente conhecida como "marolo", "araticum", "araticum-liso" (Coelho *et al.*, 2003; Souza e Lorenzi, 2008) é uma planta encontrada no Cerrado ainda não relatada na literatura para o controle da lagarta do cartucho do milho (*S. frugiperda*).

Assim, este trabalho teve como finalidade avaliar o efeito de extratos metanólicos de flores, sementes e epicarpo da infrutescência, de *Annona coriacea* Mart. sobre o desenvolvimento e reprodução de *S. frugiperda*.

MATERIAL E MÉTODOS

O trabalho foi desenvolvido nos Laboratórios de Entomologia da Faculdade de Ciências Biológicas e Ambientais (FCBA) e de Plantas Medicinais da Faculdade de Ciências Agrárias (FCA), da Universidade Federal da Grande Dourados (UFGD).

Material Vegetal. As flores, sementes e casca dos frutos de *A. coriacea* foram coletadas em maio de 2009, em Dourados, Mato Grosso do Sul, Brasil. A cidade de Dourados está

localizada na parte sul mato-grossense, situada a 22°14'16"S e 54° 48'02"W, em altitude média de 452 m. A planta em estudo foi identificada pela Dra. Zefa Valdevina Pereira e a exsicata de *Annona coriacea* (DDMS 186) encontra-se depositada no Herbário da Faculdade de Ciências Biológicas e Ambientais, da Universidade Federal da Grande Dourados (UFGD), Dourados, MS.

Obtenção dos extratos. O material vegetal (semente, flor e epicarpo da infrutescência) de *A. coriacea* foi seco em estufa de ar circulante (Tecnal) a 45° C, até peso constante. Após secagem, foram triturados em moinho de facas (Micronal) (MA340/A) e submetidos à extração por maceração com metanol 100% (P.A) por 10 dias. Posteriormente, foram filtrados e concentradas em evaporador rotativo (MA-120) (Marconi) sob pressão reduzida, para obtenção dos extratos metanólicos.

Obtenção dos Insetos. Lagartas de *S. frugiperda* foram obtidas da criação mantidas em dieta artificial (Parra 2001), no Laboratório de Entomologia da Faculdade de Ciências Biológicas e Ambientais (FCBA), da UFGD.

Efeito sobre a fase imatura de *S. frugiperda*. Soluções aquosas a 1% foram preparadas e utilizadas nos ensaios, segundo método de Roel e Vendramim (1999). Acrescentaram-se 9,4 µl/100 mL de água destilada de Tween 80% para melhor solubilização. Folhas de milho híbrido XB 6012 (28 cm² aproximadamente), com 50 a 60 dias de idade, foram imersas na solução do extrato por aproximadamente dois segundos, sendo a seguir mantidas em condição ambiente para evaporação do excesso de líquido, da mesma forma como utilizado por Bogorni e Vendramim (2003). As folhas de milho tratadas com extrato e as das testemunhas (tratadas com água destilada – testemunha negativa e tratadas com o inseticida Connect - Neonicotinóide (Imidacloprido) e Piretróide (Beta-ciflutrina) – testemunha positiva) foram colocadas em placas de Petri (90 x 15 mm), onde foi acondicionada uma lagarta de 2º ínstar de *S. frugiperda* por placa. Optou-se por lagartas de 2º ínstar devido à maior sensibilidade de lagartas de 1º ínstar a outros fatores que poderiam levar à mortalidade do inseto. O inseticida Connect foi utilizado na dose comercial recomendada

como testemunha positiva, por ser reconhecidamente nocivo a *S. frugiperda*. As folhas foram substituídas diariamente por novas folhas tratadas com a solução aquosa a 1%, da forma como realizado por Roel e Vendramim (1999). Foi avaliada a viabilidade larval (porcentagem de lagartas que atingiram a fase de pupa), duração larval (duração em dias da fase larval), viabilidade pupal (porcentagem de pupas que atingiram a fase adulta), duração pupal (duração em dias da fase de pupa) e biomassa das pupas (mg). O delineamento experimental foi inteiramente casualizado, com cinco tratamentos, envolvendo três partes vegetais de *A. coriacea* (flor, epicarpo da infrutescência e semente) testemunha e inseticida padrão, com cinco repetições, sendo cada uma composta por dez lagartas, totalizando cinquenta lagartas por tratamento.

Efeito sobre a fase adulta de *S. frugiperda*. Adultos virgens e de mesma idade provenientes de lagartas previamente intoxicadas durante a fase larval foram utilizados para avaliação dos seguintes parâmetros: pré-oviposição (duração em dias da emergência da fêmea até o primeiro dia de sua oviposição), oviposição (duração em dias do primeiro dia de oviposição até o último dia de oviposição da fêmea), pós-oviposição (duração em dias do último dia de oviposição até o dia da morte da fêmea), total de ovos/fêmea (quantidade de ovos colocados durante o período de oviposição da fêmea), viabilidade dos ovos (porcentagem de lagartas eclodidas), período de incubação dos ovos (período em dias desde a postura dos ovos até a eclosão das lagartas) e longevidade dos adultos (duração em dias da emergência até a morte dos machos e fêmeas). O delineamento experimental foi inteiramente casualizado, com três tratamentos, envolvendo duas partes vegetais de *A. coriacea* (flor e epicarpo da infrutescência) e testemunha, com cinco repetições por tratamento, sendo cada casal considerado uma repetição.

Conteúdo de polifenóis totais. Cada extrato metanólico (semente, epicarpo da infrutescência e flor) foi avaliado para determinar o conteúdo total de polifenóis usando o reagente de Folin-Ciocalteu (Djeridane *et al.*, 2006). Em seguida, 100 µL do extrato de metanol (1 g / L) foi dissolvido em 1,0 mL de água destilada e 0,5 mL de reagente de Folin-Ciocalteu (1:10 v / v) foi adicionado. Em seguida, 1,5 mL de uma solução saturada de

Na₂CO₃ (2%) foram adicionados após 3 min. Depois de meia hora, a absorbância foi medida a 765 nm usando um espectrofotômetro (Bioespectro). O conteúdo fenólico foi calculado utilizando a curva padrão de ácido gálico (5, 10, 15, 30, 40, 50, 60 e 70 µg/mL), preparado em uma solução de metanol a 80% e os resultados foram expressos como miligramas de ácido gálico equivalente por grama de extrato. O metanol foi utilizado como branco. Para calibrar a curva de ácido gálico, a seguinte equação foi aplicada: $\hat{y} = 8,297x + 0,0072$, com um coeficiente de correlação $r = 0,977$. Todos os ensaios foram realizados em triplicata.

Análise estatística. O delineamento experimental foi inteiramente casualizado sendo os resultados submetidos à análise de variância e quando significativo a 5% de probabilidade, as médias foram comparadas pelo Teste de Tukey, através do programa SISVAR (Ferreira, 2011).

RESULTADOS

Os extratos metanólicos obtidos da flor, epicarpo da infrutescência e semente de *A. coriacea* apresentaram rendimentos de 28,65%, 38,76% e 16,88%, respectivamente. Para identificar algumas classes dos metabólitos presentes nos extratos, o conteúdo total de polifenóis da flor, epicarpo da infrutescência e sementes foram encontrados com valores de 124,65; 133,54 e 144,70 mg de ácido gálico/g extrato, respectivamente.

Nenhuma lagarta de *S. frugiperda* alimentada com folhas de milho tratadas com o extrato metanólico de sementes de *A. coriacea* completou a fase larval. Registrou-se mortalidade de 100% nas lagartas (Tabela 1), desempenho semelhante ao do produto Connect, que é utilizado convencionalmente para o controle do inseto no campo. Dessa forma, os únicos parâmetros registrados para este tratamento foram a viabilidade larval e a duração larval. A duração larval foi reduzida para $2,50 \pm 0,13$ dias em relação à testemunha ($16,23 \pm 0,17$ dias).

A duração da fase larval e a viabilidade larval foram similares entre o tratamento do epicarpo da infrutescência de *A. coriacea* e a testemunha (Tabela 1), enquanto que o extrato das flores de *A. coriacea* interferiu na duração e viabilidade larval (Tabela 1).

Na duração da fase pupal, não houve diferença estatística entre o extrato do epicarpo da infrutescência de *A. coriacea* quando comparados à testemunha (Tabela 1). No entanto, a duração da fase pupal foi reduzida pela ação do extrato das flores de *A. coriacea* ($9,34 \pm 0,29$ dias).

A viabilidade pupal foi igual para os tratamentos (epicarpo da infrutescência e flor) em relação à testemunha (Tabela 1).

Lagartas de *S. frugiperda* alimentadas com folhas de milho imersas na solução dos extratos de epicarpo da infrutescência e flor de *A. coriacea* apresentaram biomassa média inferior de pupas ($173,62 \pm 2,69$; $178,92 \pm 4,66$ mg, respectivamente) em relação à testemunha ($198,80 \pm 2,67$).

Na fase adulta, os extratos oriundos do epicarpo da infrutescência e das flores de *A. coriacea* interferiram na oviposição das fêmeas de *S. frugiperda*, reduzindo o período de oviposição ($4,25 \pm 0,85$; $2,33 \pm 0,33$ dias, respectivamente), quando comparados à testemunha ($6,80 \pm 0,40$ dias).

A longevidade das fêmeas também foi reduzida devido à ação do extrato do epicarpo da infrutescência ($8,20 \pm 1,62$ dias) e do extrato das flores ($7,40 \pm 0,87$ dias) em relação à testemunha ($12,30 \pm 1,10$ dias). Nos demais caracteres avaliados da fase adulta não houve diferença estatística entre os tratamentos e a testemunha (Tabela 2).

Não foi possível avaliar os caracteres biológicos da fase adulta para o extrato de *A. coriacea* (sementes) por não haver dados devido à mortalidade dos insetos na fase larval.

DISCUSSÃO

A diferença no rendimento da extração está provavelmente relacionada com as diferentes quantidades de componentes químicos, tais como as substâncias polares e não polares presentes nas várias partes da planta.

Compostos fenólicos, dentre outros metabolitos secundários, são sintetizados pelas plantas durante o seu desenvolvimento normal em resposta a condições de estresse. Presente nas plantas como um grupo diverso de derivados fitoquímicos de fenilalanina e tirosina, esses compostos ajudam na fotoproteção, na defesa contra insetos, bem como sendo responsável pela pigmentação (Simões et al. 2010).

O método utilizado neste trabalho para se determinar o teor de fenóis, fazendo-se uso do reagente de Folin-Ciocalteu, é um dos mais utilizados. O referido reagente consiste em uma mistura dos ácidos fosfomolibdico e fosfotungstístico, onde o molibdênio e o tungstênio se encontram em um estado de oxidação +6. Na presença de agentes redutores, ocorre a formação de molibdênio e tungstênio azul, cujo estado de oxidação se encontra entre +5 e +6. Esta mudança na coloração permite que seja determinada a concentração de substâncias redutoras, neste caso, os compostos de natureza fenólica (Chaves et al., 2010).

Os resultados revelam que os extratos de *A. coriacea* não são considerados como uma fonte de compostos fenólicos, devido à baixa concentração, quando comparados às folhas desta mesma espécie.

O extrato metanólico dos diferentes órgãos vegetais de *A. coriacea* interferiu na biologia do lepidóptero *S. frugiperda*, porém o extrato das sementes mostrou maior eficiência, comprovando que as concentrações dos metabólitos secundários podem variar de acordo com a parte do vegetal. Segundo Gobbo-Neto e Lopes (2007), os órgãos vegetais podem influenciar não só a quantidade total de metabólitos produzidos, mas também as proporções relativas dos componentes da mistura.

A atividade inseticida mais eficaz com as sementes da espécie vegetal provavelmente se refere a uma maior concentração de flavonoides, alcaloides e acetogeninas de Annonaceae e terpenos, compostos provavelmente responsáveis pela atividade inseticida.

Algumas substâncias inseticidas podem agir rapidamente levando à morte dos insetos, como verificado pelas lagartas alimentadas com o extrato de *A. coriacea* (sementes). Substâncias muito tóxicas e de rápida ação contra insetos apresentam ação neurotóxica, atuando no sistema nervoso central do inseto, interagindo com os canais íons sódio e potássio presentes na membrana do axônio, e assim, interferindo na transmissão sináptica ou axônica normal dos impulsos nervosos levando a morte do inseto em pouco tempo (Bowman, 2006).

O efeito tóxico desta espécie vegetal foi mais eficiente sobre a fase larval do que sobre as pupas, uma vez que é nessa fase larval que o inseto ingere as substâncias químicas presentes nos alimentos (Rodríguez e Vendramim, 1996; Céspedes *et al.*, 2000; Martinez,

2001). As lagartas mortas pelos extratos de *A. coriacea* apresentaram coloração escura e tamanho pequeno, e muitas morreram na fase intermediária larva-pupa. Tais alterações morfológicas podem resultar do efeito de componentes químicos no sistema hormonal do inseto, afetando os hormônios da ecdise ou provocando alterações no nível ou atividade do hormônio juvenil (Tanzubil & McCaffery 1990, Roel *et al.* 2000, Martinez 2002, Menezes 2005). A ocorrência de indivíduos mortos em um estágio intermediário entre a fase de pré-pupa e pupa também foi encontrada por Klocke (1987) e Govindachari (1992) com azadiractina, por Rodríguez (1995), com extratos aquosos de Meliaceae, e por Roel *et al.* (2000), com o extrato de acetato de etila de *Trichillia pallida*.

A redução da duração larval ocasionada pelo extrato das flores de *A. coriacea* é explicada pelo efeito inibidor da alimentação das larvas provocadas pelas substâncias presentes nas plantas, induzindo à mudança de estágio (Knaak *et al.*, 2012). A duração larval também foi reduzida por extratos de meliáceas sobre *S. frugiperda* (Mikolajczak e Read, 1987; Mikolajczak *et al.*, 1989; Matos *et al.*, 2006).

O efeito inibidor de alimentação provocado por extratos vegetais pode interferir na biomassa das pupas. A redução na biomassa pupal relaciona-se a pouca ingestão de alimento durante a fase larval, por existir nos extratos compostos inibidores da alimentação (Huang *et al.*, 1996; Carpinella *et al.*, 2002). Redução na biomassa de pupas foi verificada pelo extrato aquoso da espécie *M. azedarach* em *S. frugiperda* (Maroneze, 2009). Em *Spodoptera littoralis* (Boisduval) (Lepidoptera: Noctuidae), essa espécie promove a destruição das células epiteliais do intestino, restringido a digestão e absorção de alimento (Schmidt *et al.*, 1997). Como consequência, pupas de biomassa inferior darão origem a adultos pequenos e, possivelmente, haverá problemas na cópula desses indivíduos com indivíduos normais e as fêmeas serão menos fecundas (Rodríguez e Vendramim, 1996).

A redução no período de oviposição e na longevidade das fêmeas pela ação dos derivados de *A. coriacea* (flor e epicarpo da infrutescência), observadas na fase adulta de *S. frugiperda* estão, provavelmente, associadas aos efeitos das substâncias presentes nos extratos das flores e epicarpo da infrutescência de *A. coriacea*, durante o estágio larval. Os adultos, geralmente, não morrem pela ação dos derivados de plantas. No entanto, as substâncias vegetais são capazes de interferir na reprodução dos insetos, diminuindo a

fecundidade ou ocasionando esterilização total (Schmutterer 1990 Maroneze 2009). A duração pupal também foi reduzida pelo tratamento com flores da espécie vegetal. Essa assincronia do desenvolvimento na população poderia causar problemas de reprodução (Rodrigues e Vendramim, 1996; Matos *et al.*, 2006).

Os aleloquímicos presentes em *A. coriacea* afetaram negativamente a biologia da população de *S. frugiperda*, sendo o extrato de sementes desta espécie o que causou maior atividade inseticida, merecendo ser alvo de estudos mais detalhados. Este fato permitirá, em trabalhos futuros, a caracterização química da espécie vegetal, ou seja, a identificação do composto ou classe dos compostos, responsáveis pela atividade bioinseticida, contribuindo para a seleção de novos inseticidas que preencham os requisitos de eficácia, segurança e seletividade.

AGRADECIMENTOS: À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), pela bolsa concedida e à empresa Semeali, pela concessão das sementes de milho.

REFERÊNCIAS

- Akhtar, Y., Y.R. Yeoung & M.B. Isman. 2008. Comparative bioactivity of selected extracts from Meliaceae and some commercial botanical insecticides against two noctuid caterpillars, *Trichoplusia ni* and *Pseudaletia unipuncta*. *Phytochemistry*.7: 77-88.
- Alali, F.Q., X.X. Liu & J.L. McLaughlin. 1999. Annonaceous acetogenins: Recent progress. *J. Nat. Prod.* 62: 504-540.
- Bogorni, P.C. & J.D. Vendramim. 2003. Bioatividade de extratos aquosos de *Trichilia* spp. sobre *S. frugiperda* (J. E. Smith) (Lepidoptera: Noctuidae) em milho. *Neotrop. Entomol.* 32: 665-669.
- Bowman, D.D. Georgis. 2006. Parasitologia Veterinária. Barueri, São Paulo, Brasil.

Carneiro, A.P., M.J.B. Pereira & C. Galbiati. 2013. Biocide activity of *Annona coriacea* seeds extract on *Rhodnius neglectus* (Hemiptera: Reduviidae). *Rev. Biol. Trop.* 61: 419-427.

Carpinella, M.C., C. Ferrayoli, G. Valladares, M. Defago & S. Palacios. 2002. Potent limonoid insect antifeedant from *Melia azedarach*. *Biosci. Biotechnol. Biochem.* 66: 1731-1736.

Carvalho, R.A., C. Omoto, L.M. Field, M.S. Williamson & C. Bass. 2013. Investigating the molecular mechanisms of organophosphate and pyrethroid resistance in the fall armyworm *Spodoptera frugiperda*. *PloS One*. 8: 1-11.

Céspedes, C.L., J.S. Calderón, L. Lina & E. Aranda. 2000. Growth inhibitory effects on fall armyworm *Spodoptera frugiperda* of some limonoids isolated from *Cedrela* spp. (Meliaceae). *J. Agric. Food Chem.* 48: 1903-1908.

Céspedes, C.L., M. Martínez-Vázquez, J.S. Calderón, J.R. Salazar & E. Aranda. 2001. Insect growth regulatory activity of some extracts and compounds from *Parthenium argentatum* on fall armyworm *Spodoptera frugiperda*. *Z. Naturforsch. C.* 56: 95-105.

Céspedes, C.L., J.R. Salazar, M. Martínez & E. Aranda. 2005. Insect growth regulatory effects of some extracts and sterols from *Myrtillocactus geometrizans* (Cactaceae) against *Spodoptera frugiperda* and *Tenebrio molitor*. *Phytochemistry*. 66: 2481-2493.

Céspedes, C.L., P. Torres, J.C. Marín, A. Arciniegas, A.L. Pérez- Castorena, A. Romo de Vivar & E. Aranda. 2004. Insect growth inhibition by tocotrienols and hydroquinones from *Roldana barba-johannis* (Asteraceae). *Phytochemistry*. 65: 1963-1975.

Chaves, M.H., A.M.G.L. Citó, J.A.D. Lopes, D.A. Costa, C.A.A. Oliveira, A.F. Costa & F. E. M. B. Júnior. 2010. Fenóis totais, atividade antioxidante e constituintes químicos de extratos de *Anacardium occidentale* L., Anacardiaceae. Rev. Bras. Farmacogn. 20: 106-12.

Coelho, M.B., I.A. De Souza, M.G.M. Freire, S. Marangoni, E. Antunes & M.L.R. Macedo. 2006. Neutrophil migration in mice induced by a mannose-binding lectin isolated from *Annona coriacea* seeds. Toxicon. 48: 529-535.

Coelho, M.B., M.G.M. Freire, M.H. Toyama, S. Marangoni, J.C. Novello & M.L.R. Macedo. 2003. Purification and characterization of a lectin from *Annona coriacea* seeds. Protein Pept. Lett. 10: 165-173.

Coelho, M.B., S. Marangoni & M.L. Macedo. 2007. Insecticidal action of *Annona coriacea* lectin against the flour moth *Anagasta kuehniella* and the rice moth *Corcyra cephalonica* (Lepidoptera: Pyralidae). Comp. Biochem. Physiol. C Toxicol. Pharmacol. 146: 406-14.

Costa, E.V., M.L.B. Pinheiro, C.M. Xavier, J.R.A. Silva, A.C.F. Amaral, A.D.L. Souza, A. Barison, F.R. Campos, A.G. Ferreira, G.M.C. Machado & L.L.P. Leon. 2006. A pyrimidine- β -carboline and other alkaloids from *Annona foetida* with antileishmanial activity. J. Nat. Prod. 69: 292-294.

Diez-Rodrigues, G.I. & C. Omoto. 2001. Inheritance of lambda-cyhalothrin resistance in *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith) (Lepidoptera: Noctuidae). Neotrop. Entomol. 30: 311-316.

Djeridane, A., M. Yousfi, B. Nadjemi, D. Boutassouna, P. Stocker & N. Vidal. 2006. Antioxidant activity of some algerian medicinal plants extracts containing phenolic compounds. Food Chem. 97: 654-660.

Ferreira, D.F. 2011. Sisvar: a computer statistical analysis system. Ciênc. Agrotec. (UFLA). 35: 1039-1042.

Gobbo-Neto, L. & N.P. Lopes. 2007. Plantas medicinais: fatores de influência no conteúdo de metabólitos secundários. Quim. Nova. 30: 374-381.

Govindachari, T.R. 1992. Chemical and biological investigations on *Azadirachta indica* (the neem tree). Curr. Sci. 63: 117-122.

Huang, R.C, K. Tadera, F. Yagi, Y. Minami, H. Okamura & T. Iwagawa & M. Nakatani. 1996. Limonoids from *Melia azedarach*. Phytochemistry. 43: 581-583.

Klocke, J.A. 1987. Natural plant compounds useful in insect control, p. 396-415. In G.R. Waller (eds.). Allelochemicals: role in agriculture and forestry. American Chemical Society, Washington, EUA.

Knaak, N., M.S. Tagliari, V. Machado & L.M. Fiuza. 2012. Atividade inseticida de extratos de plantas medicinais sobre *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith) (Lepidoptera: Noctuidae). BioAssay. 7:1-6.

Kubo, I. 1997. Tyrosinase inhibitors from plants, p. 311-326. In P. Hedin, R. Hollingworth, E. Masler, J. Miyamoto & D. Thompson (eds.). Phytochemicals for Pest Control. American Chemical Society, Washington, EUA.

Lage, G.A. 2011. Isolamento, identificação química e bioprospecção de metabólitos secundários nas folhas de *Annona crassiflora* Mart. Dissertação de Mestrado, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, Minas Gerais, Brasil.

Malek, K. & R.A. Dietrich. 1999. Defense on multiple fronts: how do plants cope with diverse enemies? Trends Plant Sci. 4: 215-219.

Malik, M.M. & S.H.M. Naqvi. 1984. Screening of some indigenous plants as repellents or antifeedants for stored grain insects. J. Stored Prod. Res. 20: 41-44.

Martinez, S.S. 2002. O nim, *Azadiractina indica* – Natureza, usos múltiplos, produção. Londrina, Paraná, Brasil.

Menezes, E.L.A. 2005. Inseticidas botânicos: seus princípios ativos, modo de ação e uso agrícola. Rio de Janeiro, Brasil.

Meneses da Silva, E.L., F. Roblot, J. Mahuteau & A. Cavé. 1996. Coriadienin, the first annonaceous acetogenin with two double bonds isolated from *Annona coriaceae*. J. Nat. Prod. 59: 528–530

Maroneze, D.M. & D.M.N. Gallegos. 2009. Efeito de extrato aquoso de *Melia azedarach* no desenvolvimento das fases imatura e reprodutiva de *Spodoptera frugiperda* (J. E. Smith, 1797) (Lepidoptera: Noctuidae). Semina Ciênc. Agrar. 30: 537-550.

Martinez, S.S. 2001. The use of plants with insecticidal and repellent properties in pest control. Londrina, Paraná, Brasil.

Matos, A.P., L. Nebo, E.R. Calegari, L.G. Batista-Pereira, P.C. Vieira, J.B. Fernandes, M.F.G.F. Silva, P.F. Filho & R.R. Rodrigues. 2006. Atividades biológicas de extratos orgânicos de *Trichilia* spp. (Meliaceae) sobre *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith) (Lepidoptera: Noctuidae) em dieta artificial. BioAssay. 1:1-7.

Mikolajczak, K.L. & D.K. Reed. 1987. Extractivess of seeds of the Meliaceae: effects on *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith), *Acalyma vittatum* (F.), and *Artemia salina* Leach. J. Chem. Ecol. 13: 99-111.

Mikolajczak, K.L., B.W. Zilkowski & R.J. Bartelt. 1989. Effect of meliaceous seed extracts on growth and survival of *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith). J. Chem. Ecol. 15: 121-128.

Moreira, I.C., J.H.G. Lago & N.F. Roque. 2005. Sesquiterpenes, diterpenes, steroids and alkaloid from branches of *Xylopia brasiliensis* Spreng (Annonaceae). Biochem. Syst. Ecol. 33: 948-951.

Muhammad, I., D.C. Dunbar, S. Takamatsu, L.A. Walker & A.M. Clark. 2001. Antimalarial, cytotoxic, and antifungal alkaloids from *Duguetia hadrantha*. J. Nat. Prod. 64: 559-62.

Oz, E., S. Koc, O.D. Dusen, R. Mammadov & H. Cetin. 2013. Larvicidal activity of *Cyclamen* (Myrsinaceae) extracts against the larvae of West Nile virus vector *Culex pipiens* L. (Diptera: Culicidae). Asian Pac. J. Trop. Med. 6: 449-452.

Parra, J.R.P. 2001. Técnicas de criação de insetos para programas de controle biológico. Piracicaba, São Paulo, Brasil.

Pontes, A.F. & R. Mello-Silva. 2005. Annonaceae do Parque Nacional da Serra da Canastra, Minas Gerais, Brasil. Bol. Bot. Univ. S.P. 23: 71-84.

Pontes, W.J.T., J.C.S. Oliveira, C.A.G. Câmara, M.G.C. Gondim Júnior, J.V. Oliveira & M.O.E. Schwartz. 2007. Atividade acaricida dos óleos essenciais de folhas e frutos de *Xylopia sericea* sobre o ácaro rajado (*Tetranychus urticae* Koch). Quim. Nova. 30: 838-841.

Praça, L.B., S.P. Silva Neto & R.G. Monnerat. 2006. *Spodoptera frugiperda* J.Smith 1797 (Lepidoptera: Noctuidae) Biologia, amostragem e métodos de controle. Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia. Brasília, DF, Brasil.

Rodríguez, H.C. 1995. Efeito de extratos aquosos de Meliaceae no desenvolvimento de *Spodoptera frugiperda* (J.E.Smith, 1797) (Lepidoptera: Noctuidae). Tese de Doutorado, ESALQ/USP, Piracicaba, São Paulo, Brasil.

Rodríguez, H.C. & J.D Vendramim. 1996. Toxicidad de extractos acuosos de Meliaceae en *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae). Man. Integ. Plagas. 42: 14-22.

Roel, A.R. & J.D. Vendramin. 1999. Desenvolvimento de *S. frugiperda* (J. E. Smith) em genótipos de milho tratados com extrato acetato de etila de *Trichilia pallida* (Swartz). Sci. Agric. 56: 581-586.

Roel, A.R., J.D. Vendramim, R.T.S. Frighetto & N. Frighetto. 2000. Efeito do extrato acetato de etila de *Trichilia pallida* Swartz (Meliaceae) no desenvolvimento e sobrevivência da lagarta-do-cartucho. Bragantia. 59: 53-58.

Rozman, V., I. Kalinovic & Z. Korunic. 2007. Toxicity of naturally occurring compounds of Lamiaceae and Lauraceae to three stored-product insects. J. Stored Prod. Res. 43: 349-355.

Schmidt, G.H., A.A.I. Ahmed & M. Breuer. 1997. Effect of *Melia azedarach* extract on larval development and reproduction parameters of *Spodoptera littoralis* (Boisd.) and *Agrotis ipsilon* (Hufn.) (Lep. Noctuidae). Anz. Schadlingskd. Pfl. Umwelt. 70: 4-12.

Schumutterer, H. 1990. Properties and potencial of natural pesticides from the neem tree, *Azadirachta indica*. Annu. Rev. Entomol. 35: 271-297.

Seffrin, R.C., I. Shikano, Y. Akhtar & M.B. Isman. 2010. Effects of crude seed extracts of *Annona atemoya* and *Annona squamosa* L. against the cabbage looper, *Trichoplusia ni* in the laboratory and greenhouse. Crop Prot. 29: 20-24.

Silva, D.B., M.F.C. Matos, S.T. Nakashita, C.K. Misu, N.C.Yoshida, C.A. Carollo, J.R. Fabri, H.S. Miglio & J.M. Siqueira. 2007. Isolamento e avaliação da atividade citotóxica de alguns alcalóides oxaporfínicos obtidos de Annonaceae. *Quim. Nova*. 30: 1809-1812.

Simões, C.M.O., E.P. Schenkel, G. Gosmann, J.C.P. Mello, L.A. Mentz & P.R. Petrovick. 2010. *Farmacognosia: da planta ao medicamento*. Porto Alegre, Rio Grande do Sul, Brasil.

Souza, V.C. & H. Lorenzi. 2008. *Botânica sistemática: guia ilustrado para identificação das famílias de fanerógamas nativas e exóticas no Brasil, baseado em APG II*. São Paulo, Brasil.

Stotz, H.U., J. Kroymann & T. Mitchell-Olds. 1999. Plant–insect interactions. *Curr. Opin. Plant Biol.* 2: 268-272.

Tanzubil, P.B. & A.R. McCaffery. 1990. Effects of azadirachtin and aqueous neem seed extracts on survival, growth and development of the African armyworm, *Spodoptera exempta*. *Crop Prot.* 9: 383-386.

Torres, P., J.G. Avila, A. Romo de Vivar, A.M. García, J.C. Marín, E. Aranda & C.L. Céspedes. 2003. Antioxidant and insect growth regulatory activities of stilbenes and extracts from *Yucca periculosa*. *Phytochemistry*. 64: 463-473.

Trindade, R.C.P., J.S. Luna, M.R.F. Lima, P.P. Silva & A.E.G.Sant’ana. 2011. Larvicidal activity and seasonal variation of *Annona muricata* (Annonaceae) extract on *Plutella xylostella* (Lepidoptera: Plutellidae). *Rev. Colomb. Entomol.* 37: 223-227.

Ukeh, D.A., E.E. Oku, I.A. Udo, A.I. Nta & J.A.Ukeh. 2012. Insecticidal effect of fruit extracts from *Xylopia aethiopica* and *Dennettia tripetala* (Annonaceae) against *Sitophilus oryzae* (Coleoptera: Curculionidae). *Chil. J. Agr. Res.* 72: 195-200.

Ukeh, D.A. & S.B.A. Umoetok. 2011. Repellent effects of five monoterpenoid odours against *Tribolium castaneum* (Herbst) and *Rhyzopertha dominica* (F.) in Calabar, Nigeria. Crop Prot. 30: 1351-1355.

Valueva, T.A. & V.V. Moslov. 2004. Role of inhibitors of proteolytic enzymes in plant defense against phytopathogenic microorganisms. Biochemistry. 69: 1305-1309.

Wheeler, D.A. & M.B. Isman. 2000. Effect of *Trichilia americana* extract on feeding behavior of asian armyworm, *Spodoptera litura*. J. Chem. Ecol. 26: 2791-2800.

Yang, H., X. Li, Y. Tang, N. Zhang, J. Chen & B. Cai. 2009. Supercritical fluid CO₂ extraction and simultaneous determination of eight Annonaceous acetogenins in *Annona* genus plant seeds by HPLC-DAD method. J. Pharm. Biomed. Anal. 49: 140-144.

Yu, S.J. 1991. Insecticide resistance in the fall armyworm, *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith). Pestic. Biochem. Physiol. 39: 84-91.

Yu, S.J., S.N. Nguyen & G.E. Abo-Elghar. 2003. Biochemical characteristics of insecticide resistance in the fall armyworm, *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith). Pestic. Biochem. Physiol. 77: 1-11.

Zavala-Sánchez, M.A., S.P. Gutiérrez, D. Romo-Asunción, N.C. Cárdenas-Ortega & M.A. Ramos-López. 2013. Activity of Four *Salvia* Species Against *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith) (Lepidoptera: Noctuidae). Southwest. Entomol. 38: 67-73.

Tabela 1. Médias ($\pm$ EP) de biomassa das pupas, duração e viabilidade das fases larval e pupal de *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae) alimentadas com folhas de milho tratadas com extratos metanólicos de *A. coriacea* (Annonaceae). Temp.: $25 \pm 1^\circ\text{C}$, UR: $70 \pm 10\%$ e fotofase: 14h.

	Biomassa de pupas (mg)	Duração larval (dias)	Viabilidade larval (%)	Duração pupal (dias)	Viabilidade pupal (%)
Testemunha	198,80 $\pm$ 2,67 a n=47	16,23 $\pm$ 0,17 a n=50	93,99 $\pm$ 1,63 a n=50	10,25 $\pm$ 0,11 a n=47	94,60 $\pm$ 2,42 a n=47
<i>Annona coriacea</i> (semente)	—	2,50 $\pm$ 0,13 c n=50	—	—	—
<i>Annona coriacea</i> (epicarpo da infrutescência)	173,62 $\pm$ 2,69 b n=46	16,92 $\pm$ 0,43 a n=50	92,00 $\pm$ 3,74 a n=50	9,79 $\pm$ 0,20 ab n=46	89,33 $\pm$ 4,73 a n=46
<i>Annona coriacea</i> (flor)	178,92 $\pm$ 4,66 b n=37	15,14 $\pm$ 0,19 b n=50	74,00 $\pm$ 4,00 b n=50	9,34 $\pm$ 0,29 b n=37	88,56 $\pm$ 5,34 a n=37

Letras distintas na mesma coluna diferem entre si a 5% de probabilidade pelo teste de Tukey. EP = erro padrão.

—Os dados não foram suficientes para realizar a análise, devido à mortalidade dos insetos.

"No tratamento Imidacloprid, β -ciflutrina, os dados não foram suficientes para conduzir a análise, devido à mortalidade dos insetos no primeiro dia." n= número de insetos.

Tabela 2. Médias ($\pm$ EP) de pré-oviposição, oviposição, pós-oviposição, quantidade de ovos, período de incubação e viabilidade dos ovos, e longevidade das fêmeas e dos machos de adultos *S. frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae). Temp.: 25 ± 1 °C, UR: $70 \pm 10\%$ e fotofase: 14h.

	Pré – oviposição (dias)	Oviposição (dias)	Pós– oviposição (dias)	Quantidade de ovos (unidade)	Período de incubação ovos (dias)	Viabilidade ovos (%)	Longevidade fêmeas (dias)	Longevidade machos (dias)
Testemunha	4,00 $\pm$ 0,54 a	6,80 $\pm$ 0,40 a	2,10 $\pm$ 0,71a	815,30 $\pm$ 184,24 a	3,42 $\pm$ 0,25 a	80,45 $\pm$ 3,47 a	12,30 $\pm$ 1,10 a	10,10 $\pm$ 0,94 a
<i>Annona coriacea</i> (epicarpo da infrutescência)	5,25 $\pm$ 1,49 a	4,25 $\pm$ 0,85 b	1,75 $\pm$ 0,47 a	848,00 $\pm$ 322,24 a	3,37 $\pm$ 0,23 a	68,41 $\pm$ 23,13 a	8,20 $\pm$ 1,62 ab	6,00 $\pm$ 1,44 a
<i>Annona coriacea</i> (flor)	5,33 $\pm$ 0,33 a	2,33 $\pm$ 0,33 b	1,33 $\pm$ 0,33 a	242,60 $\pm$ 130,47 a	3,52 $\pm$ 0,13 a	66,46 $\pm$ 24,30 a	7,40 $\pm$ 0,87 b	8,20 $\pm$ 0,91 a

Letras distintas na mesma coluna diferem entre si a 5% de probabilidade pelo teste de Tukey. EP = erro padrão.

"Nos tratamentos Imidacloprid, β -ciflutrina e *A. coriacea* os dados não foram suficientes para conduzir a análise, devido à mortalidade dos insetos".



Fig. 1. Árvore de *Annona coriacea* Mart. (Annonaceae).



Fig. 2. Fruto de *Annona coriacea* Mart. (Annonaceae).

EFEITO DE EXTRATOS DE *Trichilia silvatica* C. DC. NOS PARÂMETROS DE DESENVOLVIMENTO E REPRODUÇÃO DE *Spodoptera frugiperda* (J.E. SMITH) (LEPIDOPTERA: NOCTUIDAE)

ALESSANDRA F. FREITAS^{1*}; ANELISE S. N. FORMAGIO²; FABRICIO F. PEREIRA¹; JÉSSICA T. LUCCHETTA¹; MARIA DO CARMO VIEIRA².

Universidade Federal da Grande Dourados (UFGD), ¹Faculdade de Ciências Biológicas e Ambientais (FCBA), ²Faculdade de Ciências Agrárias (FCA), Dourados-MS, Brazil.

ABSTRACT - The objective of this study was to evaluate the effects of the methanolic extracts from the leaves, bark, and flowers of *Trichilia silvatica* on *Spodoptera frugiperda*. Also was evaluating the total phenolic and flavonoid content of methanolic extracts. We also reported chemical study the most active extract. Corn leaves were immersed in a 1% methanolic extract solution and fed to second instars of *S. frugiperda*. The extract of the *T. silvatica* (LTS) leaves decreased the viability of the larva, prolonged larval duration, affected the pupal biomass, decreased the period of oviposition and the number of eggs as well as affected the egg viability. The methanolic extract of the *T. silvatica* (BTS) bark decreased the larval viability, oviposition period, number of eggs and egg viability. The flower extract of *T. silvatica* (FTS) decreased the larval viability and period of oviposition. In relation to the constituent contents, the methanolic extract of the leaves showed highest total phenol (233.37 mg gallic acid/g of extract) and flavonoid (53.17 mg quercetin/ g of extract) content. The chemical study of the FTS resulted in α -tocopherol, sitosterol 3-O- glucopyranoside, mustakone and N-methylproline. Our results indicated that the extracts affected the biology of *S. frugiperda*, being LTS most promising.

Key Words: Meliaceae, methanolic extracts, insecticides, plant-derived compounds.

Introdução

O gênero *Trichilia* consiste em cerca de 70 espécies, distribuídas principalmente na América tropical e África, das quais 43 espécies ocorrem no Brasil (Pennington, Styles & Taylor, 1981). Investigações químicas revelaram a presença de limonoides como os principais agentes bioativos (Champagne et al., 1992). Os compostos pertencentes a este grupo expressam uma grande variedade de atividades biológicas, como inseticida, antialimentar e capacidade reguladora do crescimento em insetos (Champagne et al, 1989; Kubo e Klocke, 1982; Mikolajczak e Reed, 1987; Mikolajczak et al, 1989; Nakatani et al, 1981; Simmonds et al, 2001; Xie et al, 1994), bem como analgésico e anti-viral e vários outros efeitos farmacológicos em seres humanos (Romin et al, 1992; Vaz et al, 1997).

Estudos biológicos realizados com extratos vegetais de *Trichilia connaroides*, *T. prieureana*, *T. roka*, *T. triphyllaria*, *T. casaretti*, *T. catigua*, *T. claussenii*, *T. elegans* e *T. pallida* demonstraram atividade inseticida sobre a lagarta-do-cartucho do milho *Spodoptera frugiperda* (Mikolajczak & Reed, 1987, Roel & Vendramim, 1999; Roel et al. 2000a, 2000b; Bogorni & vendramim 2003, 2005).

Alguns estudos têm focado nos nortriterpenoides (limonoides) da família Meliaceae devido aos seus efeitos potentes sobre os insetos pragas ligados à sua baixa toxicidade (Carpinella et al, 2002, 2003, Champagne et al, 1989; Klocke et al, 1989.; Kubo e Klocke, 1982).

Trichilia silvatica C. DC. é uma pequena árvore perene que ocorre no Brasil, comumente conhecido como "cachuá", "cachuá-branco" em Santa Catarina e "rosa-branca" na Bahia, Brasil. Estudos químicos realizados nos extratos das folhas de *T. silvatica* descrevem o isolamento de sesquiterpenos espatulenol, veridiflorol, óxido humuleno, (2S, 3S, 6R, 7R)-humuleno-2, 3; 6,7-diepóxido, (2R, 3R, 6R, 7R)-humuleno 2,3; 6,7-diepóxido, mustakone, o esteroide, e os triterpenos α -amirina, β -amirina, e pseudotaraxasterol e lupeol (Soares et al., 2013). O extrato n-butanol das folhas demonstraram inibição do crescimento de *Streptococcus salivarius* e *S. mutans* (Figueiredo, 2010). Recentemente, foi relatada a composição química, em relação à atividade antiedematogênica e antioxidante do óleo essencial a partir das folhas de *T. silvatica*, em particular, sendo caracterizada pelo CG-MS, um elevado número de

sesquiterpenos, que exibiu efeitos antioxidante e in vivo anti-inflamatório (Formagio et al., 2012).

Embora a literatura mostre estudos sobre o isolamento de limonoides e efeito inseticida de diferentes espécies de *Trichilia*, não há investigação do efeito de *T. silvatica* em *S. frugiperda*.

O principal objetivo do estudo foi avaliar o teor de fenóis totais e flavonoides e o efeito do extrato metanólico das folhas, cascas do caule e flores de *T. silvatica* sobre o desenvolvimento e sobrevivência de *S. frugiperda*. O extrato ativo também foi investigado e a composição química foi descrita com a utilização de métodos cromatográficos. Os compostos assim isolados foram caracterizados pelos dados espectrais de RMN e comparados com os descritos na literatura.

Material e métodos

O trabalho foi desenvolvido no Laboratório de Entomologia, da Faculdade de Ciências Biológicas e Ambientais (FCBA) e Laboratório de Plantas Medicinais da Faculdade de Ciências Agrárias (FCA), da Universidade Federal da Grande Dourados (UFGD).

Material vegetal. As folhas (Fig. 3), casca do caule e flores de *T. silvatica* foram coletadas em maio de 2009, em Dourados, Mato Grosso do Sul, Brasil. A cidade de Dourados situada a 22°14'16"S e 54° 48'02"W, em altitude média de 452 m. A planta em estudo foi identificada pela Dra. Zefa Valdevina Pereira e a exsiccata de *T. silvatica* (DDMS 4662) encontra-se depositada no Herbário da Faculdade de Ciências Biológicas e Ambientais da Universidade Federal da Grande Dourados (UFGD), Dourados, MS.

Preparação de extratos brutos, frações e isolamento dos constituintes. Os materiais vegetais secos (folhas, cascas do caule e flores) foram extraídos sucessivamente, por maceração, com metanol. O extrato foi filtrado e concentrado sob pressão em um rotaevaporador e liofilizado para obtenção do extrato metanólico seco das folhas de *T. silvatica* (FTS), casca do caule de *T. silvatica* (CTS) e flores de *T. silvatica* (FLTS). O extrato mais ativo no desenvolvimento e sobrevivência de *S. frugiperda* foi dissolvido em MeOH-H₂O 1:1 e particionado com n-hexano,

clorofórmio e acetato de etila. O solvente foi evaporado resultando nas frações de hexano (5,5 g), clorofórmio (5,4 g), acetato de etila (6,2 g) e hidrometanólica (7,5 g). A fração de hexano (2,58 g) foi purificada em coluna cromatográfica de sílica gel, eluída com uma mistura de n-hexano e acetato de etila, de polaridade crescente, resultando no isolamento do α -tocoferol (6,2 mg). A fração de clorofórmio (3,8 g) foi purificada em coluna cromatográfica de sílica gel, eluída com uma mistura de n-hexano, acetato de etila e metanol, em polaridade crescente, resultando no sitosterol 3-O-glicopiranosídeo (145,0 mg) e mustakone (14,5 mg). A fração hidrometanólica (3,4 g) foi purificada com Sephadex LH-20 (25 g), a qual foi eluída com H₂O, H₂O-MeOH (1:3, 1:1) e MeOH, originando N-metilprolina (17,0 mg).

Determinação do teor de fenóis totais. O conteúdo fenólico total nas amostras (FTS), (CTS) e (FLTS), foi determinado utilizando o método de Folin-Ciocalteu (Meda *et al* 2005). Especificamente, 100 μ L da amostra em metanol (1 g / L) foram misturadas com 1,0 mL de água destilada e 0,5 mL (v / v 1:10) de reagente de Folin-Ciocalteu. Após 3 min, foram adicionados 1,5 mL de uma solução saturada de Na₂CO₃ (2%). Após 30 min, a absorbância foi medida a 765 nm utilizando espectrofotômetro. A quantificação foi realizada utilizando-se curva padrão de ácido gálico preparado em 80% de metanol, e os resultados foram expressos em mg de equivalentes de ácido gálico, por grama de extrato. A equação para a curva de ácido gálico foi $y^{\wedge} = 0,1073x + 6.2733$, com coeficiente de correlação $r = 0.9912$. A solução de metanol foi utilizada como branco. Todos os ensaios foram realizados em triplicata.

Determinação dos flavonoides. Para determinar o nível de flavonoides, 500 μ L das amostras (FTS, CTS e FLTS) foram misturadas com 1,5 mL de etanol a 95%, 0,1 mL de cloreto de alumínio a 10% (AlCl₃.6H₂O), 0,1 mL de acetato de sódio (NaC₂H₃O₂.3H₂O) (1 M), e 2,8 mL de água destilada, e mantidas à temperatura ambiente durante 40 min. A densidade óptica foi medida a 415 nm utilizando um espectrofotômetro. O mesmo procedimento foi utilizado para a análise do branco (Lin e Tang 2007). Para calcular a concentração de flavonoides, preparamos uma curva de calibração (2,5, 5,0, 10,0, 20,0, 25,0, 50,0, 100,0, e 125,0 μ g), utilizando como padrão a quercetina. Os resultados foram expressos em mg de equivalentes de quercetina por

grama de extrato. A equação da curva de quercetina foi $\hat{y} = 0.04372x + 11.8202$, com coeficiente de correlação $r = 0,9989$. Todos os ensaios foram realizados em triplicata.

Insetos. Lagartas de *S. frugiperda* foram obtidas da criação mantida em dieta artificial conforme metodologia proposta por Parra (2001), no Laboratório de Entomologia da Faculdade de Ciências Biológicas e Ambientais (FCBA), da UFGD.

Efeito sobre o desenvolvimento de S. frugiperda. Foram preparadas soluções aquosas a 1%, as quais foram utilizadas nos ensaios, segundo método de Roel e Vendramim (1999). Acrescentaram-se 9,4µl/100 mL de água destilada de Tween 80% para melhor solubilização. Folhas de milho híbrido XB 6012 (28 cm² aproximadamente), com 50 a 60 dias de idade, foram imersas na solução do extrato por aproximadamente dois segundos, sendo a seguir mantidas em condição ambiente para evaporação do excesso de líquido, da mesma forma como utilizado por Bogorni e Vendramim (2003). As folhas de milho tratadas com extrato e as da testemunha (tratadas com água destilada) foram colocadas em placas de Petri (90 x 15 mm), onde foi acondicionada uma lagarta de 2º ínstar de *S. frugiperda* por placa. Optou-se por lagartas de 2º ínstar devido à maior sensibilidade de lagartas de 1º ínstar a outros fatores que poderiam levar à mortalidade do inseto. As folhas foram substituídas diariamente por novas folhas tratadas com a solução aquosa a 1%, da forma como realizado por Roel e Vendramim (1999). Foi avaliada a viabilidade larval (porcentagem de lagartas que atingiram a fase de pupa), duração larval (duração em dias da fase larval), viabilidade pupal (porcentagem de pupas que atingiram a fase adulta), duração pupal (duração em dias da fase de pupa), biomassa das pupas (mg). O delineamento experimental foi inteiramente casualizado, com quatro tratamentos, envolvendo três partes vegetais e testemunha, com cinco repetições, sendo cada uma composta por dez lagartas, totalizando cinquenta lagartas por tratamento.

Efeito sobre a fase reprodutiva: Adultos virgens e de mesma idade provenientes de lagartas previamente intoxicadas durante a fase larval foram utilizados para avaliação dos seguintes parâmetros: pré-oviposição (duração em dias da emergência da fêmea até o primeiro dia de sua oviposição), oviposição (duração em dias do primeiro dia de oviposição até o último dia de

oviposição da fêmea), pós-oviposição (duração em dias do último dia de oviposição até o dia da morte da fêmea), total de ovos/fêmea (quantidade de ovos ovipositados durante o período de oviposição da fêmea), viabilidade dos ovos (porcentagem de lagartas eclodidas), período de incubação dos ovos (período em dias desde a postura dos ovos até a eclosão das lagartas) e longevidade dos adultos (duração em dias da emergência até a morte dos machos e fêmeas). O delineamento experimental foi inteiramente casualizado, com quatro tratamentos, envolvendo três partes vegetais e testemunha, com cinco repetições por tratamento, sendo cada casal considerado uma repetição.

Análise dos dados. O delineamento experimental adotado nos testes foi inteiramente casualizado sendo os resultados submetidos à análise de variância e quando significativo a 5% de probabilidade, as médias foram comparadas pelo Teste de Tukey, através do programa SISVAR (Ferreira, 2011).

Resultados

Extratos brutos, conteúdo de fenóis totais e flavonoides

O rendimento dos extratos metanólicos obtidos por maceração das folhas, cascas do caule e flores de *T. silvatica* foram de 27,60%, 44,34% e 15,33% respectivamente. A Figura 1 mostra fenóis totais e flavonoides nos extratos metanólicos de *T. silvatica*. Os extratos das folhas e cascas do caule, na análise, apresentaram o maior teor de fenóis totais com valores de 233,37 e 177,62 mg ácido gálico / g de extrato, respectivamente (Fig. 1). Por comparação, os extratos também apresentaram teores mais elevados de flavonoides (folhas, 53,17 mg de quercetina / g do extrato; casca do caule, 41,13 mg de quercetina / g do extrato).

Isolamento dos constituintes do extrato ativo

O estudo químico da fração de hexano resultou no isolamento do α -tocoferol, fração de clorofórmio em sitosterol 3-O-glicopiranosídeo e mustakone e a fração hidrometanólica em N-metilprolina.

Os compostos foram identificados por comparação dos seus dados de RMN com os relatados na literatura (Alam et al., 1996; Ayres et al., 2009; Daniewski et al., 1996; Nyasse et al., 1988).

α -Tocoferol: ^1H NMR (300 MHz, CDCl_3): δ 2.62 (t, $J=6.7$ Hz, 2H), 2.20 (s, 3H), 2.15 (s, 6H); ^{13}C NMR (75.5 MHz): δ 146.5, 143.5, 122.9, 121.6, 118.4, 117.4, 74.8, 39.8, 39.4, 37.5, 32.8, 31.5, 28.0, 24.8, 24.4, 23.9, 22.7, 21.5, 20.6, 19.7, 12.5, 11.8, 11.3.

sitosterol 3-*O*-glicopiranosídeo: ^1H NMR (300 MHz, CDCl_3): δ 5.37 (d, $J=5.1$ Hz, 1H); 4.41 (d, $J=7.5$ Hz, 1H), 2.41 (dd, $J=12.3$ e 4.1Hz), 1.02 (s, 3H), 0.69 (s, 3H). ^{13}C NMR (75.5 MHz): δ 140.1, 122.0, 100.9, 78.9, 77.9, 77.1, 75.6, 69.8, 61.5, 56.5, 55.8, 50.0, 45.6, 42.1, 39.5, 38.4, 37.0, 36.5, 35.9, 33.7, 31.6, 31.4, 29.3, 28.9, 28.0, 25.8, 24.0, 22.9, 20.9, 19.5, 19.0, 18.7, 18.5, 11.6, 11.4.

mustakone: ^1H NMR (300 MHz, CDCl_3): δ 2.63 (dd, $J=6.5$ and 1.5, 1H), 5.76 (m, $J=1.5$, 1H), 1.94 (d, $J=6.5$ e 1.5, 1H), 2.60 (s, 1H), 1.64 (m, 1H), 1.50 (m, 1H), 1.73 (m, 2H), 1.85 (m, 1H), 1.73 (m, 1H), 1.54 (dd, $J=6.5$ and 6.5, 1H), 0.86 (d, $J=6.5$, 3H), 0.85 (d, $J=6.5$, 3H), 2.00 (d, $J=1.5$, 3H), 0.97 (s, 3H). ^{13}C NMR (75.5 MHz): δ 56.9, 203.4, 120.8, 171.4, 55.8, 54.7, 45.6, 22.8, 35.9, 57.8, 32.4, 19.6, 20.6, 20.5, 24.3.

N-metilprolina: ^1H NMR (300 MHz, D_2O): δ 2.93, s, CH_3N^+ ; 3.91 (dd, $J= 11.5$ and 7.5 Hz, 1H), 2.55 (m, 1H), 1.94–2.24 (m, 3H), 3.74 (m, 1H), 3.16 (m, 1H). ^{13}C NMR (75.5 MHz): δ 43.9, CH_3N^+ ; 73.6, 25.9, 31.8, 58.8, 177.5.

No entanto, o isolamento da N-metilprolina é relatado pela primeira vez em *T. silvatica*.

Desenvolvimento e fase reprodutiva de *S. frugiperda*

A viabilidade larval de *S. frugiperda* foi afetada em todos os tratamentos (FTS 24.00 ± 6.78 , CTS 32.00 ± 4.89 e FLTS $54.00 \pm 10.77\%$) quando comparados à testemunha ($94.50 \pm 0.93\%$). O FTS também prolongou a duração da fase larval (Tabela 1).

Na duração da fase pupal e viabilidade pupal não houve diferença significativa entre os tratamentos quando comparados à testemunha (Tabela 1).

Lagartas de *S. frugiperda* alimentadas com folhas de milho imersas na solução do FTS apresentou biomassa inferior de pupas (104.00 ± 6.95 mg) em relação à testemunha

(198.80 ± 2.67 mg). Nos demais tratamentos não houve diferença estatística em relação à biomassa de pupas comparada à testemunha (Tabela 1).

Os extratos oriundos das folhas, caules e flores de *T. silvatica* também afetaram negativamente caracteres biológicos da fase adulta de *S. frugiperda*. O período de oviposição foi reduzido (FTS 3.50 ± 1.50 ; CTS 1.50 ± 0.76 ; FLTS 1.37 ± 0.55 dias), quando comparados à testemunha (6.80 ± 0.40 dias).

Os períodos de pré-oviposição e pós-oviposição não foram afetados pelos extratos (Tabela 2).

As fêmeas de *S. frugiperda* ovipositaram menor número de ovos nos tratamentos FTS e CTS (Tabela 2). Esses ovos tiveram sua viabilidade reduzida em relação à testemunha (Tabela 2).

A longevidade das fêmeas e machos e o período de incubação dos ovos foram similares em todos os tratamentos (Tabela 2). Na idade adulta, deformações foram observadas nas mariposas, especialmente em suas asas (Fig. 2).

Discussão

Efeito de *T. silvatica* no desenvolvimento e na fase reprodutiva de *S. frugiperda*

Os extratos dos diferentes órgãos vegetais de *T. silvatica* reduziram a viabilidade larval de *S. frugiperda*. Tais resultados vêm a confirmar a atividade inseticida do gênero *Trichilia* já referida para *S. frugiperda* e outros insetos (Conceschi et al., 2011; Nebo et al., 2010; Cunha et al., 2006; 2008; Bogorni & Vendramim, 2005; Bogorni & Vendramim, 2003; Roel et al., 2000b; Wheeler & Isman, 2000; Thomazini et al., 2000; Mikolajczak & Reed, 1987). Existem relatos sobre atividades biológicas de substâncias e/ou extratos obtidos de plantas desse gênero, tais como propriedades “antifeedant” e inseticida, comparáveis às da azadiractina (Mikolajczak & Reed, 1987, Bogorni & Vendramim, 2005, Cunha et al., 2006).

O FTS afetou não apenas a sobrevivência de *S. frugiperda*, mas também outros caracteres biológicos como a duração da fase larval que foi prolongada ($20,34 \pm 0.49$ dias) em relação ao valor da testemunha ($16,57 \pm 0.13$ dias). Isso pode estar associada à presença de compostos que interferem na metamorfose, não apenas causando a mortalidade como dificultando o desenvolvimento das lagartas sobreviventes (Bogorni & Vendramim, 2005).

Folhas de *T. pallens*, *T. casaretti* e *T. pallida* e ramos de *T. pallida* também causaram significativo alongamento na fase larval de *S. frugiperda* (Bogorni & Vendramim, 2005). O prolongamento da fase larval pode estar associada com o efeito anti-alimentar relatado no gênero *Trichillia* (Mikolajczak e Reed, 1987), e em compostos da família Meliaceae (Mossini e Kemmelmeier, 2005). “Antifeedants” podem ser descritos como substâncias alomônias que inibem a alimentação e não matam os insetos pragas diretamente, mas limitam o seu potencial de desenvolvimento (Gokulakrishnan et al., 2012).

Torrecillas & Vendramim (2001) também constataram que os ramos de *T. pallida* a 0,1% afetaram não apenas a sobrevivência, mas também a duração da fase larval. Este fato é atribuído à presença de inibidores de crescimento ou substâncias tóxicas no extrato e menciona que o alongamento da fase larval é importante em campo, uma vez que isso pode aumentar o tempo de exposição do inseto a fatores de mortalidade naturais (Torres et al 2001; Alves et al 2012). McMillian et al. (1969) já haviam constatado a inibição do crescimento de *S. frugiperda* devido à utilização de extratos vegetais relatando o prolongamento da fase larval em dieta artificial contendo extrato clorofórmico de folhas de *Melia azedarach*.

A duração e viabilidade pupal não foram afetadas pelos extratos (FTS, CTS e FLTS). Outros autores atribuem a menor toxicidade de agentes químicos para a fase de pupa à menor atividade do inseto em tal estágio (Jbilou et al., 2006). Provavelmente, o efeito dos extratos vegetais é mais intenso na fase larval devido ao fato de que é nessa fase que o inseto ingere as substâncias químicas presentes no alimento (Rodríguez; Vendramim, 1996). Maroneze & Gallegos (2009) também não constataram efeito negativo de *Melia azedarach* sobre a duração e viabilidade da fase pupal de *S. frugiperda*. Os resultados estão de acordo também com os obtidos por Rodríguez & Vendramim (1996, 1997) e Bogorni & Vendramim (2005) que, trabalhando com espécies de *Trichillia*, também não constataram efeito negativo dos extratos sobre a duração da fase pupal de *S. frugiperda*.

A biomassa das pupas foi reduzida (104.00 ± 6.95 mg) no tratamento FTS em relação ao controle (198.80 ± 2.67 mg). A biomassa das pupas está diretamente relacionada ao desempenho do inseto na fase larval, uma vez que à medida que o consumo foliar pelas lagartas aumenta, as pupas também aumentam de biomassa (Lima et al., 2006), porém, em alguns extratos existem compostos inibidores da alimentação que limita a ingestão de alimento

durante a fase larval e consequentemente reduz a biomassa das pupas (Huang *et al.*, 1996; Carpinella *et al.*, 2002).

Os extratos vegetais de *T. silvatica* interferiram também nos caracteres biológicos da fase adulta das fêmeas de *S. frugiperda*. Nos casais avaliados, o período de oviposição foi reduzido devido à ação dos extratos (FTS, CTS e FLTS). Provavelmente, a espécie vegetal tem substâncias que são capazes de interferir na reprodução dos insetos. Resultado semelhante foi descrito para o extrato de *M. azedarach*, que reduziu o período de oviposição e a fertilidade de *Spodoptera littoralis* (Schmidt *et al.*, 1997). *Azadirachta indica*, considerada a espécie vegetal mais promissora no controle de pragas, tem substâncias que são capazes de interferir na reprodução dos insetos, seja por redução da fecundidade ou esterilização total (Schmutterer, 1990).

O número de ovos por fêmea também foi reduzido pelo FTS e CTS. Segundo Costa, Silva e Fiuza (2004), a quantidade e qualidade de nutrientes obtidos durante a alimentação larval podem influenciar o número de ovários por ovário e, por extensão, reduzir o potencial de produção de ovos, ou seja, larvas que consomem dietas ricas em proteínas produzem pupas mais pesadas e adultos que produzem mais ovos que os insetos alimentados com dietas pobres. O resultado do FTS está de acordo com esta afirmação, pois as lagartas alimentadas com as folhas de milho tratadas se alimentaram menos em relação ao controle, originando pupas menores e consequentemente adultos que ovipositaram menor número de ovos. A redução do número de ovos e a inibição da oviposição são importantes efeitos de extratos vegetais sobre a reprodução dos insetos (Costa *et al.*, 2004).

A redução na viabilidade dos ovos pelo FTS e CTS demonstra que os extratos podem ter ação transovariana (Pratissoli *et al.* 2004). A campo, a redução da viabilidade de ovos significa redução nos danos à lavoura de milho (Maroneze & Gallegos, 2009).

Na fase adulta, também foram verificadas deformações nas mariposas, principalmente em suas asas. Bogorni & Vendramim (2005) constataram que extratos aquosos de ramos e folhas de *Trichilia* aplicados às folhas de milho oferecidas às lagartas afetam não apenas as fases de larva e pupa, mas também a formação dos adultos. O principal defeito constatado por Bogorni & Vendramim (2005) nos adultos de *S. frugiperda* foi a má formação de

asas e antenas, e a maior ocorrência de adultos defeituosos (24,5%) foi observada no tratamento com folhas de *T. pallida*.

Considerando os parâmetros avaliados nas diversas fases de desenvolvimento do inseto (Tabelas 1 e 2), todos os extratos (FTS, CTS e FLTS) afetaram tanto os parâmetros da fase juvenil como adulta de *S. frugiperda*. Com base nos resultados obtidos conclui-se que o extrato das folhas de *T. silvatica* é promissor para uso no controle de *S. frugiperda*. O efeito dos extratos varia de acordo com a parte da planta utilizada na sua preparação (Alves et al., 2012). Este resultado está de acordo com a variação metabólica descrita entre as partes das plantas (Françoís et al., 2009). Gobbo-neto e Lopes (2007) relataram que as partes da planta não só podem influenciar a quantidade total dos metabolitos produzidos, mas também as proporções relativas dos componentes da mistura.

Constituintes de T. silvatica

A composição química do extrato mais ativo de *S. frugiperda* foi explorada a fim de elucidar os principais metabólitos secundários presentes no extrato de *T. silvatica*, e correlacionar com o efeito observado a partir de *T. silvatica*. Futuros estudos para relatar o efeito dos compostos isolados, sitosterol 3-O-glicopiranosídeo, tocoferol, mustakone e N-metilprolina, no desenvolvimento e fase reprodutiva da *S. frugiperda* estão em processo. Na literatura não há relatos dos compostos isolados, sitosterol 3-O-glicopiranosídeo, tocoferol, mustakone e N-metilprolina, com atividade inseticida.

Os flavonoides e compostos fenólicos em plantas exercem a proteção contra os raios ultravioletas, e proteção contra insetos, vírus e bactérias (Zuanazzi e Montanha, 2004).

Nos insetos, os flavonoides interferem na reprodução, alimentação e estimulam a oviposição ou agem como inibidores de alimentação (Bernays et al., 1991; Harborne e Grayer, 1994; Matsuda, 1978; Morimoto et al., 2000; Musayimana et al., 2001; Reyes-Chilpa et al., 1995; Simmonds, 2001). O conteúdo de flavonoides e compostos fenólicos relatados nas folhas de *T. silvatica* podem ter promovido a inibição do crescimento de insetos. Vários estudos têm destacado a natureza de flavonoides como inibidores e estimuladores de alimentação em insetos pragas.

O estudo demonstra o efeito de *T. silvatica* na inibição do crescimento de *S. frugiperda*, e a presença de metabólitos no extrato de folhas, até o momento responsáveis por essa atividade. Com base nos resultados a inibição de crescimento dos insetos causados pelo extrato de folhas pode ser atribuída, principalmente, aos flavonoides e compostos fenólicos. No entanto, os estudos sobre os compostos isolados e de frações polares (acetato de etila e hidrometanólica) estão em andamento para verificar o desenvolvimento de *S. frugiperda*.

Agradecimentos - À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), pela bolsa concedida, e à empresa Semeali, pela concessão das sementes de milho.

Referências

- Alam MS, Chopra N, Ali M, Niwa M (1996). Oleanen and stigmasterol derivatives from *Ambrama augusta*. *Phytochem.* 41: 1197-1200.
- Alves DS, Carvalho GA, Oliveira DF, Sâmia RR, Villas-Boas MA, Carvalho GA, Côrrea AD (2012). Toxicity of copaiba extracts to armyworm (*Spodoptera frugiperda*). *Afr. J. Biotechnol.* 11(24): 6578-6591.
- Ayres MCC, Chaves MH, Rinaldo D, Vilegas W, Júnior GMV (2009). Constituintes químicos e atividade antioxidante de extratos das folhas de *Terminalia fagifolia* Mart. et Zucc. *Quim. Nova* 32(6): 1509-1512.
- Bogorni PC, Vendramim JD (2003). Bioatividade de extratos aquosos de *Trichilia* spp. sobre *S. frugiperda* (J. E. Smith) (Lepidoptera: Noctuidae) em milho. *Neotrop. Entomol.* 32(4): 665-669.
- Bogorni PC, Vendramim JD (2005). Efeito subletal de extratos aquosos de *Trichilia* spp. sobre o desenvolvimento de *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith) (Lepidoptera: Noctuidae) em milho. *Neotrop. Entomol.* 34(2): 311-317.

Bernays EA, Howard JJ, Champagne D, Estes BJ (1991). Rutin: a phagostimulant for the grasshopper *Schistocerca americana*. Entomol. Exp. Appl. 60(1): 19-28.

Carpinella MC, Defago M, Valladares G, Palacios S (2003). Antifeedant and insecticidal properties of a limonoid from *Melia azedarach* (Meliaceae) with potential use for pest management. J. Agric. Food Chem. 51(2): 369-374.

Carpinella MC, Ferrayoli C, Valladares G, Defago M, Palacios S (2002). Potent limonoid insect antifeedant from *Melia azedarach*. Biosci. Biotechnol. Biochem. 66(8): 1731-1736.

Champagne DE, Isman MB, Towers GHN (1989). Insecticidal activity of phytochemicals and extracts of the Meliaceae. In: Arnason JT, Philogene BJR, Morand P (eds) Insecticides of Plant Origin, ACS Symp. Ser., Ottawa, pp 95-109.

Champagne DE, Koul O, Isman MB, Scudder GGE, Towers GHN (1992). Biological activity of limonoids from the Rutales. Phytochem. 31(2): 377-394.

Conceschi MR, Ansante TF, Mazzonetto F, Vendramim JD, Sossai VLM, Pizetta LC, Corbani RZ (2011). Efeito de Extratos Aquosos de *Azadirachta indica* e de *Trichilia pallida* sobre Lagartas de *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith) (Lepidoptera: Noctuidae) em Milho. BioAssay 6(1): 1-6.

Costa ELN, Silva RFP, Fiuza ML (2004). Efeitos, aplicações e limitações de extratos de plantas inseticidas. Acta Biol. Leopold. 26(2): 173-185.

Cunha US, Vendramim JD, Rocha WC, Vieira PC (2008). Bioatividade de Moléculas Isoladas de *Trichilia pallida* Swartz (Meliaceae) sobre *Tuta absoluta* (Meyrick) (Lepidoptera: Gelechiidae). Neotrop. Entomol. 37(6): 709-715.

Cunha US, Vendramim JD, Rocha WC, Vieira PC (2006). Frações de *Trichilia pallens* com atividade inseticida sobre *Tuta absoluta*. Rev. Pesq. Agropec. Bras. 41(11): 1579-1585.

Daniewski WM, Anczewski W, Gumułka M, Danikiewicz W, Jacobsson U, Norin T (1996). Sesquiterpenoid constituents of *Entandrophragma cylindricum*. Phytochem. 43(4): 811-814.

Figueiredo ER (2010). Estudo Fitoquímico de *Trichilia casarettii* e *Trichilia silvatica*. Thesis, State University of North Fluminense, Campos dos Goytacazes.

Formagio ASN, Santos LAC, Cardoso CAL, Silva MA, Zárate NAH, Vieira MC, Caramão EB, Kassuya CAL (2012). Free Radical Scavenging and Anti-Edematogenic Activities of Essential Oil Obtained from *Trichilia silvatica* DC. (Meliaceae) Leaves. Acta Farm. Bonaer. 31(3): 469-473.

François T, Michel JDP, Lambert SM, Ndifor F, Vyry WNA, Henri AZP, Chantal M (2009). Comparative essential oils composition and insecticidal effect of different tissues of *Piper capense* L.; *Piper guineense* Schum. et Thonn.; *Piper nigrum* L. and *Piper umbellatum* L. grown in Cameroon. Afr. J. Biotechnol. 8(3): 424-431.

Gobbo-Neto L, Lopes NP (2007). Plantas medicinais: fatores de influência no conteúdo de metabólitos secundários. Quim. Nova. 30(2): 374-381.

Harborne JB, Grayer RJ (1994). Flavonoids and insects. In: Harborne JB (ed) The Flavonoids, Advances in Research Since 1986. Chapman & Hall, London, pp 589-618.

Huang RC, Tadera K, Yagi F, Minami Y, Okamura H, Iwagawa T, Nakatani M (1996). Limonoids from *Melia azedarach*. Phytochem. 43(3): 581-583.

Jbilou R, Ennabili A, Sayah F (2006). Insecticidal activity of four medicinal plant extracts against *Tribolium castaneum* (Herbst) (Coleoptera: Tenebrionidae). Afr. J. Biotechnol. 5(10): 936-940.

Klocke JA, Balandrin MF, Barnby MA, Yamasaki RB (1989). Limonoids, phenolics, and furanocoumarins as insect antifeedants, repellents and growth inhibitory compounds. In: Arnason JT, Philogene BJR, Morand P (eds) *Insecticides of Plant Origin*, ACS Symp. Ser., pp 136-149.

Kubo I, Klocke JA (1982). An insect growth inhibitor from *Trichilia roka* (Meliaceae). *Experientia* 38(6): 639-640.

Gokulakrishnan J, Krishnappa K, Elumalai K (2012). Certain plant essential oils against antifeedant activity of *Spodoptera litura* (Fab.), *Helicoverpa armigera* (Hub.) and *Achaea janata* (Linn.) (Lepidoptera: Noctuidae). *Int. J. Curr. Life Sci.* 2(1): 5-11.

Lima FWN, Ohashi OS, Souza FRS, Gomes FS (2006). Avaliação de acessos de milho para resistência a *Spodoptera frugiperda* (Smith) (Lepidoptera: Noctuidae) em laboratório. *Acta Amazon.* 36(2): 147-150.

Lin JY, Tang CY (2007). Determination of total phenolic and flavonoid contents in selected fruits and vegetables, as well as their stimulatory effects on mouse splenocyte proliferation. *Food Chem.* 101(1): 140-147.

Maroneze DM, Gallegos DMN (2009). Efeito de extrato aquoso de *Melia azedarach* no desenvolvimento das fases imatura e reprodutiva de *Spodoptera frugiperda* (J. E. Smith, 1797) (Lepidoptera: Noctuidae). *Semina Ciênc. Agrar.* 30(3): 537-550.

Matsuda K (1978). Feeding stimulation of flavonoids for various leaf beetles (Chrysomelidae: Coleoptera). *Appl. Entomol. Zool.* 13: 228-230.

McMillian WW, Bowman MC, Burton RL, Starks KJ, Wiseman BR (1969). Extracts of chinaberry leaf as a feeding deterrent and growth retardant for larvae of the corn earworm and fall armyworm. *J. Econ. Entomol.* 62(3): 708-710.

Meda A, Lamien CE, Romito M, Millogo J, Nacoulma OG (2005). Determination of the total phenolic, flavonoid and proline contents in burkina fasan honey, as well as their radical scavenging activity. *Food Chem.* 91(3): 571-577.

Mikolajczak KL, Reed DK (1987). Extractivess of seeds of the Meliaceae: effects on *Spodoptera frugiperda* (J.E.Smith), *Acalyma vittatum* (F.), and *Artemia salina* Leach. *J. Chem. Ecol.* 13(1): 99-111.

Mikolajczak KL, Zilkowski BW, Bartelt RJ (1989). Effect of meliaceous seed extracts on growth and survival of *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith). *J. Chem. Ecol.* 15(1): 121-128.

Morimoto M, Kumeda S, Komai K (2000). Insect antifeedant flavonoids from *Gnaphalium affine* D. Don. *J. Agric. Food Chem.* 48(5): 1888-1891.

Mossini SAG, Kemmelmeier C (2005). A árvore Nim (*Azadirachta indica*. A. Juss.): múltiplos usos. *Acta Farm. Bonaerense*, 24(1): 139-148.

Musabyimana T, Saxena RC, Kairu EW, Ogol CPKO, Khan ZR (2001). Effects of neem seed derivatives on behavioral and physiological responses of the *Cosmopolites sordidus* (Coleoptera: Curculionidae). *J. Econ. Entomol.* 94(2): 449-454.

Nakatani M, James JC, Nakanishi K (1981). Isolation and structures of trichilins, antifeedants against the southern army worm. *J. Am. Chem. Soc.* 103(5): 1228-1230.

Nebo L, Matos AP, Vieira PC, Fernandes JB, Silva MFGF (2010). Atividade inseticida dos frutos de *Trichilia clausenii* (meliaceae) sobre *Spodoptera frugiperda*. *Quim. Nova* 33(9): 1849-1852.

Nyasse B, Ghogomu R, Sondengam Tih BL, Martin MT, Bodo B (1988). Mandassidione and other sesquiterpenic ketones from *Cyperus articulatus*. *Phytochem.* 27(10): 3319-3321.

Parra JRP (2001). Técnicas de criação de insetos para programas de controle biológico. Fealq, Piracicaba.

Pratissoli D, Thuler RT, Pereira FF, Reis EF, Ferreira AT (2004). Ação transovariana de lufenuron (50 g/l) sobre adultos de *Spodoptera frugiperda* (J. E. Smith) (Lepidoptera: Noctuidae) e seu efeito sobre o parasitóide de ovos *Trichogramma pretiosum* Riley (Hymenoptera: Trichogrammatidae). Ciênc. agrotec. 28(1): 9-14.

Pennington TD, Styles BT, Taylor DAH (1981). Meliaceae. Flora Neotropica, New York, 28: 1-470.

Reyes-Chilpa R, Viveros-Rodriguez N, Gomez-Garibay F, Alavez-Solano D (1995). Antitermitic activity of *Lonchocarpus castilloi* flavonoids and heartwood extracts. J. Chem. Ecol. 21(4): 455-463.

Rodríguez HC, Vendramim JD (1996). Toxicidad de extractos acuosos de Meliaceae en *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae). Man. Integ. Plagas 42: 14-22

Rodríguez HC, Vendramim JD (1997). Avaliação da bioatividade de extratos aquosos de Meliaceae sobre *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith). Rev. Agric. 72: 305-318.

Roel AR, Vendramin JD (1999). Desenvolvimento de *S. frugiperda* (J. E. Smith) em genótipos de milho tratados com extrato acetato de etila de *Trichilia pallida* (Swartz). Sci. Agric. 56(3): 581-586.

Roel AR, Vendramim JD, Frighetto RTS, Frighetto N (2000) a. Atividade tóxica de extratos orgânicos de *Trichilia pallida* Swartz (Meliaceae) sobre *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith). An. Soc. Entomol. Bras. 29(4): 799-808.

Roel AR, Vendramim JD, Frighetto RTS, Frighetto N (2000) b. Efeito do extrato acetato de etila de *Trichilia pallida* Swartz (Meliaceae) no desenvolvimento e sobrevivência da lagarta-do-cartucho. *Bragantia* 59(1): 53-58.

Romin TL, Weber BK, Murray BK, North JA, Wood SG, Hughes BG, Cates RG (1992). Antiviral activity of panamanian plant extracts. *Phytother. Res.* 6(1): 38-43.

Schmidt GH, Ahmed AAI, Breuer M (1997). Effect of *Melia azedarach* extract on larval development and reproduction parameters of *Spodoptera littoralis* (Boisd.) and *Agrotis ipsilon* (Hufn.) (Lep. Noctuidae). *Anz. Schädlingskd. Pfl. Umwelt.* 70(1): 4-12.

Schumutterer H (1990). Properties and potencial of natural pesticides from the neem tree, *Azadirachta indica*. *Annu. Rev. Entomol.* 35: 271-297.

Simmonds MSJ (2001). Importance of flavonoids in insect–plant interactions: Feeding and oviposition. *Phytochem.* 56(3): 245-252.

Simmonds^{*†} MSJ, Stevenson^{‡†} PC, Porter[†] EA, Veitch[†] NC (2001). Insect Antifeedant Activity of Three New Tetranortriterpenoids from *Trichilia pallida* J. *Nat. Prod.* 64(8): 1117-1120.

Soares AO (2013). Estudo químico das folhas de *Trichilia silvatica* (meliaceae) e das sementes de *Trichilia stellato-tomentosa* (Meliaceae). Thesis, Federal University of Mato Grosso do Sul.

Thomazini APBW, Vendramim JD, Lopes MTR (2000). Extratos aquosos de *Trichilia pallida* e a traça-do-tomateiro. *Sci. agric.* 57(1): 13-17.

Torrecillas SM, Vendramim JD (2001). Extrato aquoso de ramos de *Trichilia pallida* e o desenvolvimento de *Spodoptera frugiperda* em genótipos de milho. *Sci. Agric.* 58(1): 27-31.

Torres AL, Barros R, Oliveira JV (2001). Efeito de extratos aquosos de plantas no desenvolvimento de *Plutella xylostella* (L.) (Lepidoptera: Plutellidae). Neotrop. Entomol. 30(1): 151-156.

Vaz ZR, Mata LV, Calixto JB (1997). Analgesic Effect of the Herbal Medicine Catuama in Thermal and Chemical Models of Nociception in Mice. Phytother. Res. 11(2): 101-106.

Wheeler DA, Isman MB (2000). Effect of *Trichilia americana* extract on feeding behavior of asian armyworm, *Spodoptera litura*. J. Chem. Ecol. 26(12): 2791-2800.

Xie YS, Isman MB, Gunning P, Mackinnon S, Arnason JT, Taylor DR, Sanchez P, Hasbun C, Towers GHN (1994). Biological activity of extracts of *Trichilia* species and the limonoid hirtin against lepidopteran larvae. Biochem. Syst. Ecol. 22(2): 129-136.

Zuanazzi JAS, Montanha JA (2004). Flavonoides. In: Simões CMO et al. (eds) Farmacognosia: da planta ao medicamento, 5th edn. Ed. da UFSC, Porto Alegre, pp. 577-614.

TABELA 1. MÉDIAS ($\pm$ EP) DE BIOMASSA DAS PUPAS, DURAÇÃO E VIABILIDADE DA FASE LARVAL E PUPAL DE *Spodoptera frugiperda* (LEPIDOPTERA: NOCTUIDAE) ALIMENTADAS COM FOLHAS DE MILHO TRATADAS COM EXTRATOS METANÓLICOS DE PLANTAS MEDICINAIS DA FAMÍLIA MELIACEAE (25 ± 1 °C, UR: $70 \pm 10\%$ E FOTOFASE: 14H).

	Biomassa das Pupas (mg)	Duração Larval (dias)	Viabilidade Larval (%)	Duração Pupal (dias)	Viabilidade Pupal (%)
Controle	198,80 $\pm$ 2,67 a <i>n</i> =47	16,57 $\pm$ 0,13 b <i>n</i> =50	94,50 $\pm$ 0,93 a <i>n</i> =50	10,11 $\pm$ 0,11 ab <i>n</i> =47	93,77 $\pm$ 2,46 a <i>n</i> =47
FTS	104,00 $\pm$ 6,95 b <i>n</i> =12	20,34 $\pm$ 0,49 a <i>n</i> =50	24,00 $\pm$ 6,78 c <i>n</i> =50	10,90 $\pm$ 0,61ab <i>n</i> =12	60,00 $\pm$ 18,70 a <i>n</i> =12
CTS	183,13 $\pm$ 11,90 a <i>n</i> =16	17,04 $\pm$ 0,72 b <i>n</i> =50	32,00 $\pm$ 4,89 bc <i>n</i> =50	9,30 $\pm$ 0,91b <i>n</i> =16	61,99 $\pm$ 3,26 a <i>n</i> =16
FLTS	201,78 $\pm$ 7,31 a <i>n</i> =27	16,74 $\pm$ 1,07 b <i>n</i> =50	54,00 $\pm$ 10,77 b <i>n</i> =50	11,90 $\pm$ 0,63 a <i>n</i> =27	86,06 $\pm$ 11,08 a <i>n</i> =27

Letras distintas na mesma coluna diferem entre si a 5% de probabilidade pelo teste de Tukey. EP = erro padrão. n= número de insetos

Tabela 2. Médias ($\pm$ EP) de pré-oviposição, oviposição, pós-oviposição, quantidade de ovos, período de incubação e viabilidade dos ovos, e longevidade das fêmeas e dos machos de adultos *S. frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae). Temp.: 25 ± 1 °C, UR: $70 \pm 10\%$ e fotofase: 14h.

	Pré – oviposição (dias)	Oviposição (dias)	Pós – oviposição (dias)	Número de ovos (unidade)	Período de incubação dos ovos (dias)	Viabilidade dos ovos (%)	Longevidade das fêmeas (dias)	Longevidade dos machos (dias)
Controle <i>n</i> =5	4,00 $\pm$ 0,54a	6,80 $\pm$ 0,40a	2,10 $\pm$ 0,71a	939,99 $\pm$ 214,75a	3,24 $\pm$ 0,18a	87,79 $\pm$ 2,57a	10,99 $\pm$ 0,59a	9,33 $\pm$ 0,69a
FTS <i>n</i> =4	4,00 $\pm$ 1,00a	3,50 $\pm$ 1,50b	1,50 $\pm$ 0,50a	87,50 $\pm$ 50,51b	3,30 $\pm$ 0,30a	6,25 $\pm$ 6,25b	7,25 $\pm$ 1,03a	6,00 $\pm$ 0,81a
CTS <i>n</i> =3	6,00 $\pm$ 0,00a	1,50 $\pm$ 0,76b	1,33 $\pm$ 0,33a	124,66 $\pm$ 32,63b	3,75 $\pm$ 0,38a	—	8,33 $\pm$ 0,88a	8,00 $\pm$ 1,52a
FLTS <i>n</i> =5	7,00 $\pm$ 1,00a	1,37 $\pm$ 0,55b	2,00 $\pm$ 0,00a	358,80 $\pm$ 110,44ab	4,33 $\pm$ 0,46a	46,59 $\pm$ 22,09ab	9,20 $\pm$ 1,35a	7,00 $\pm$ 0,94a

Letras distintas na mesma coluna diferem entre si a 5% de probabilidade pelo teste de Tukey. EP = erro padrão.

n= número de casais de *S. frugiperda*.

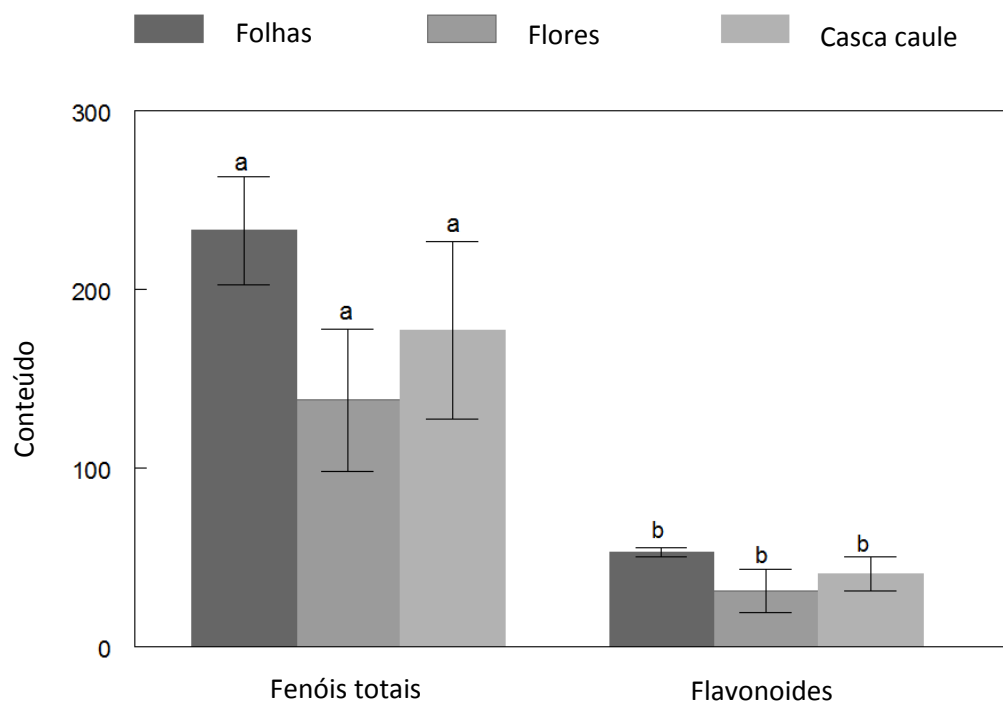


Fig. 1. Conteúdo de fenóis totais e flavonoides de diferentes partes de *T. silvatica**: Fenóis totais foram expressos por mg EAG / g de extrato e conteúdo de flavonoides foram expressos por mg QE / g de extrato. Os dados são apresentados como média $\pm$ DP. As médias seguidas pela mesma letra não diferem entre si, pelo teste de Tukey ($p < 0,05$).

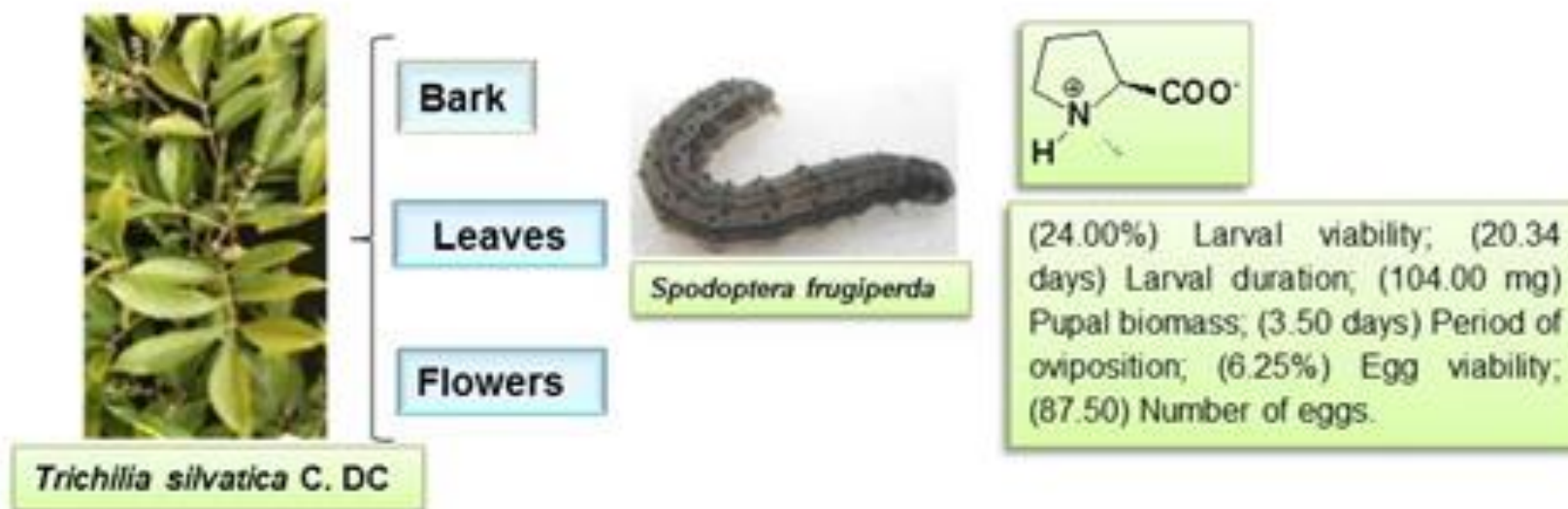


Fig 2. Asas deformadas em adultos de *Spodoptera frugiperda* devido à ação do extrato metanólico de *Trichilia silvatica*.



Fig. 3. Folhas de *Trichilia silvatica* C. DC. (Meliaceae)

Graphical abstract



POTENCIAL INSETICIDA DE SEMENTES DE *Annona dioica*, *Annona cacans* E *Annona crassiflora* SOBRE *Spodoptera frugiperda* (J. E. SMITH) (LEPIDOPTERA: NOCTUIDAE)

RESUMO

Spodoptera frugiperda (J.E. Smith) (Lepidoptera: Noctuidae) é um inseto que tem capacidade de causar prejuízos expressivos na cultura do milho. A utilização de plantas inseticidas é uma alternativa promissora para o controle de insetos-praga. O objetivo do trabalho foi avaliar a atividade inseticida de extratos metanólicos de sementes de *Annona dioica*, *Annona cacans* e *Annona crassiflora* (Annonaceae) sobre o desenvolvimento de *Spodoptera frugiperda*. No bioensaio com *S. frugiperda*, folhas de milho foram tratadas com o extrato metanólico 1%, e em seguida fornecidas às lagartas de 2º instar diariamente e mantidas em câmara climatizada a 25 ± 1 °C, $70 \pm 10\%$ de umidade relativa do ar e 14 horas de fotofase. Folhas de milho foram tratadas com água destilada e oferecidas como testemunha. Foram realizadas cinco repetições, sendo cada uma composta por dez lagartas individualizadas, totalizando cinquenta lagartas para cada tratamento. Os extratos de *A. dioica* e *A. crassiflora* causaram mortalidade de 100% nas lagartas de *S. frugiperda* e duração larval de $1,80 \pm 0,30$ e $1,10 \pm 0,04$ dias, respectivamente. Para o tratamento com o extrato de *A. cacans*, tanto a viabilidade larval como a duração larval foram reduzidas em relação à testemunha. Os extratos metanólicos afetaram negativamente as características biológicas avaliadas em laboratório.

Palavras-chave: *Annona*, controle de pragas, inseticida botânico.

INTRODUÇÃO

O controle de pragas é um desafio que persiste e tem-se agravado ano após ano (Castro, 2006). A lagarta-do-cartucho *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith) (Lepidoptera: Noctuidae) é um inseto polífago, que pode causar prejuízos em grande número de plantas cultivadas, principalmente gramíneas, na América do Norte, América Central e partes da América do Sul (Andrews, 1988). Seu controle tem sido feito com o uso de inseticidas químicos. Esses produtos podem acarretar diversos problemas, tais como resíduos nos alimentos, contaminação ambiental, destruição de inimigos naturais, intoxicação de aplicadores e aparecimento de populações de pragas resistentes aos inseticidas (Roel et al., 2000).

A busca por métodos alternativos ao controle químico inclui a utilização de produtos naturais que são menos agressivos ao ambiente, destacando-se dentre eles os inseticidas botânicos (Roel & Vendramim, 2006). Inseticidas botânicos são compostos resultantes do metabolismo secundário das plantas (Kim et al., 2003), que compõem a própria defesa química contra os insetos herbívoros. Os princípios ativos inseticidas podem derivar de toda a planta ou partes dela, podem ser o próprio material vegetal, normalmente, moído até ser reduzido a pó, ou produtos derivados por extração aquosa ou com solventes orgânicos (Menezes, 2005).

O emprego de substâncias extraídas de plantas silvestres, na qualidade de inseticidas, tem inúmeras vantagens quando comparado ao emprego de sintéticos, uma vez que os inseticidas naturais são obtidos de recursos renováveis e são rapidamente degradáveis, ou seja, não persistem no ambiente. O desenvolvimento da resistência dos insetos a essas substâncias – compostas da associação de vários princípios ativos – é um processo lento (Prates et al., 2003).

Desta forma, estudos relacionados aos métodos de controles alternativos de insetos, especificamente extratos vegetais, têm sido intensificados (Conceschi, et al., 2011). O objetivo deste trabalho foi avaliar a atividade inseticida de extratos metanólicos das sementes de *Annona dioica*, *Annona cacans* e *Annona crassiflora* (Annonaceae) sobre o desenvolvimento de *S. frugiperda*.

MATERIAL E MÉTODOS

O trabalho foi desenvolvido no Laboratório de Entomologia, da Faculdade de Ciências Biológicas e Ambientais (FCBA) e Laboratório de Plantas Medicinais, da Faculdade de Ciências Agrárias (FCA), da Universidade Federal da Grande Dourados (UFGD).

Obtenção dos Insetos. Lagartas de *S. frugiperda* foram obtidas da criação mantida em dieta artificial conforme metodologia proposta por Parra (2001), no Laboratório de Entomologia da Faculdade de Ciências Biológicas e Ambientais (FCBA).

Material Vegetal. As plantas em estudo foram coletadas em formações vegetais do município de Dourados, Mato Grosso do Sul. A cidade de Dourados está situada a 22°14'16"S e 54° 48'02"W, em altitude média de 452 m. As plantas em estudo foram identificadas pela Dra. Zefa Valdevina Pereira e as exsicatas de *Annona crassiflora* (DDMS 4599), *A. dioica* (DDMS 4598) e *A. cacans* (DDMS 4885) encontram-se depositadas no Herbário da Faculdade de Ciências Biológicas e Ambientais, da Universidade Federal da Grande Dourados (UFGD), Dourados, MS.

Obtenção dos extratos. O material vegetal (sementes) de cada espécie foi seco em estufa de ar circulante a 45°C, até peso constante. Após secagem, foram triturados em moinho de facas (MA340/A) e submetidos à extração por maceração com metanol 100% (P.A) por 10 dias. Posteriormente, foram filtradas e concentrados em evaporador rotativo (MA-120) sob pressão reduzida, para obtenção dos extratos metanólicos.

Efeito sobre o desenvolvimento de *S. frugiperda*. Foram preparadas soluções aquosas a 1%, as quais foram utilizadas nos ensaios, segundo método de Roel e Vendramim (1999). Acrescentaram-se 9,4µl/100 mL de água destilada de Tween 80% para melhor solubilização. Folhas de milho híbrido XB 6012 (28 cm² aproximadamente), com 50 a 60 dias de idade, foram imersas na solução do extrato por aproximadamente dois segundos, sendo a seguir mantidas em condição ambiente para evaporação do excesso de líquido, da mesma forma como utilizado por Bogorni e Vendramim (2003). As folhas de milho tratadas com extrato e a da testemunha (tratadas com água destilada)

foram colocadas em placas de Petri (90 x 15 mm), onde foi acondicionada uma lagarta de 2º ínstar de *S. frugiperda* por placa. Optou-se por lagartas de 2º ínstar devido à maior sensibilidade de lagartas de 1º ínstar a outros fatores que poderiam levar a mortalidade do inseto. As folhas foram substituídas diariamente por outras folhas tratadas com a solução aquosa a 1% (Roel e Vendramim, 1999). Foi avaliada a viabilidade larval (porcentagem de lagartas que atingiram a fase de pupa), duração larval (duração em dias da fase larval), viabilidade pupal (porcentagem de pupas que atingiram a fase adulta), duração pupal (duração em dias da fase de pupa), e biomassa das pupas (mg). O delineamento experimental foi inteiramente casualizado, com quatro tratamentos, envolvendo três espécies vegetais e testemunha, com cinco repetições, sendo cada uma composta por dez lagartas, totalizando cinquenta lagartas por tratamento.

Análise estatística

O delineamento experimental adotado nos testes foi inteiramente casualizado sendo os resultados submetidos à análise de variância e quando significativo a 5% de probabilidade, as médias foram comparadas pelo Teste de Tukey, através do programa SISVAR (Ferreira, 2011).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os extratos das sementes de *A. dioica*, *A. cacans* e *A. crassiflora* afetaram 100% a viabilidade da fase larval de *S. frugiperda* (Tabela 1), (Fig. 1). A mortalidade larval proporcionada pelos extratos provavelmente está associada ao teor dos metabólitos secundários como flavonoides, alcaloides, acetogeninas de anonáceas e terpenos presentes em espécies deste gênero. Os alcaloides têm propriedades tóxicas, podendo conferir às plantas proteção contra herbívoros, pragas e patógenos (Lage, 2011). Bioensaios anteriores mostram que os extratos das folhas de *A. cacans* não afetaram a viabilidade larval e pupal de *S. frugiperda*, e os extratos das folhas de *A. dioica* afetam com menor intensidade a viabilidade larval comparando com os extratos das sementes desta planta (Freitas, et al., 2014). Segundo Gobbo-Neto e Lopes (2007), os órgãos vegetais podem influenciar não só a quantidade total de metabólitos produzidos, mas também as proporções relativas dos componentes da mistura. As acetogeninas são substâncias naturais presentes nas cascas, raízes e, principalmente, em sementes de representantes da família Annonaceae (Guarido, 2009). Possivelmente,

devido a isso, a atividade inseticida ter tido maior eficiência com os extratos de sementes de *Annona* sobre lagartas de *S. frugiperda*. Acetogeninas são compostos que têm um alto potencial inseticida (Alali et al., 1999).

Estudos com extratos de diversas espécies de *Annona* demonstraram atividades larvicida, inseticida, moluscicida, entre outros (Saxena et al., 1993). Substâncias muito tóxicas e de rápida ação contra insetos apresentam ação neurotóxica, ou seja, atuam no sistema nervoso central do inseto, interagindo com os canais íons sódio e potássio presentes na membrana do axônio, e assim, interferindo na transmissão sináptica ou axônica normal dos impulsos nervosos levando a morte do inseto em pouco tempo (Bowman, 2006). Sabe-se que a ação de acetogeninas, por contato ou ingestão, altera o equilíbrio de sódio e potássio, que impede a transmissão nervosa normal, causando a paralisia do inseto seguida de morte ("knockdown") (Coats, 1990).

A duração larval em dias foi reduzida em todos os tratamentos (*A. dioica*, *A. cacans* e *A. crassiflora*) com relação à testemunha devido à mortalidade das lagartas em pouco tempo (Tabela 1).

Os extratos metanólicos de sementes de *A. dioica*, *A. cacans* e *A. crassiflora* afetaram negativamente as características biológicas avaliadas de *S. frugiperda* e poderá ser um método alternativo promissor para o controle desse inseto. Estudos serão conduzidos para isolar e identificar os constituintes químicos presentes nas sementes das espécies vegetais responsáveis pela atividade inseticida.

AGRADECIMENTOS

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), pela bolsa concedida e à empresa Semeali, pela concessão das sementes de milho.

Tabela 1. Médias ($\pm$ EP) de peso das pupas, duração e viabilidade da fase larval e pupal de *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae) alimentadas com folhas de milho tratadas com extratos metanólicos de plantas medicinais da família Annonaceae. Temp.: 25 ± 1 °C, UR: $70 \pm 10\%$ e fotofase: 14h.

	Peso das pupas (mg)	Duração larval (dias)	Viabilidade larval (%)	Duração pupal (dias)	Viabilidade pupal (%)
Testemunha	198,80 $\pm$ 2,67 n=47	16,23 $\pm$ 0,17a n= 50	93,99 $\pm$ 1,63 n=50	10,25 $\pm$ 0,11 n=47	94,60 $\pm$ 2,42 n=47
A. dioica	—	1,80 $\pm$ 0,30bc n=50	—	—	—
A. cacans	—	2,94 $\pm$ 0,70b n=50	—	—	—
A. crassiflora	—	1,10 $\pm$ 0,04c n=50	—	—	—

Letras distintas na mesma coluna diferem entre si a 5% de probabilidade pelo teste de Tukey. EP = erro padrão.

— Dados não foram suficientes para a condução das análises, devido à mortalidade dos insetos.

n= número de insetos



Fig. 1. Lagartas de *Spodoptera frugiperda* mortas pelo extrato metanólico das sementes de *Annona crassiflora*.

BIBLIOGRAFIA CITADA

ALALI, F. Q.; LIU, X.; MCLAUGHLIN, J. L. Annonaceous Acetogenins: Recent Progress. **Journal of Natural Products**, v. 62, n.3, p.504-540, 1999.

ANDREWS, K. L. Latin American research on *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae). **Florida Entomologist**, v.71, p.630-650, 1988.

BOGORNÍ, P. C.; VENDRAMIM, J. D. Bioatividade de extratos aquosos de *Trichilia* spp. sobre *Spodoptera frugiperda* (J. E. Smith) (Lepidoptera: Noctuidae) em milho. **Neotropical Entomology**, v.32, p.665-669, 2003.

BOWMAN, D. D. **Georgis Parasitologia Veterinária**. 8th ed. Barueri: Manole, 2006. 422p.

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 Medicinais**, v.8, p.27-32, 2006.

COATS, J. R. Mechanisms of toxic action and structure-activity relationships for organochlorine and synthetic pyrethroid insecticides. **Environmental Health Perspectives**, v. 87, p.255-262, 1990.

CONCESCHI, M. R., ANSANTE, T. F., MAZZONETTO, F., VENDRAMIM, J. D., SOSSAI, V. L. M., PIZETTA, L. C., CORBANI, R. Z. Efeito de extratos aquosos de *Azadirachta indica* e de *Trichilia pallida* sobre lagartas de *Spodoptera frugiperda* (J. E. SMITH) (Lepidoptera: Noctuidae) em milho. **BioAssay**, v.6, p.1-6, 2011.

FERREIRA, D. F. Sisvar: a computer statistical analysis system. **Ciência e Agrotecnologia**, v.35, p.1039-1042, 2011.

FREITAS, A. F.; PEREIRA, F. F.; FORMAGIO, A. S. N.; LUCCHETTA, J. T.; VIEIRA, M. C.; MUSSURY, R. M. Effects of Methanolic Extracts of *Annona* Species on the Development and Reproduction of *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith) (Lepidoptera: Noctuidae). **Neotropical Entomology**, v.43, p.1-7, 2014.

GOBBO-NETO, L. & LOPES, N. P. Plantas medicinais: fatores de influência no conteúdo de metabólitos secundários. **Química Nova**, v.30, p. 374-381, 2007.

GUARIDO, M. M. **Atividade inseticida de extratos de *Annona foetida* Mart. (Annonaceae) sobre imaturos de *Aedes aegypti* (Linnaeus, 1762) (Diptera: Culicidae)**. Dissertação, Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2009.

KIM, S.I. et al. Insecticidal activities of aromatic plant extracts and essential oils against *Sitophilus oryzae* and *Callosobruchus chinensis*. **Journal of Stored Products Research**, v.39, p.293-303, 2003.

LAGE, G. A. **Isolamento, identificação química e bioprospecção de metabólitos secundários nas folhas de *Annona crassiflora* Mart.** Dissertação, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, 2011.

MENEZES, E. L. A. **Inseticidas botânicos: seus princípios ativos, modo de ação e uso agrícola**. Seropédica: Embrapa Agrobiologia, Rio de Janeiro, 2005. 58 p.

PARRA, J. R. P. **Técnicas de criação de insetos para programas de controle biológico**. Piracicaba: FEALQ, 2001. 134p.

PRATES, H. T.; VIANA, P. A.; WAQUIL, J. M. Atividade de extrato aquoso de folha de nim (*Azadirachta indica*) sobre *Spodoptera frugiperda*. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 38, p. 437-439, 2003.

ROEL, A. R.; VENDRAMIN J. D. Desenvolvimento de *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith) em genótipos de milho tratados com extrato acetato de etila de *Trichilia pallida* (Swartz). **Scientia Agricola**, v.56, p.581-586, 1999.

ROEL, A. R.; VENDRAMIM, J. D. Efeito residual do extrato acetato de etila de *Trichilia pallida* Swartz (Meliaceae) para lagartas de diferentes idades de *Spodoptera frugiperda* (J. E. Smith, 1797) (Lepidoptera: Noctuidae). **Ciência Rural**, v.36, p.1049-1054, 2006.

ROEL, A. R.; VENDRAMIM, J. D.; FRIGHETTO, R. T. S.; FRIGHETTO, N. Efeito do extrato acetato de etila de *Trichilia pallida* Swartz (Meliaceae) no desenvolvimento e sobrevivência da lagarta-do-cartucho. **Bragantia**, v. 59, p.53-58, 2000.

SAXENA, R. C., HARSHAN, V., SAXENA, A., SUKUMARAN, P., SHARMA, M. C., KUMAR, M. L. Larvicidal and chemosterilant activity of *Annona squamosa* alkaloids against *Anopheles stephensi*. **Journal of the American Mosquito Controle Association**, v.9, p.84-87, 1993.

Considerações Finais

O estudo foi realizado com o interesse de induzir ainda mais o desenvolvimento e uso de produtos botânicos para o manejo de insetos praga. As plantas inseticidas apresentam uma série de vantagens que vem ao encontro da necessidade de buscar por métodos alternativos de menor risco à saúde humana e ao meio ambiente. Uma característica importante das plantas inseticidas é que muitos princípios ativos tem ação específica para alguns organismos, sem afetar outros, também apresentam baixa toxicidade ao homem e animais, reduzida ação sobre os inimigos naturais e curta permanência no solo.

Outra questão importante a ser considerada com relação à utilização de plantas inseticidas e que foi verificado neste estudo, é que as mesmas nem sempre provocam a morte dos insetos. Efeitos como inibição alimentar, inibição do crescimento, deformação de pupas e adultos, interferência nos processos normais de metamorfose e redução da fecundidade, são frequentemente observados. Sendo assim, a utilização das plantas inseticidas favorece a interação com outros métodos de controle como preconiza o manejo integrado de pragas.

Este estudo fornece informações que podem contribuir para o desenvolvimento de novos inseticidas vegetais para o controle de *S. frugiperda*, os quais podem atuar como mais um método de controle para equilibrar os exageros da agricultura convencional, ou seja, a utilização de inseticidas sintéticos. Este estudo possibilita também que as substâncias ativas presentes nas espécies vegetais estudadas possam ser utilizadas como modelos para síntese de novos princípios ativos. Todavia, pesquisas relacionadas à identificação, à avaliação dos compostos químicos vegetais e testes toxicológicos são importantes.