



DANIEL DE CARVALHO MELO COSTA

**TOXICIDADE DE EXTRATOS BOTÂNICOS DE
FABÁCEA E RUBIÁCEA PARA *Spodoptera
frugiperda* (J. E. SMITH, 1797) (LEPIDOPTERA:
NOCTUIDAE)**

LAVRAS - MG

2015

DANIEL DE CARVALHO MELO COSTA

**TOXICIDADE DE EXTRATOS BOTÂNICOS DE FABÁCEA E
RUBIÁCEA PARA *Spodoptera frugiperda* (J. E. SMITH, 1797)
(LEPIDOPTERA: NOCTUIDAE)**

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Lavras, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Entomologia, para a obtenção do título de Mestre.

Orientador

Dr. Geraldo Andrade Carvalho

LAVRAS – MG

2015

**Ficha catalográfica elaborada pelo Sistema de Geração de Ficha Catalográfica da Biblioteca
Universitária da UFLA, com dados informados pelo(a) próprio(a) autor(a).**

Costa, Daniel de Carvalho Melo.

Toxicidade de Extratos Botânicos de Fabácea e Rubiácea para
Spodoptera frugiperda (J. E. Smith, 1797) (Lepidoptera: Noctuidae)
/ Daniel de Carvalho Melo Costa. – Lavras : UFLA, 2015.
73 p. : il.

Dissertação (mestrado acadêmico)–Universidade Federal de
Lavras, 2015.

Orientador(a): Geraldo Andrade Carvalho.

Bibliografia.

1. Lagarta militar. 2. Inseticida botânico. 3. Falsa-quina. I.
Universidade Federal de Lavras. II. Título.

A Deus,

Pelo dom da vida e por estar sempre presente em meu caminho,

AGRADEÇO

Aos meus pais, José Antônio e Wanir Maria, pelo amor incondicional, por acreditarem em mim e por viverem junto comigo os meus sonhos,

DEDICO

AGRADECIMENTOS

À Universidade Federal de Lavras, pela oportunidade concedida para realização do Mestrado em Entomologia.

À Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de Minas Gerais (FAPEMIG), pela concessão da bolsa de estudos e pesquisa.

Ao Prof. Dr. Geraldo Andrade Carvalho, pela sua orientação e ensinamentos que foram fundamentais para a realização deste trabalho.

À pesquisadora Dra. Lenira Viana, por aceitar participar da banca examinadora, pelos comentários e sugestões ao trabalho.

À Dra. Dejjane Santos Alves, por participar da banca examinadora, por suas sugestões que foram fundamentais ao trabalho, e por auxiliar e melhorar a apresentação oral e escrita da Dissertação.

À Rafaella Sâmia, pela parceria durante o Mestrado e por ajudar na montagem de todos os ensaios.

Ao Vinicius, do Departamento de Química, pela ajuda na realização da análise de proteína.

Ao Pieter, Brenda, Thiago, Luis e Ellison pela colaboração nos experimentos.

Aos professores da UFLA, pelos ensinamentos transmitidos durante todo o Mestrado.

Aos companheiros do Laboratório de Seletividade: Andreísa, Brenda, Claubert, Dejjane, Ellison, Jader, Lea, Lucas, Luís, Mariana, Pablo, Pieter, Thiago, Rafaella, Rodrigo, Ronelza, Thais e Valéria, pela agradável convivência.

À Eliana Andrade (Lea), pela ajuda no laboratório e harmoniosa convivência.

Aos funcionários do Departamento de Entomologia, pela colaboração. Especialmente D. Irene e Julinho, pela amizade e os momentos de descontração.

Aos amigos Anderson, Igor, Lívia e Paulo pela amizade, parceria e ótimos momentos de convivência.

Ao amigo e parceiro de sempre Maurício, pela amizade e torcida durante toda essa jornada.

À minha namorada Camila, pelo companheirismo, amor, compreensão, dedicação e pela ajuda na avaliação e tabulação de dados dos experimentos.

Aos meus sogros Camilo e Eunice, pelo apoio e ótima convivência.

Aos meus pais por todo o carinho, preocupação e confiança que fizeram com que eu chegasse até aqui.

E por fim, agradeço a Deus, por colocar pessoas incríveis na minha vida, que certamente foram fundamentais para meu crescimento pessoal, profissional e realização deste trabalho.

Sinceramente Agradeço.

“A alegria está na luta, na tentativa, no sofrimento envolvido. Não na vitória propriamente dita.”

Mahatma Gandhi

RESUMO

Diante dos problemas relacionados ao uso de pesticidas sintéticos torna-se importante a descoberta de novos produtos, nesse sentido os metabólitos secundários de plantas apresentam-se bastante promissores. Dessa maneira, o objetivo deste trabalho foi avaliar os efeitos de extratos das folhas e cascas do caule das espécies *Copaifera langsdorffii*, *Coussarea hydrangeifolia*, *Guettarda angelica* e *Rudgea viburnoides* para lagartas de *Spodoptera frugiperda* em ensaios com e sem chance de escolha. Foi estimada a concentração letal mediana (CL₅₀) de cada parte vegetal coletada. Assim, os extratos aquosos foram adicionados em dieta artificial nas concentrações de 1%, 2%, 4% e 6% (v/v) e oferecidos às lagartas de 1º instar. A mortalidade foi avaliada diariamente até a fase pupal. Para o segundo ensaio, os extratos aquosos dessas espécies vegetais foram adicionados à dieta artificial na concentração referente à CL₅₀ e oferecidos a lagartas de 1º instar de *S. frugiperda*. Foram avaliados: a sobrevivência a cada 24 horas até o final do ciclo do inseto; após 10 dias do início do experimento foi avaliado o peso das lagartas, sendo realizadas pesagens das lagartas a cada 48 horas até o 16º dia; peso das fezes, quantificação de proteína nas fezes e consumo alimentar no 16º dia; a duração da fase larval, a duração e sobrevivência na fase pupal e o peso das pupas. Por ocasião da emergência dos adultos, casais foram individualizados, sendo avaliadas: a razão sexual, a longevidade, o nº de ovos por fêmeas, a viabilidade dos ovos do segundo dia de postura, os períodos de pré-oviposição e oviposição de cada casal. O consumo alimentar na fase larval foi reduzido pelos extratos aquosos das folhas de *C. langsdorffii*, *C. hydrangeifolia*, *G. angelica* e cascas de *R. viburnoides*, *C. langsdorffii*, *C. hydrangeifolia* e *G. angelica*. Todos os extratos aquosos reduziram o ganho de peso das lagartas ao longo do tempo. Os extratos aquosos das folhas das plantas selecionadas aumentaram a quantidade de proteína excretada nas fezes de *S. frugiperda*, exceto *G. angelica*. Para a fase adulta, apenas o extrato das cascas de *G. angelica* reduziu o período de oviposição, sendo que as demais características biológicas não foram alteradas. No ensaio com chance de escolha, os extratos aquosos das cascas de *C. hydrangeifolia*, *R. viburnoides* e folhas de *C. hydrangeifolia* e *R. viburnoides* mostraram atividade antialimentar. Diante desses resultados as plantas selecionadas para o trabalho apresentam potencial para o controle de *S. frugiperda*, sendo que os extratos das cascas e das folhas de *C. hydrangeifolia* foram mais tóxicos à lagarta-do-cartucho.

Palavras-chave: Lagarta militar. Inseticida botânico. Falsa-quina.

ABSTRACT

It is important to find new products front of problems related to the use of synthetic pesticides, accordingly, the plant secondary metabolites are shown quite promising. Thus, in this study aimed to evaluate the effects of leaves extracts and stem bark from the species *Copaifera langsdorffii*, *Coussarea hydrangeifolia*, *Guettarda angelica* and *Rudgea viburnoides* for the caterpillars of *Spodoptera frugiperda* in assay with and without choice. It was estimated the median lethal concentration (LC₅₀) of each collected plant parts. Thus, the aqueous extracts were added to artificial diet at concentrations 1%, 2%, 4% and 6% (v/v) and offered to the caterpillars 1st instar. Mortality was assessed daily until the pupal stage. For the second assay, the aqueous extracts of these plants were added to the artificial diet at concentration on the LC₅₀ and offered to the caterpillars 1st instar of *S. frugiperda*. Survival every 24 hours until the end of insect cycle was evaluated. After 10 days from the trial begin it was evaluated caterpillars weight; every 48 hours until 16th day the caterpillars weigh; fecal weight, quantification of proteins in the feces and food intake on 16th day; larval stage, pupal stage and survival and pupae weight were carried out. At the adult's emergence, couples were individualized and evaluated: the sex ratio, longevity, number of postures eggs, and egg viability of the second day of posture, periods of pre-oviposition and oviposition of each couple. Food intake in the larval stage was reduced by aqueous leaves extracts of *C. langsdorffii*, *C. hydrangeifolia*, *G. angelica* and bark of *R. viburnoides*, *C. langsdorffii*, *C. hydrangeifolia* and *G. angelica*. All aqueous extracts reduced caterpillars weight gain over time. Aqueous extracts from the leaves of selected plants have increased the protein amount excreted in the feces of *S. frugiperda* except *G. angelica*. To adult stage, only the barks extract of *G. angelica* reduced the oviposition period, whereas the other biological characteristics have not changed. In the essay with a free choice, the barks aqueous extract of *C. hydrangeifolia*, *R. viburnoides* and leaves of *C. hydrangeifolia* and *R. viburnoides* showed anti-feed activity. From these results the plants selected for the work have potential for control of *S. frugiperda*, and the barks extract and the leaves of *C. hydrangeifolia* were more toxic to fall armyworm.

Keywords: Military caterpillar. Botanical insecticide. False-quinine.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1	Arena para teste de preferência com chance de escolha para lagartas de <i>Spodoptera frugiperda</i> tendo como alimento seções de folhas de milho.....	35
Figura 2	Peso de lagartas de <i>S. frugiperda</i> , ao longo do tempo, alimentadas com dieta artificial contendo extratos aquosos dos tratamentos. Sendo, $f(x) = c + (d - c) / (1 + \exp(b(\log(x) - \log(e))))$, em que “b” e “e” são os interceptos e $x = 0$ tempo em dias.....	41
Figura 3	Médias ($\pm EP$) com mesma letra não diferem entre si pelo teste de Scott–Knott a 5% para A=consumo alimentar ($F=39,25; df=8; p<0,001$); B=peso de lagartas ($F=67,20; df=8; p<0,001$) alimentadas com dieta artificial contendo os extratos aquosos. ($n=5/\text{tratamento}$).....	43
Figura 4	Médias ($\pm EP$) com mesma letra não diferem entre si pelo teste de Scott–Knott a 5% para A=peso das fezes ($F=76,25; df=8; p<0,001$); B=duração da fase larval ($F=37,02; df=7; p<0,001$) de lagartas alimentadas com dieta artificial contendo os extratos aquosos. Sendo $n=5$ para todos os tratamentos. ($n=5/\text{tratamento}$).....	44
Figura 5	Análise de sobrevivência de lagartas de <i>S. frugiperda</i> até 25 dias após o início do experimento, calculada pelo procedimento de curva de sobrevivência do estimador Kaplan–Meier ($\chi^2=143,826; df=8, P<0,001$)	45

Figura 6	Pupas com deformações morfológicas oriundas de lagartas submetidas aos extratos aquosos de folhas de <i>R.viburnoides</i> e cascas de <i>R. viburnoides</i> e <i>C. hydrangeifolia</i>	47
Figura 7	Médias (\pm EP) com mesma letra não diferem entre si pelo teste de Scott–Knott a 5% para: A=peso das pupas (F=27,70; df=7; P<0,001), B=sobrevivência no estágio pupal (F=25,50; df=7; P<0,001). (n=5/tratamento).....	49
Figura 8	Médias (\pm EP) com mesma letra não diferem entre si pelo teste de Scott–Knott a 5% para duração do estágio pupal. Não significativo (F=0,640; df=4; P=0,640). (n=5/tratamento).....	50
Figura 9	Médias (\pm EP) para A=longevidade de machos (F=2,166; df=4; P=0,147), B=longevidade de fêmeas (F=1,720; df=4; P=0,222). Médias seguidas de mesma letra não diferem entre si pelo teste de Scott-Kott a 5 %. (n=5/tratamento).....	57
Figura 10	Médias (\pm EP) para A=período de pré-oviposição (F=1,298; df=4; P=0,335), B=período de oviposição (F=8,033; df=4; P<0,004). Médias seguidas de mesma letra não diferem entre si pelo teste de Scott-Kott a 5%. (n=5/tratamento).....	58
Figura 11	Médias para razão sexual ($\chi^2=2,096$; df=4; P=0,718) seguidas de mesma letra não diferem entre si pelo teste de Qui-quadrado, $\alpha=5\%$. (n=5/tratamento).....	59
Figura 12	Médias (\pm EP) para A=número de ovos por fêmea (F=1,538; df=4; P=0,264) e B=viabilidade dos ovos (F=2,683; df=4; P=0,094). Médias seguidas de mesma letra não diferem entre si pelo teste de Scott-Kott a 5 %. (n=5/tratamento).....	60

LISTA DE TABELAS

Tabela 1	Materiais botânicos, coletados e empregados para preparo dos extratos aquosos.....	30
Tabela 2	Resposta concentração <i>versus</i> mortalidade para lagartas de <i>Spodoptera frugiperda</i> alimentadas com dieta contendo extratos aquosos	40
Tabela 3	Tempo Letal mediano (dias) das lagartas de <i>S. frugiperda</i> alimentadas com dieta contendo os extratos de folhas e cascas de espécies vegetais.....	46
Tabela 4	Efeito dos extratos aquosos sobre parâmetros nutricionais de lagartas de <i>S.frugiperda</i> que se alimentaram de dieta acrescida de extratos aquosos de <i>C. langsdorffii</i> , <i>C. hydrangeifolia</i> , <i>G. angelica</i> e <i>R. viburnoides</i>	53
Tabela 5	Concentração de proteínas nas fezes de lagartas de <i>S. frugiperda</i> alimentadas com dieta contendo os extratos aquosos das folhas e cascas de <i>Copaifera langsdorffii</i> , <i>Coussarea hydrangeifolia</i> , <i>Guettarda angelica</i> e <i>Rudgea viburnoides</i>	54
Tabela 6	Índice de deterrência alimentar para lagartas de <i>S. frugiperda</i> submetidas a teste de preferência alimentar com livre chance de escolha.	61

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO.....	14
2	OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	16
3	REFERENCIAL TEÓRICO	17
3.1	Cultura do milho <i>Zea mays</i> L. (Poaceae).....	17
3.2	Bioecologia de <i>S. frugiperda</i> na cultura do milho	18
3.3	Defesas químicas das plantas contra insetos	19
3.4	Produtos naturais ativos para <i>Spodoptera</i> spp.....	22
3.5	Atividade inseticida de plantas da família Fabaceae.....	23
3.5.1	Fabácea utilizadas neste estudo	24
3.6	Atividade inseticida de plantas da família Rubiaceae	25
3.6.1	Rubiáceas utilizadas neste estudo.....	25
4	MATERIAL E MÉTODOS	28
4.1	Criação de <i>S. frugiperda</i> em laboratório.....	28
4.2	Coleta e processamento do material botânico	28
4.3	Preparo das partes vegetais coletadas para obtenção do extrato aquoso	31
4.4	Resposta concentração <i>versus</i> mortalidade	31
4.5	Avaliação do efeito dos extratos aquosos sobre características biológicas e reprodutivas de <i>S. frugiperda</i> em teste sem chance de escolha.....	32
4.6	Avaliação da preferência alimentar de <i>S. frugiperda</i> em ensaio com chance de escolha	34
4.7	Quantificação de proteína nas fezes de <i>S. frugiperda</i>	36
4.8	Análise dos dados.....	37
5	RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	38
6	CONCLUSÃO.....	62
	REFERÊNCIAS.....	63

1 INTRODUÇÃO

A cultura do milho *Zea mays* L. (Poaceae), desde o plantio até a colheita sofre com o ataque de diversas pragas, as quais podem danificar as raízes, colmos, folhas e espigas. Entre aquelas que atingem o nível de dano econômico, destaca-se a lagarta-do-cartucho do milho ou militar, *Spodoptera frugiperda* (J. E. Smith, 1797) (Lepidoptera: Noctuidae), sendo considerada a mais prejudicial, atacando a cultura tanto na fase vegetativa quanto na reprodutiva (ROSA; BARCELOS, 2012). No Brasil, essa praga tem condições de se multiplicar continuamente devido ao clima favorável, abundância de alimento e grande diversidade de hospedeiros, como trigo, sorgo, algodão, amendoim, espécies nativas e gramíneas em geral (CRUZ et al., 2009; SARMENTO et al., 2002).

Na cultura do milho, o controle de *S. frugiperda* tem sido realizado historicamente, principalmente, por meio do uso de inseticidas sintéticos (COSTA et al., 2005).

Entretanto, o uso incorreto e intenso de inseticidas sintéticos geralmente provoca pressão de seleção em populações de *S. frugiperda*, de tal forma que altos níveis de resistência podem ser alcançados por meio de dois ou mais mecanismos de resistência (HARDSTONE; SCOTT, 2010). Dessa forma, o manejo da resistência a inseticidas deve basear-se na redução dos efeitos prejudiciais dos pesticidas, por meio da diminuição do seu uso e aplicação de compostos com diferentes modos de ação. O agravamento da resistência pode levar à substituição de um inseticida por outro geralmente mais tóxico e menos seletivo a inimigos naturais, levando a uma maior dependência do método químico (CRUZ, 2002).

Diante deste cenário, os estudos com inseticidas botânicos visando ao controle de pragas vêm crescendo, já que no passado eram amplamente utilizados pelos agricultores, mas com a descoberta dos inseticidas químicos,

adquiriram um papel secundário no controle de pragas (THACKER, 2002). Esses inseticidas naturais são advindos do metabolismo secundário das plantas por meio da relação coevolutiva das mesmas com os herbívoros (BECERRA, 2007).

Foi constatado que devido à complexidade estrutural das moléculas das substâncias originadas do metabolismo secundário das plantas, ocorre grande variação em sítios de ação, dificultando a seleção de populações das pragas resistentes (RATTAN, 2010) e que também são relativamente mais seguras, apresentando curto período residual (NTALLI; MENKISSOGLU-SPIROUDI; GIANNAKOU, 2010). Desta forma, o interesse no desenvolvimento de inseticidas botânicos vem crescendo nos últimos anos (MIRESMALLI; ISMAN, 2014).

Os principais produtos de origem botânica usados para o controle de insetos-praga são piretro, rotenona, neem e óleos essenciais. Entre aqueles de uso mais limitado destacam-se rianina, nicotina e sabadilla (EL-WAKEIL, 2013). Muitas espécies de plantas das famílias Rubiaceae e Fabaceae vêm sendo estudadas quanto ao seu potencial inseticida por meio de seus metabólitos secundários (KESTENHOLZ; STEVENSON; BELMAIN, 2007; KOVENDAN et al., 2012; KRISHNAPPA et al., 2012).

Levando-se em consideração a importância da descoberta de novos produtos que sejam nocivos à *S. frugiperda*, no presente estudo teve-se como objetivo geral avaliar os efeitos de extratos aquosos de plantas pertencentes as famílias Rubiaceae e Fabaceae sobre características biológicas e reprodutivas dessa praga em ensaios com e sem chance de escolha.

2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- a) Determinar a concentração letal mediana (CL₅₀) e tempo letal mediano (TL₅₀) dos extratos aquosos de folhas e cascas dos caules de *C. langsdorffii*, *C. hydrangeifolia*, *G. angelica* e *R. viburnoides* para *S. frugiperda*.
- b) Avaliar o efeito dos extratos aquosos sobre variáveis biológicas e reprodutivas de *S. frugiperda* quando incorporados em dieta artificial e fornecidos como alimento às lagartas de 1º instar.
- c) Verificar se os extratos aquosos acarretam variação no teor de proteínas excretadas nas fezes das lagartas que se alimentaram de dieta contendo os tratamentos.
- d) Avaliar a atividade antialimentar dos extratos aquosos para lagartas de *S. frugiperda* em teste com chance de escolha.

3 REFERENCIAL TEÓRICO

3.1 Cultura do milho *Zea mays* L. (Poaceae)

O milho é utilizado no Brasil para a nutrição humana e alimentação animal, principalmente na avicultura, suinocultura e bovinocultura; também é empregado como matéria-prima para a extração de bioetanol (LANDAU et al., 2012). O Brasil é um dos maiores produtores mundiais de milho, sendo superado apenas pelos Estados Unidos e China. Na safra 2012/2013 o país produziu cerca de 81 milhões de toneladas do grão, sendo um dos maiores exportadores mundiais (FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION OF THE UNITED NATIONS - FAOSTAT, 2014).

Os principais estados brasileiros produtores de milho são Paraná, Minas Gerais, Goiás, Mato Grosso do Sul e Rio Grande do Sul, que são responsáveis por cerca de 80% da produção nacional. As maiores regiões produtoras são o Sul e o Centro Oeste, com 34,1 % e 42,0 % da produção nacional (COMPANHIA NACIONAL DE ABASTECIMENTO - CONAB, 2014). Um dos grandes desafios da produção de milho no Brasil é o aumento de produtividade, sendo a média nacional em torno de 5,12 toneladas por hectare, está bem abaixo de países como os EUA, onde a produtividade média é de 10,02 t/ha (UNITED STATES DEPARTMENT OF AGRICULTURE - USDA, 2014).

De acordo com Cruz, Figueiredo e Cruz (2006), os insetos-praga são responsáveis por grande perda na produtividade do milho no Brasil. Essas perdas têm sido evitadas mediante a utilização de medidas de controle, sendo o método químico o mais utilizado. O uso indiscriminado de pesticidas é a principal causa da seleção de populações resistentes aos inseticidas sintéticos. Yu (1991) verificou no norte da Flórida diversas populações de lagartas de *S. frugiperda* resistentes aos grupos químicos dos piretroides, organofosforados e

carbamatos. Diez-Rodríguez e Omoto (2001) realizaram estudos que comprovaram a resistência da lagarta militar ao piretroide lambdacialotrina. Morillo e Notz (2007) selecionaram populações de *S. frugiperda*, em laboratório, resistentes aos compostos do grupo químico dos piretroides. Salienta-se que dos 136 produtos registrados no Brasil para o controle de *S. frugiperda* em 2013, 78 pertenciam aos grupos químicos dos piretroides ou organofosforados (CARVALHO et al., 2013).

Visando ao aumento de produtividade e redução de aplicações de pesticidas, o uso da tecnologia do milho *Bacillus thuringiensis* (Bt) vem crescendo em condições brasileiras. Entretanto, com apenas seis anos da liberação, casos de resistência às toxinas Bt no Brasil já foram relatados para *S. frugiperda* (RESENDE et al., 2014).

Diante do exposto, inseticidas de origem botânica, por apresentarem diferentes sítios de ação, dificultando o desenvolvimento de populações resistentes, podem tornar-se um método promissor no controle de pragas.

3.2 Bioecologia de *S. frugiperda* na cultura do milho

Spodoptera frugiperda ataca as plantas tanto na fase vegetativa quanto reprodutiva (ROSA; BARCELOS, 2012). Foi reconhecida como praga de milho em 1797, na Geórgia, Estados Unidos, sendo descrita com o nome de *Phalaena frugiperda* (CRUZ, 1995). As mariposas realizam postura nas folhas das plantas de milho. Após três dias da oviposição, eclodem as lagartas, que inicialmente se alimentam do córion dos ovos. A duração da fase larval é de aproximadamente 23 dias, sendo que as mesmas podem atingir cerca de 40 mm de comprimento no último instar. Podem ser encontradas mais de uma lagarta recém-eclodida por cartucho de planta de milho, mas devido o seu comportamento canibal, normalmente apenas um indivíduo (ÁVILA; DEGRANDE; GOMEZ, 1997).

No Brasil os danos por *S. frugiperda* podem causar perdas de até 100% da produção. Esse percentual de dano depende da fase de desenvolvimento da planta em que ocorre o ataque, sendo de oito a dez folhas a fase mais sensível (SARMENTO et al., 2002). O controle da lagarta-do-cartucho na cultura do milho tem sido realizado principalmente pelo uso de inseticidas sintéticos e variedades modificadas geneticamente. No Brasil os gastos com inseticidas na cultura do milho chegam a US\$ 60 milhões anualmente, sendo 40% deste valor destinado ao controle de *S. frugiperda* (ROSA; MARTINS, 2011). As perdas provocadas pela lagarta podem chegar a US\$400 milhões de dólares anualmente no país (ROSA; BARCELOS, 2012).

Como o milho é plantado em diversas épocas do ano e em algumas localidades no inverno com irrigação, *S. frugiperda* pode atacar o milho em qualquer época do ano, dificultando o seu controle (DIEZ-RODRÍGUEZ; OMOTO, 2001). Dessa forma o produtor aumenta a frequência e a intensidade de aplicação de inseticidas ocasionando sérios problemas de seleção de populações resistentes aos principais grupos químicos utilizados. Diante da dificuldade de manter a praga abaixo do nível de dano econômico, com o uso de inseticidas químicos e tecnologia Bt, torna-se de suma importância a descoberta de novas moléculas advindas do metabolismo secundário das plantas para o controle desse inseto.

3.3 Defesas químicas das plantas contra insetos

As plantas produzem grande quantidade de metabólitos secundários, que são armazenados como compostos de defesas contra ataque de herbívoros e patógenos. Esses compostos pertencem a diferentes classes químicas, tais como, terpenoides derivados de isopreno, incluindo mono, sesqui, di e triterpenoides, e esteroides. Alcaloides e compostos fenólicos incluindo flavonoides e outros

foram identificados. Para minimizar a autointoxicação, muitos desses compostos são armazenados em compartimentos de atividade metabólica limitada, tais como, vacúolo ou o apoplasto (MITHÖFER; BOLAND, 2012).

Como exemplo de compostos que geralmente são armazenados nesses locais, destacam-se os glicosídeos cianogênicos, os quais são definidos como β -glicosídeos de α -hidroxinitrilos (cianidrinas), biossinteticamente derivados de aminoácidos. Eles geralmente ocorrem junto aos β -glicosidases que podem clivar o glicosídeo e liberar compostos de cianeto e carbonilo, causando danos às plantas. Mas ambos, cianeto e carbonilo, podem conferir proteção à planta contra a herbivoria e patógenos (HARBORNE, 1982). Glicosídeos cianogênicos não são tóxicos e são intracelularmente armazenados no vacúolo. No entanto, após a destruição das células por herbívoros, ocorre a clivagem da porção aglicona, liberando acetona cianidrina, que pode ser convertida a ácido cianídrico (VETTER, 2000). O ácido cianídrico afeta a respiração celular por inibição da ligação do oxigênio ao citocromo-c-oxidase dentro da mitocôndria (YAZAKI et al., 2008).

Outra classe de metabólito secundário produzido pelas plantas são os glucosinolatos, que são um grande grupo de aminoácidos derivados de metabólitos secundários. A injúria causada nos tecidos vegetais por herbívoros ou patógenos provoca a liberação de glucosinolatos, os quais isoladamente não são tóxicos, mas em contato com as enzimas tioglucosidases (mirosinases), produzem agliconas instáveis. Estas agliconas geram numerosos compostos (tiocianetos, nitrilas e isotiocianetos) que servem de defesa contra insetos e patógenos (MINORSKY, 2001).

Terpenoides também contribuem com a defesa da planta seja de forma direta e indireta. É um grupo extremamente diverso de compostos derivados de unidades de isopreno de cinco carbonos (MITHÖFER; BOLAND, 2012). No que se refere à defesa indireta, derivados de terpenos podem atrair vespas

predadoras e parasitoides por mistura de voláteis no momento do ataque do herbívoro, e também pode repelir alguns desses insetos fitófagos (GERSHENZON, 2000). Como defesa direta, muitos compostos terpenoides podem atuar como repelentes ou deterrentes alimentares, por exemplo, óleo da resina de coníferas que contém mono e sesquiterpenos, que agem como repelentes e inibem a alimentação de insetos (RAFFA; BERRYMAN, 1983).

Outro grupo químico muito importante produzido pelas plantas são os alcaloides. Muitos podem ser tóxicos a animais, podendo afetar enzimas, alterar diferentes processos fisiológicos, inibir a síntese de DNA e causar danos ao sistema nervoso (WINK; SCHEMELLER; LATZ-BRÜNING, 1998).

Há relatos na literatura de diversos outros compostos que são produzidos pelas plantas e que têm função adversa em insetos (MITHÖFER; BOLAND, 2012). O enorme potencial das plantas para a produção de metabólitos tóxicos a insetos pode ser exemplificado levando em consideração que muitos dos pesticidas orgânicos sintéticos atuais foram originados através de modificações estruturais em compostos de ocorrência natural (TOMIZAWA; CASIDA, 2005). É possível citar como exemplo, os piretroides, os quais são inseticidas que foram sintetizados tendo como molécula molde as piretrinas, de ocorrência natural nas flores de algumas plantas pertencentes à família Asteraceae, gênero *Chrysanthemum* (SODERLUND; BLOOMQUIST, 1989).

Nesse contexto fica evidente que as plantas constituem grande fonte de novas moléculas que podem ser empregadas para o controle de insetos, havendo dessa forma, a necessidade de realização de novas pesquisas para este fim.

3.4 Produtos naturais ativos para *Spodoptera* spp.

O costume de se utilizar plantas para o controle de pragas é antigo em muitas partes do mundo. A Bíblia e outras literaturas mencionam diversas doenças em plantas e ataques de pragas, em que plantas do gênero *Derris*, *Nicotiniana* e *Ryania* foram muito utilizadas para o combate desses organismos. As plantas produzem numerosos compostos que lhes proporcionam resistência a organismos patogênicos e também dificultam a ação de pragas. Durante a evolução, a intensa pressão de seleção causada por patógenos e herbívoros resultou numa vasta diversidade química em plantas superiores. Esses compostos chamados metabólitos secundários garantem uma atividade biológica, protegendo a planta do patógeno, herbívoro ou plantas competidoras. O conhecimento da proteção das plantas por meio dos compostos resultantes do metabolismo secundário conduziu à descoberta de diversos pesticidas botânicos (DUBEY et al., 2010).

Uma das espécies de plantas que foi mais investigada por seus efeitos contra insetos é a árvore neem, *Azadirachta indica* A. Juss. (Meliaceae). Partes dessa planta são muitas vezes empregadas para a proteção contra insetos-pragas de grãos armazenados (BOEKE et al., 2004).

Entre as inúmeras famílias botânicas, espécies da família Rubiaceae apresentam grande variedade de compostos químicos, tais como, flavonoides, iridoides, alcaloides e terpenos. Devido ao expressivo número de constituintes químicos sugerem-se mais estudos para a descoberta de outras substâncias (SOUZA; MENDONÇA; SILVA, 2013). Kovendan et al. (2012) mostraram que extratos alcoólicos de folhas de *Morinda citrifolia* L. (Familia: Rubiaceae), quando aplicados em recipiente contendo larvas de *Aedes aegypti* Linnaeus, 1762 e *Culex quinquefasciatus* Say, 1823 (Diptera: Culicidae), teve ação letal sobre larvas e pupas após 24h e 48h de exposição.

Algumas plantas da família Fabaceae possuem inibidores de tripsina e proteínas hemaglutinantes, as quais atuam sobre enzimas proteolíticas e sobre carboidratos da superfície celular, e são considerados metabólitos importantes, podendo atuar no mecanismo de defesa contra insetos e patógenos (CHEVREUIL et al., 2009). Em estudo com a planta *Derris amazonica* Killip, Filgueiras et al. (2011) verificaram que extratos aquosos da raiz causam alta mortalidade do pulgão *Myzus persicae* (Sulzer, 1776) (Hemiptera: Aphididae), e esse efeito pode ser explicado pela alta concentração de rotenona no tecido radicular.

Dessa forma, metabólitos secundários de plantas são fontes em potencial para o desenvolvimento de inseticidas de origem vegetal, tornando-se promissores no controle de pragas. Contudo, mais estudos são necessários para potencializar seus efeitos como praguicida.

3.5 Atividade inseticida de plantas da família Fabaceae

Muitas espécies de fabáceas vêm sendo estudadas quanto à sua atividade inseticida. Extratos de *Gliricidia sepium* (Jacq.) (Fabaceae) mostraram atividade sobre ovos, larvas e pupas de *Anopheles stephensi* (Liston, 1901) (Diptera: Culicidae) (KRISHNAPPA; DHANASEKARAN; ELUMALAI, 2012).

Folhas e sementes de *Pithecellobium dulce* (Roxb.) (Fabaceae) mostraram excelente potencial para o controle do mosquito vetor da dengue *A. aegypti*. A CL_{50} encontrada, em testes de laboratório para os extratos da semente e de folhas de *P. dulce* foi de 426,05 mg.L⁻¹ e 218,64 mg.L⁻¹ (RAJESWARY; GOVINDARAJAN, 2014).

3.5.1 Fabácea utilizada neste estudo

Para a seleção da espécie de Fabácea utilizada neste estudo, foi levado em consideração, se a mesma, apresentava relatos na literatura, da presença de compostos com atividade inseticida. E a abundância da mesma na região de Lavras – MG.

3.5.1.1 *Copaifera langsdorffii* Desf.

Sinonímias: *Copaifera laxa* (Hayne), *Copaifera sellowii* Hayne e *Copaiba langsdorffii* (Hayne) Kuntze (OLIVEIRA FILHO, 2014).

Em estudo realizado com extrato alcoólico de folhas de *C. langsdorffii* (Fabaceae) em plantação comercial de tomate, Barbosa et al. (2011) verificaram que essa planta apresentou maior efeito inseticida para *Bemisia tabaci* Gennadius, 1889 (Hemiptera: Aleyrodidae), quando comparado às parcelas que receberam extratos aquosos de folhas de *Ruta graveolens* L. (Rutaceae) e extratos alcoólicos de folhas de *Chenopodium ambrosioides* L. (Chenopodiaceae).

Estudos têm demonstrado o potencial de óleo de *C. langsdorffii* no controle de *A. aegypti*. No entanto, a baixa solubilidade em água é um fator que limita a sua aplicabilidade. Então a micro ou nanoencapsulação pode ser uma alternativa para sua utilização em locais de proliferação de larvas (KANIS et al., 2012).

Alves et al. (2012) verificaram que extratos derivados de folhas e cascas de frutos de *C. langsdorffii* são tóxicos a *S. frugiperda*. Quando adicionados à dieta artificial de lagartas de 2º instar do inseto, causou mortalidade, redução da fertilidade e da fecundidade de adultos. Alterações ultraestruturais dos ovos e menor viabilidade também foram observadas quando os insetos foram tratados

com extratos de folhas e cascas de frutos no estágio larval. Foi constatado também aumento da quantidade de proteínas nas fezes das lagartas em decorrência da inibição de tripsina provocada pelos extratos.

3.6 Atividade inseticida de plantas da família Rubiaceae

Possui distribuição cosmopolita concentrada na região tropical. No Brasil existem cerca de 120 gêneros e 2.000 espécies, sendo considerada uma das principais famílias da flora brasileira, presente em quase todas as formações naturais (SOUZA; LORENZI, 2008).

A família Rubiaceae é reconhecida como rica fonte de compostos bioativos, incluindo iridoides, alcaloides e triterpenoides (SCHWARZ; WRAY; PROKSCH, 1996). Extratos liofilizados de *Palicourea marcgravii* A. St-Hil (Rubiaceae), nas concentrações de 10, 20, 30, 40 e 50 mg.mL⁻¹, foram aplicados via pulverização foliar sobre plantas de citros contendo o pulgão-preto-do-citros *Toxoptera citricida* Kirkaldy, 1907 (Hemiptera: Aphididae). Todas as concentrações analisadas causaram mortalidade dos pulgões superior a 50%, sendo que a maior concentração causou a morte de todos os insetos (GONZAGA et al., 2008).

3.6.1 Rubiáceas utilizadas neste estudo

Para a seleção das espécies de Rubiácea utilizadas neste estudo, foi levado em consideração, se as mesmas, apresentavam relatos na literatura, da presença de compostos com atividade inseticida. E a abundância das mesmas na região de Lavras – MG.

3.6.1.1 *Coussarea hydrangeifolia* (Benth.) Benth & Hook

Sinonímias: *Faramea hydrangeifolia* Benth., *Coussarea cornifolia* (Benth.) Müll. Arg., *Faramea cornifolia* Benth., *Coussarea schiffneri* Zahlbr. e *Faramea coussarioides* S. Moore (OLIVEIRA FILHO, 2014).

Trata-se de uma árvore de pequeno porte e ornamental, conhecida como falsa-quina, e recomendada para a composição de reflorestamentos heterogêneos destinados à recuperação da vegetação de áreas degradadas. Presente em Minas Gerais, Goiás, Mato Grosso do Sul e São Paulo, nos cerrados, cerradões e na mata semidecídua da bacia do Paraná. Floresce predominantemente nos meses de agosto-outubro. Os frutos amadurecem em junho-julho (SOUZA; LORENZI, 2008).

Plantas do gênero *Coussarea* em estudos químicos revelaram a presença de triterpenos (ARAUJO et al., 2009).

Não foram encontrados relatos de pesquisas de *C. hydrangeifolia* contra insetos.

3.6.1.2 *Guettarda angelica* Mart. exMüll. Arg.

Sinonímias: *Matthiola angelica* (Mart. exMüll.Arg.) Kuntze. (OLIVEIRA FILHO, 2014)

Guettarda angelica ou Angélica é uma árvore de até 12m de altura e sua ocorrência vai desde a Amazônia até o Paraná. Em Minas Gerais está presente em florestas de cerrado (OLIVEIRA FILHO et al., 2008).

Triterpenoides já foram isolados de extratos de raízes de *G. angelica* (SOUZA et al., 1984). Extratos de sementes de *G. angelica* apresentaram atividade antiviral contra herpesvírus bovino tipo 1, herpesvírus suíno tipo 1 e herpes vírus equino tipo 1 (BARROS et al., 2012).

3.6.1.3 *Rudgea viburnoides* (Cham.) Benth

Sinónimias: *Coffea viburnoides* Cham. e *Rudgea krukovii* Standl. (OLIVEIRA FILHO, 2014)

Popularmente conhecida por “congonha-do-gentio”, “folha-grossa-do-sertão” e “chá-de-bugre”, *R. viburnoides* é uma árvore que pode alcançar 5m de altura. Possui copa globosa e densa e encontra-se na Bahia, Minas Gerais, Tocantins, Goiás, Mato Grosso do Sul e São Paulo (LORENZI, 2009).

Monteiro et al. (2009) observaram que a infusão de folhas de *R. viburnoides* fornecidas a ratos na dosagem de 10 ou 20g de folha seca por litro de água durante 40 dias causou acúmulo de gordura no hepatócito do grupo tratado, e houve redução nos níveis plasmáticos de triaglicerol no grupo que recebeu dose alta. Testes químicos revelaram a presença de taninos, flavonoides, triterpenos e saponinas nas folhas de *R. viburnoides* (ALVES et al., 2004).

4 MATERIAL E MÉTODOS

A pesquisa foi realizada no laboratório de Ecotoxicologia e em casa de vegetação do Departamento de Entomologia da Universidade Federal de Lavras (UFLA) no período de janeiro a novembro de 2014.

4.1 Criação de *S. frugiperda* em laboratório

Para a realização dos ensaios foram utilizadas lagartas de *S. frugiperda* com 24 horas de idade, alimentadas com dieta artificial (GREENE; LEPLA; DICKERSON, 1976) e obtidas da segunda postura de adultos criados em laboratório. Após atingirem o estágio de pupa, as mesmas foram transferidas para gaiolas de PVC de 21 cm de altura x 20 cm de diâmetro, previamente forradas com papel-filtro. Cada gaiola foi apoiada em prato plástico e tampada com tecido do tipo *voile*. Os adultos emergidos das pupas foram alimentados com solução aquosa de mel a 10 %. As posturas foram retiradas diariamente e transferidas para placa de Petri até a eclosão das lagartas, que foram alimentadas com dieta artificial, iniciando novamente o ciclo. A criação e todos os ensaios foram conduzidos em ambiente controlado sob temperatura de 25 ± 2 °C; UR de $70 \pm 10\%$ e fotofase de 12 horas.

4.2 Coleta e processamento do material botânico

As cascas e folhas do material botânico (Tabela 1) foram coletadas na região dos municípios de Lavras e Itumirim, Minas Gerais. Os locais de coleta foram georreferenciados por meio de GPS (Sistema de Posicionamento Global) e as plantas avaliadas quanto à presença de doenças e ataques de insetos herbívoros. Informações como hora e dia da coleta, tipo de solo, temperatura e

umidade, sintomas de estresse da planta, foram registradas em fichas de campo conforme proposto por Fidalgo e Bononi (1989).

Posteriormente, o material coletado foi encaminhado ao laboratório de Ecotoxicologia do Departamento de Entomologia da UFLA, onde foram preparados os extratos para a realização dos ensaios.

Tabela 1 Materiais botânicos, coletados e empregados para preparo dos extratos aquosos

Nome científico	Sinónímias ¹	Data e horário da coleta	Coordenadas
<i>Copaifera langsdorffii</i> Desf.	<i>Copaifera laxa</i> (Hayne)., <i>Copaifera</i> <i>sellowii</i> Hayne., <i>Copaiba langsdorffii</i> (Hayne) Kuntze.	18 de junho de 2013 15:25 hs	S 21°13'57.14"; O 44° 58' 45.36"
<i>Guettarda angelica</i> Mart. ex Müll. Arg.	<i>Mathiola angelica</i> (Mart. exMüll.Arg.) Kuntze.	18 de junho de 2013 15:00 hs	S 21°14'02.61"; O 44° 58'45.25"
<i>Rudgea viburnoides</i> (Cham.) Benth	<i>Coffea viburnoides</i> Cham., <i>Rudgea krukovii</i> Standl.	31 de outubro de 2013 15:00 hs	23 K 0504510; UTM 7649334
<i>Coussarea hydrangeifolia</i> (Benth.) Benth & Hook	<i>Faramea</i> <i>hydrangeifolia</i> Benth., <i>Coussarea cornifolia</i> (Benth.) Müll., <i>Faramea</i> <i>cornifolia</i> Benth., <i>Coussarea schiffner</i> Zahlbr., <i>Faramea</i> <i>coussarioides</i> S. Moore.	31 de outubro de 2013 15:30 hs	23 K 0504510 UTM 7649334

¹Oliveira Filho (2014)

4.3 Preparo das partes vegetais coletadas para obtenção do extrato aquoso

Os materiais botânicos foram encaminhados à Unidade Experimental em Painéis de Madeira (UEPAM) do Departamento de Ciências Florestais da UFLA, onde foram submetidos à secagem em estufa com circulação de ar a 40 °C por 72 horas. Em seguida os materiais foram submetidos ao triturador de facas para obtenção de pó vegetal de cada parte coletada, que foi armazenada em freezer até serem utilizadas. Para o preparo dos extratos, os materiais vegetais secos (30 g) foram submetidos à extração com água destilada (200 mL) para obtenção da solução estoque de cada uma das partes vegetais a 15% (p/v) e mantidos sob refrigeração por 24 horas.

4.4 Resposta concentração *versus* mortalidade

Para estimar a concentração letal mediana (CL_{50}), alíquotas da solução estoque de cada parte vegetal coletada foram filtradas em tecido *voile* e adicionadas à dieta artificial durante seu resfriamento nas concentrações de 1% ($9,37 \text{ mg.mL}^{-1}$), 2% ($17,64 \text{ mg.mL}^{-1}$), 4% ($31,577 \text{ mg.mL}^{-1}$), 6% ($42,85 \text{ mg.mL}^{-1}$). A dieta foi preparada conforme Greene; Leppla e Dickerson (1976). Em seguida, pedaços de dieta de igual tamanho foram acondicionados em recipientes plásticos de 50 mL, que receberam uma lagarta de 1º instar de *S. frugiperda* oriunda da criação de laboratório, sendo tampados com tampas acrílicas transparentes. A mortalidade das lagartas foi avaliada diariamente até a fase pupal.

O delineamento experimental foi inteiramente casualizado com 40 repetições por tratamento, e 9 tratamentos, sendo a testemunha negativa dieta artificial acrescida de água destilada.

4.5 Avaliação do efeito dos extratos aquosos sobre características biológicas e reprodutivas de *S. frugiperda* em teste sem chance de escolha

Para a realização desse ensaio, os extratos aquosos foram adicionados à dieta artificial durante seu resfriamento na concentração referente à CL_{50} obtida do ensaio anterior, sendo que a dieta foi preparada conforme Greene, Leppla e Dickerson (1976). Em seguida, pedaços de dieta de igual tamanho foram pesados em balança de precisão e acondicionados em recipientes plásticos de 50 mL, que receberam uma lagarta de *S. frugiperda* com 24 horas de vida e foram tampados com tampas acrílicas transparentes. Paralelamente, foi separada uma alíquota de 40 recipientes plásticos contendo dieta sem a presença de lagartas. Essa dieta foi pesada no início e ao final do ensaio para se medir a perda de água, sendo mantida nas mesmas condições do experimento.

O delineamento utilizado foi inteiramente casualizado com 5 repetições, sendo a parcela experimental representada por 8 lagartas, totalizando 40 lagartas por tratamento. O tratamento controle foi composto de dieta acrescida de água.

Foram avaliados: a sobrevivência durante a fase larval a cada 24 horas; peso das lagartas após 10 dias e a cada 48 horas até o 16º dia; peso das fezes e da dieta no 16º dia; duração da fase larval, a duração, peso e sobrevivência das pupas formadas.

Após a emergência dos adultos, avaliou-se a razão sexual dos insetos ($rs = n^\circ \text{ de fêmeas} / n^\circ \text{ de fêmeas} + n^\circ \text{ de machos}$); posteriormente, foram formados de cinco a dez casais de cada tratamento, individualizados e mantidos em gaiola de PVC (10 cm de altura x 10 cm de diâmetro) sendo alimentados com solução aquosa de mel a 10%. A longevidade dos adultos foi observada diariamente e as posturas foram recolhidas a cada 24 horas para quantificação. Aquelas provenientes do segundo dia de postura de cada casal foram utilizadas para a

determinação da viabilidade. Também foram registrados os períodos de pré-oviposição e oviposição de cada casal e a longevidade de machos e fêmeas.

Para o cálculo de consumo alimentar, a dieta pesada 16 dias após início do ensaio, foi submetida a um fator de correção para perda de água: $[1-a/2][w-(L+bL)]$, em que, a = peso inicial da alíquota da dieta; b = média de perda de peso da alíquota; W = peso da dieta introduzida e L = peso da dieta não comida (COHEN, 2004).

Foram calculados índices nutricionais para medir consumo e utilização de alimentos pelas lagartas. O método utilizado para a determinação dos índices foi o gravimétrico de acordo com a metodologia de Waldbauer (1968) modificado por Slansky e Scriber (1985). Os cálculos foram feitos em função do peso do alimento consumido, peso das fezes e ganho de peso das lagartas. Desta forma, tem-se que:

- Taxa de Consumo Relativo (RCR): representa a quantidade de alimento ingerido por g de peso corpóreo do inseto por dia e é expresso em g/g/dia.
- Taxa Metabólica Relativa (RMR): é a quantidade de alimento gasto em metabolismo por grama de peso corpóreo e é expressa em g/g/dia.
- Eficiência de Conversão do Alimento Ingerido (ECI): representa a porcentagem do alimento ingerido que é convertido em biomassa.
- Digestibilidade aproximada (AD): é a porcentagem do alimento ingerido que é efetivamente assimilado pelas lagartas.
- Eficiência de Conversão do Alimento Digerido (ECD): representa uma estimativa da transformação da substância assimilada em biomassa pelo sistema biológico; ou seja, é a porcentagem do alimento digerido que é convertido em biomassa.
- Custo Metabólico (CM): representa a porcentagem de alimento metabolizado em energia para a manutenção dos processos vitais.

As fórmulas para cada cálculo de cada índice nutricional são:

$$RCR= I/Bm \times T$$

$$RMR= M/B \times T$$

$$ECI= B/I \times 100$$

$$AD= (I-F)/I \times 100$$

$$ECD= B/(I-F) \times 100$$

$$CM= 100 - ECD$$

Em que: T= tempo de duração do período de alimentação;

I= alimento consumido durante T;

B= ganho de peso pelas lagartas (g) durante T = I – F – M;

F= peso das fezes produzidas (g) durante T;

M= alimento metabolizado durante período de alimentação (g) = I–F–B;

I–F= alimento assimilado (g) durante T;

Bm= Peso médio das lagartas durante T.

4.6 Avaliação da preferência alimentar de *S. frugiperda* em ensaio com chance de escolha

Foram cultivadas plantas de milho Br 106 Embrapa® em casa de vegetação. Após 30 dias as folhas foram colhidas, sendo que se deu preferência para a quarta folha da qual foram cortadas seções de 4 x 5cm de diâmetro, que foram imersas nos extratos aquosos na concentração equivalente à CL₅₀.

Em seguida, estas seções foliares foram dispostas equidistantemente em placas de Petri de 15 cm de diâmetro x 1,9 cm de altura, previamente forradas com papel-filtro, conforme a Figura 1.

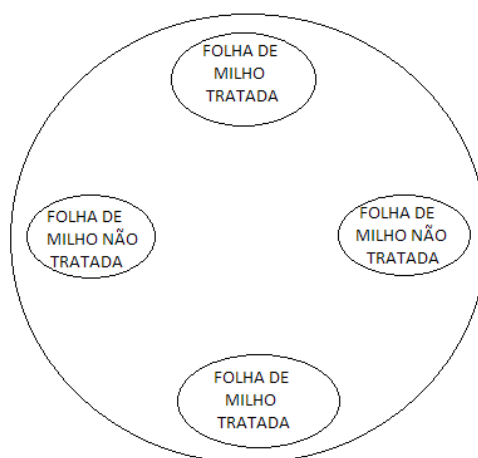


Figura 1 Arena para teste de preferência com chance de escolha para lagartas de *Spodoptera frugiperda* tendo como alimento seções de folhas de milho

Cada arena foi composta de quatro seções de folha de milho, sendo duas tratadas com o extrato aquoso e outras duas com água. No centro de cada arena foi liberada uma lagarta de *S. frugiperda* de 5 dias de vida, obtida da criação de laboratório, previamente alimentada com folha de milho Br 106 Embrapa[®]. Após 24 horas da liberação das lagartas, as folhas foram retiradas, digitalizadas em *scanner* e analisadas quanto à área foliar consumida através do software Quant[®] (VALE et al., 2003). Com os valores da área foliar consumida foi utilizado o índice de inibição alimentar, baseado na equação de Simmonds et al. (1989):

$$I = (A_c - A_t) / (A_c + A_t)$$

Em que:

A_c = Área consumida da seção controle (cm^2);

A_t = Área consumida da seção tratada (cm^2).

O índice com valor positivo significa que a seção foliar com o extrato aquoso foi menos consumida que a seção foliar tratada com água. O valor do índice varia

de -1 a +1. Valores próximos de 0,5 indicam atividade antialimentar e valores acima de 0,9 são considerados muito eficientes como inibidores da alimentação.

O delineamento experimental foi inteiramente casualizado com dez repetições, sendo cada parcela experimental representada por uma placa de Petri contendo uma lagarta.

4.7 Quantificação de proteína nas fezes de *S. frugiperda*

As fezes das lagartas de *S. frugiperda*, obtidas conforme metodologia relatada no subitem 4.5 foram agrupadas em amostras compostas das fezes de cinco lagartas, desidratadas em estufa e quantificadas quanto ao teor de proteína por meio do método de Bradford (1976). Para isso alíquotas (15 mg) das fezes foram submetidos à extração com H₂O (200 µL) e ácido perclórico 1M (200 µL). O conteúdo foi homogeneizado e as amostras centrifugadas a 10.000 x g por 5 minutos à temperatura de 4 °C. O sobrenadante foi descartado e o precipitado retirado. Ao precipitado foram adicionados 200 µL de hidróxido de sódio e novamente homogeneizado, centrifugado a 10.000 x g a 4 °C e posteriormente retirada uma alíquota de 100 µL do sobrenadante. Assim, em 100 µL do sobrenadante foi adicionado 1 mL de reagente de Bradford. Foi realizada a leitura em triplicata em espectrofotômetro a 595 nm e a concentração de proteína das amostras foi determinada tomando-se como base uma curva-padrão de BSA (albumina de soro bovina), com concentração variando de 2 a 20 µL.mL⁻¹.

4.8 Análise dos dados

Os dados referentes ao cálculo da resposta concentração *versus* mortalidade foram submetidos à análise Logit por meio do pacote drc (RITZ, 2013) do software R[®] (R DEVELOPMENT CORE TEAM, 2013).

Os dados referentes à mortalidade acumulada foram submetidos ao procedimento de curva de sobrevivência através do estimador Kaplan–Meier utilizando-se o software SigmaPlot[®] versão 12.5 (Systat Software, San Jose, CA). Para o peso das lagartas ao longo do tempo foi empregado o modelo logístico e teste Lack-of-fit, os tratamentos foram submetido à análise de contraste com vistas à formação de grupos congêneres por meio do pacote drc (RITZ, 2013) do software R[®] (R DEVELOPMENT CORE TEAM, 2013).

Os valores referentes à duração da fase larval, consumo de dieta, peso das fezes, peso das lagartas, duração e sobrevivência na fase pupal, o peso das pupas, índices nutricionais, longevidade de machos e fêmeas, períodos de pré-oviposição e oviposição, números de ovos por fêmea e viabilidade dos ovos foram submetidos ao teste de Shapiro-Wilk para verificar a normalidade. Em seguida os dados foram submetidos à *one-way* ANOVA e teste de Scott-Knott, quando necessário. A razão sexual dos adultos foi submetida ao teste de Qui-quadrado. As análises foram realizadas por meio dos softwares SigmaPlot[®] versão 12.5 (Systat Software, San Jose, CA) e Sisvar[®] versão 5.3 (FERREIRA, 2010).

Os dados referentes ao consumo foliar da avaliação da atividade deterrente alimentar foram analisados através do software Quant[®] (VALE et al, 2003) e as médias encontradas foram submetidas à análise comparativa utilizando-se o índice de inibição alimentar, baseado na equação de Simmonds et al. (1987):

$$I = (A_c - A_t) / (A_c + A_t)$$

Em que:

Ac= Área consumida do disco controle (cm²);

At= Área consumida do disco tratado (cm²).

Para a quantificação de proteína eliminada nas fezes, estas foram agrupadas em amostras compostas das fezes de cinco lagartas, o que correspondeu a uma parcela experimental. O delineamento foi inteiramente casualizado. Os dados foram submetidos ao teste de Shapiro-Wilk para verificar a normalidade. Em seguida os dados foram submetidos à *one-way* ANOVA e ao teste de Scott-Knott por meio do software Sisvar[®] versão 5.3 (FERREIRA, 2010).

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os extratos aquosos provenientes das cascas e folhas de *Copaifera langsdorffii*, *Coussarea hydrangeifolia*, *Guettarda angelica* e *Rudgea viburnoides* causaram mortalidade das lagartas e alterações negativas sobre parâmetros biológicos de *S. frugiperda* quando incorporados em dieta artificial e aplicados sobre pedaços de folhas de milho e fornecidos como alimento às lagartas. Sendo os resultados mais promissores os encontrados para folhas de *C. hydrangeifolia*, *R. viburnoides* e cascas de *C. hydrangeifolia* (Tabela 2), onde os valores da CL₅₀ desses extratos foram de 21,64; 24,50 e 24,16 (mg.mL⁻¹dieta).

A atividade inseticida de plantas da família Rubiaceae pode ser resultado da grande diversidade de compostos químicos, tais como flavonoides, iridoides, alcaloides e terpenos (SOUZA; MENDONÇA; SILVA, 2013). Segundo Saito et al. (2004) alguns flavonoides provenientes do metabolismo secundário podem ser tóxicos e inibirem a alimentação em insetos. Quanto aos terpenos, é sabido que algumas moléculas podem causar inibição da enzima ATP-sintetase, distúrbios no sistema nervoso e na regulação da ecdise dos insetos

(LANGENHEIM, 1994). Ao passo que os alcaloides constituem um grupo muito diverso e muitas dessas substâncias são tóxicas a artrópodes. Os alcaloides podem afetar a atividade de enzimas, ácidos nucleicos através da inibição de síntese de DNA e também podem causar danos ao sistema nervoso (WINK; SCHEMELLER; LATZ-BRÜNING, 1998).

No que se refere às espécies de plantas da família Fabaceae, as mesmas são conhecidas pela produção de inibidores de tripsina e proteínas hemaglutinantes, as quais atuam sobre enzimas proteolíticas e carboidratos da superfície celular, sendo cruciais na defesa das plantas contra herbivoria (CHEVREUIL et al., 2009).

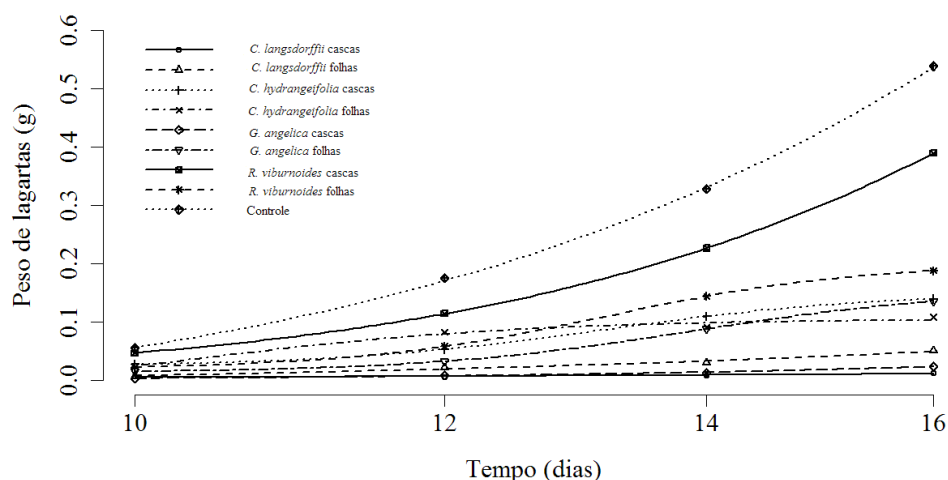
Em relação ao peso das lagartas, ao longo do tempo, a análise de contraste permitiu a formação de cinco grupos congêneres, o grupo 1 foi formado por extratos aquosos de cascas de *C. langsdorffii* e *G. angelica* e folhas de *C. langsdorffii* com peso médio de 0,0303 g. O grupo 2 englobou os tratamentos folhas de *G. angelica* e *C. hydrangeifolia* e cascas de *C. hydrangeifolia* com peso médio de 0,1246 g. Já o grupo 3 foi formado pelo extrato aquoso de folhas de *R. viburnoides* com peso médio de 0,198 g. O extrato aquoso das cascas de *R. viburnoides* formou o grupo 4 com peso médio de 0,397 g, ao passo que o grupo 5 englobou o tratamento controle com peso médio de 0,522 g (Figura 2).

Aos 16 dias após o início do ensaio houve redução no peso das lagartas ($F=67,20$; $df=8$; $p<0,001$). Os tratamentos que causaram redução mais significativa foram com os extratos das cascas de *C. langsdorffii* e *G. angelica* que apresentaram pesos médios de 0,0106 e 0,0250 g, cerca de 29 vezes menor que o observado no tratamento controle (Figura 3B).

Tabela 2 Resposta concentração *versus* mortalidade para lagartas de *Spodoptera frugiperda* alimentadas com dieta contendo extratos aquosos

	Tratamento	CL₅₀ (mg.mL⁻¹dieta)	χ^2	Pr>χ^2	GL	n
Cascas	<i>Copaifera langsdorffii</i>	33,83	101,48	0,3577	157	123
	<i>Coussarea hydrangeifolia</i>	24,16	95,12	0,4226	153	120
	<i>Guettarda angelica</i>	37,44	98,331	0,4716	158	124
	<i>Rudgea viburnoides</i>	67,54	95,80	0,972	157	123
Folhas	<i>Copaifera langsdorffii</i>	35,84	97,59	0,4073	155	121
	<i>Coussarea hydrangeifolia</i>	21,64	98,383	0,4417	157	124
	<i>Guettarda angelica</i>	33,66	98	0,4241	156	123
	<i>Rudgea viburnoides</i>	24,50	96,80	0,4578	156	122

GL=graus de liberdade, χ^2 =Qui-quadrado, Pr> χ^2 =probabilidade



C. langsdorffii cascas (n=34) $y=7,8451^{-5}+(0,08597)/1+\exp(-1,8357(\log(x)-1,64))$
C. langsdorffii folhas (n=36) $y=-1,3042^{-2}+(0,60)/1+\exp(-2,4687(\log(x)-1,58))$
C. hydrangeifolia cascas (n=37) $y=-2,3566^{-2}+(0,1733)/1+\exp(-1,2584(\log(x)-1,12))$
C. hydrangeifolia folhas (n=24) $y=-4,2224^{-2}+(0,1476)/1+\exp(-9,6333(\log(x)-1,00))$
G. angelica cascas (n=31) $y=7,1613^{-6}+(0,1507)/1+\exp(-4,3532(\log(x)-1,3683))$
G. angelica folhas (n=32) $y=1,3178^{-2}+(0,1433)/1+\exp(-1,2550(\log(x)-1,3298))$
R.viburnoides cascas (n=23) $y=-4,5514^{-3}+(1,9433)/1+\exp(-4,7313(\log(x)-1,3298))$
R. viburnoides folhas (n=28) $y=1,8855^{-2}+(0,1814)/1+\exp(-1,3518(\log(x)-1,1208))$
 Controle (n=40) $y=-8,0907^{-2}+(3,8752)/1+\exp(-3,4891(\log(x)-1,4107))$

Figura 2 Peso de lagartas de *S. frugiperda*, ao longo do tempo, alimentadas com dieta artificial contendo extratos aquosos dos tratamentos. Sendo, $f(x)=c+(d-c)/1+\exp(b(\log(x)-\log(e)))$, em que “b” e “e” são os interceptos e $x=0$ tempo em dias

O consumo alimentar e o peso das fezes produzidas 16 dias após o início do ensaio foram diferentes em relação ao controle ($F=39,25$; $df=8$; $p<0,001$) e ($F=76,25$; $df=8$; $p<0,001$) (Figura 3A e 4A). Lagartas submetidas ao tratamento com o extrato das cascas de *R. viburnoides* apresentaram maior consumo alimentar em relação ao controle, porém não foram observadas alterações no peso de fezes e duração do período larval. Segundo Pavela, Vrchotová e Será (2008) as substâncias de origem natural com propriedade de antibiose dificultam

a conversão do alimento ingerido em biomassa por afetarem a atividade de enzimas digestivas sem, no entanto reduzirem o consumo alimentar. Observou-se um menor consumo de dieta dos tratamentos com extratos aquosos de cascas e folhas de *C. langsdorffii*, *C. hydrangeifolia*, *G. angelica* e folhas de *R. viburnoides* em relação ao controle e também um menor peso de fezes (Figura 3A e 4A). As lagartas que se alimentaram de dieta contendo os demais extratos aquosos também apresentaram aumento significativo na duração da fase larval em relação ao controle ($F=37,02$; $df=7$; $p<0,001$), exceto os tratamentos de folhas e cascas de *R. viburnoides*. Foi observado aumento médio do período larval de 14,3 e 11,45 dias dos insetos submetidos aos extratos de cascas de *C. langsdorffii* e de *G. angelica* (Figura 4B).

O prolongamento do período larval pode estar relacionado a algum mecanismo de compensação do inseto para assimilar a quantidade de nutrientes necessária ao seu desenvolvimento. Segundo Martinez e Endem (2001) a inibição do crescimento pode ser devido à diminuição da ingestão de alimentos e baixa conversão de nutrientes para o crescimento, e assim o alongamento da duração do período larval é um mecanismo que pode compensar a redução da ingestão de alimento em função de um ou mais inibidores presentes na dieta.

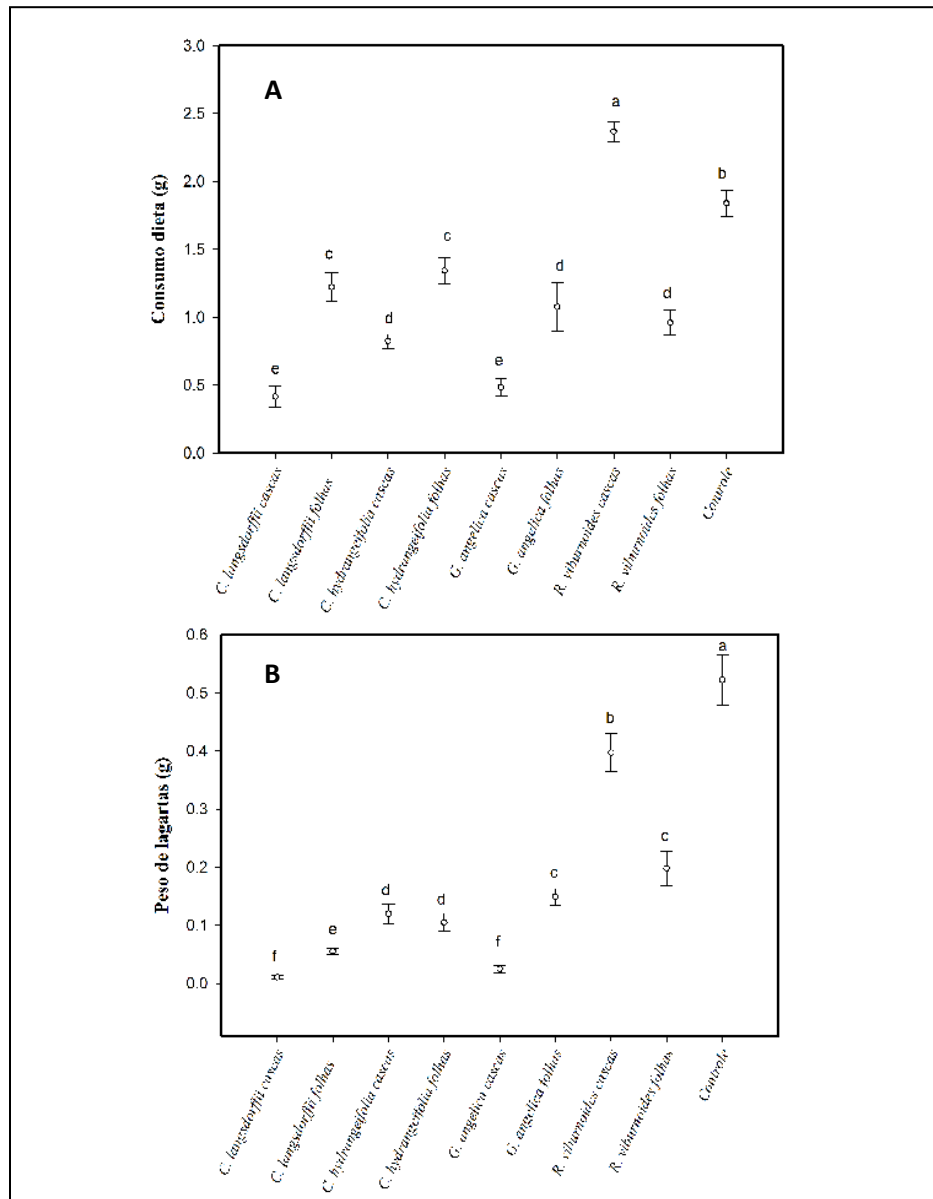


Figura 3 Médias (\pm EP) com mesma letra não diferem entre si pelo teste de Scott-Knott a 5% para A=consumo alimentar ($F=39,25;df=8; p<0,001$); B=peso de lagartas ($F=67,20;df=8; p<0,001$) alimentadas com dieta artificial contendo os extratos aquosos. ($n=5/\text{tratamento}$)

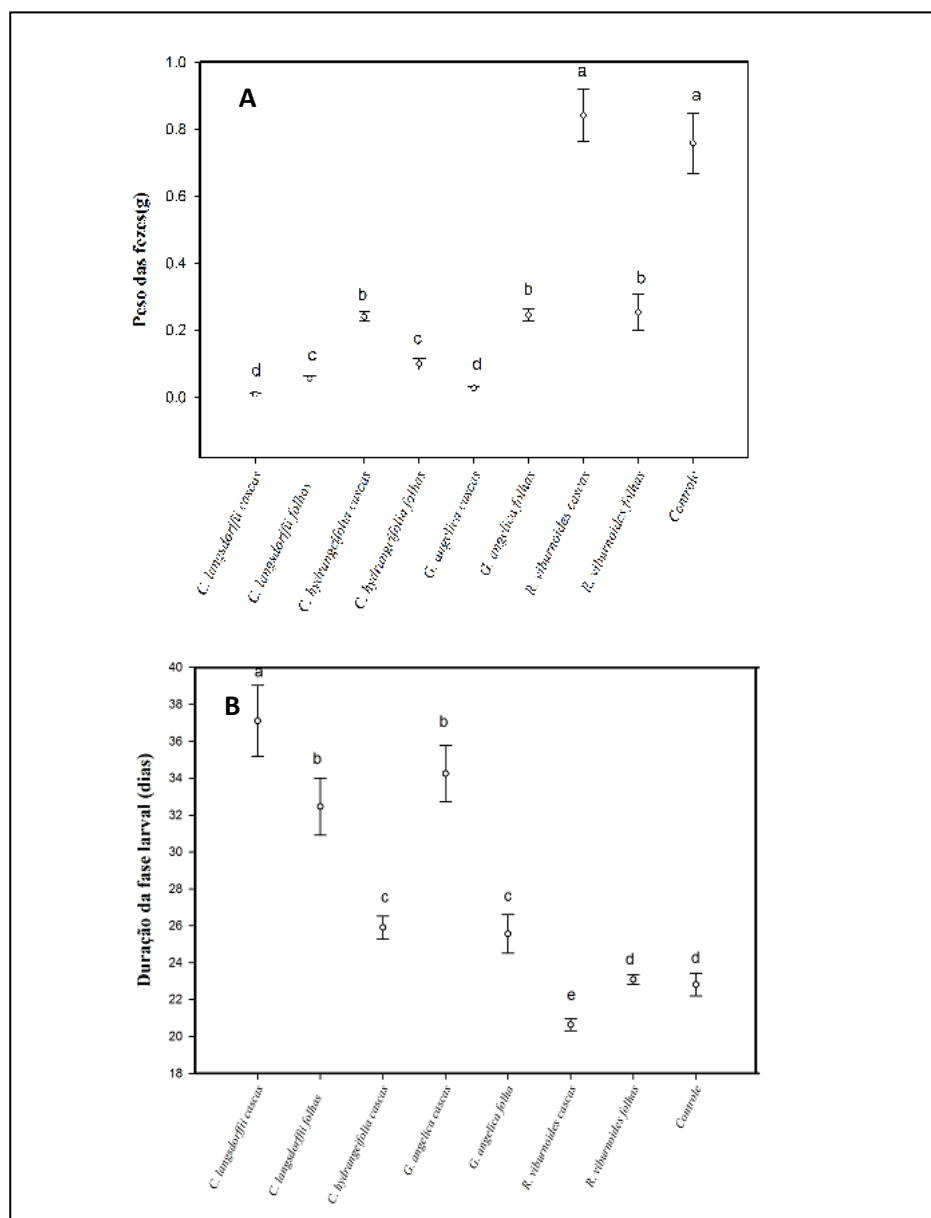
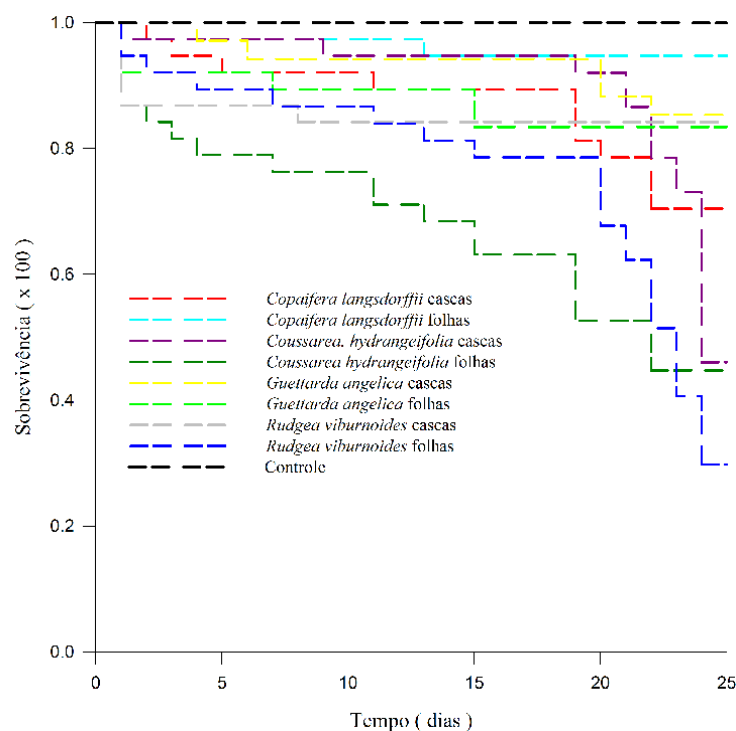


Figura 4 Médias (\pm EP) com mesma letra não diferem entre si pelo teste de Scott-Knott a 5% para A=peso das fezes ($F=76,25$; $df=8$; $p<0,001$); B=duração da fase larval ($F=37,02$; $df=7$; $p<0,001$) de lagartas alimentadas com dieta artificial contendo os extratos aquosos. ($n=5$ /tratamento)

A partir da análise de sobrevivência, construída por meio do estimador Kaplan-Meier, foi possível constatar que os extratos aquosos testados causaram menor tempo médio de sobrevivência nas lagartas de *S. frugiperda*, quando comparados com o tratamento controle ($\chi^2=143,826$; $df=8$, $P<0,001$) (Figura 5). Foi estimado também o tempo letal mediano (TL₅₀) de cada tratamento, sendo que os extratos que se apresentaram mais tóxico foram aqueles provenientes das folhas de *C. hydrangeifolia*, *R. viburnoides* e casca de *C. hydrangeifolia* (Tabela 3).



C. langsdorffii cascas (n=38); *C. langsdorffii* folhas (n=38); *C. hydrangeifolia* folhas (n=38); *C. hydrangeifolia* cascas (n=38); *G. angelica* cascas (n=38); *G. angelica* folhas (n=38); *R. viburnoides* cascas (n=38); *R. viburnoides* folhas (n=38); Controle (n=38)

Figura 5 Análise de sobrevivência de lagartas de *S. frugiperda* até 25 dias após o início do experimento, calculada pelo procedimento de curva de sobrevivência do estimador Kaplan-Meier ($\chi^2=143,826$; $df=8$, $P<0,001$)

Tabela 3 Tempo letal mediano (dias) das lagartas de *S. frugiperda* alimentadas com dieta contendo os extratos de folhas e cascas de espécies vegetais

TRATAMENTO	TL₅₀	95% Conf. Lower	95% Conf. Upper
<i>C. langsdorffii</i> cascas	>25,00	40,303	45,697
<i>C. langsdorffii</i> folhas	>25,00	35,360	56,640
<i>C. hydrangeifolia</i> cascas	24,00	23,011	24,989
<i>C. hydrangeifolia</i> folhas	22,00	15,993	28,007
<i>G. angelica</i> cascas	>25,00	34,341	37,659
<i>G. angelica</i> folhas	>25,00	32,000	32,000
<i>R. viburnoides</i> cascas	>25,00	36,000	36,000
<i>R. viburnoides</i> folhas	23,00	21,539	24,461

Outro aspecto observado principalmente nos extratos aquosos de folhas de *R.viburnoides* e cascas de *R. viburnoides* e *C. hydrangeifolia* foi que muitas pupas oriundas das lagartas submetidas a esses tratamentos sofreram deformações (Figura 6). Martinez e Endem (2001) encontraram anomalias morfológicas em pupas de *S. littoralis*, oriundas de lagartas que foram alimentadas com dieta tratada com azadiractina e atribuiu os resultados ao fato de que a azadiractina afeta o sistema neurosecretor e pode matar o inseto por um distúrbio na regulação de ecdisteroides.



Figura 6 Pupas com deformações morfológicas oriundas de lagartas submetidas aos extratos aquosos de folhas de *R.viburnoides* e cascas de *R. viburnoides* e *C. hydrangeifolia*

As lagartas que foram alimentadas com dieta contendo o extrato aquoso das folhas de *C. hydrangeifolia* apresentaram alta taxa de mortalidade não alcançando a fase pupal. Houve redução significativa de sobrevivência das pupas oriundas de extratos aquosos de cascas de *C. hydrangeifolia* e *R. viburnoides*, e folhas de *R. viburnoides* em relação ao controle ($F= 25,507$; $df=7$; $P<0,001$) (Figura 7B). Esses tratamentos também apresentaram pupas com peso muito reduzido em relação ao controle ($F=27,70$; $df=7$; $P<0,001$) (Figura 7A). Os demais tratamentos não diferiram do controle em relação à sobrevivência pupal, obtendo uma viabilidade média de 86,76% (Figura 7B). A duração do período pupal de todos os tratamentos não sofreu alteração em relação ao tratamento controle, sendo verificada uma duração média de 11,3 dias ($F=0,640$; $df=4$; $P=0,640$) (Figura 8).

A redução da viabilidade de pupas, pode estar relacionada à alimentação na fase de lagarta, uma vez que os extratos podem ter provocado deficiência nutricional, acarretando na formação de pupas com peso reduzido em relação ao tratamento controle. Tirelli et al. (2010) observaram redução na percentagem de sobrevivência durante a fase de pupa oriunda de lagartas que ingeriram a fração tânica de *Schinus terebinthifolius* Raddi (Anacardiaceae) e atribuíram esse fato em função da menor excreção de fezes observada para esses insetos durante a fase larval.

Os extratos aquosos de cascas e folhas de *C. langsdorffii* e *G. angelica* não reduziram a sobrevivência desses insetos na fase pupal. Segundo Rodriguez e Vendramim (1996), a não redução na viabilidade das pupas seria em razão de que o efeito das plantas inseticidas na sobrevivência dos insetos é mais significativo na fase larval do que na pupal, pois é na fase larval que o inseto ingere os compostos químicos presentes nos extratos. Alves et al. (2012) verificaram que extratos metanólicos das folhas e cascas dos frutos de *C. langsdorffii* incorporados em dieta artificial e fornecidos a lagartas de 1º e 2º instares não afetaram a sobrevivência no período pupal e atribuíram isso em função da baixa atividade dos insetos nesse estágio, reduzindo a toxicidade de agentes químicos nessa fase.

A redução no peso das pupas das lagartas submetidas aos extratos aquosos de folhas de *R. viburnoides* e cascas de *R. viburnoides* e *C. hydrangeifolia*, pode ser em função de alterações provocadas na fase larval. Segundo Lima et al. (2006) o peso das pupas está relacionado ao desempenho do inseto na fase larval, que em função do aumento ou redução do consumo de alimento pelas lagartas aumenta ou diminui também o peso das pupas. Fato que foi constatado neste trabalho, uma vez que houve redução no consumo alimentar de lagartas submetidas aos extratos aquosos das cascas de *C. hydrangeifolia* e das folhas de *R. viburnoides*, sem contudo haver um prolongamento do estágio larval como mecanismo de compensação para assimilação adequada de nutrientes, produzindo pupas com peso bastante reduzido em relação às lagartas submetidas ao tratamento controle.

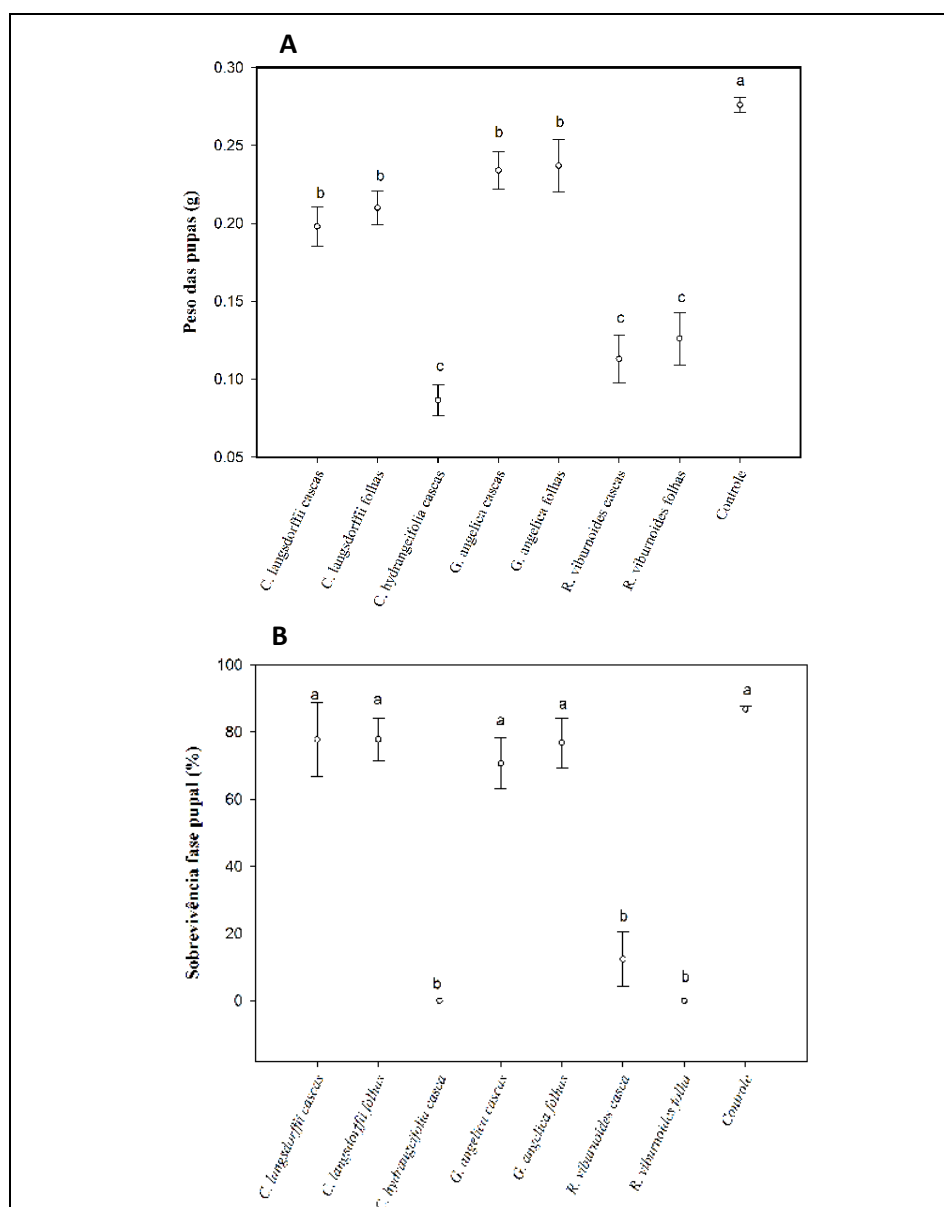


Figura 7 Médias (\pm EP) com mesma letra não diferem entre si pelo teste de Scott-Knott a 5% para: A= peso das pupas ($F=27,70$; $df=7$; $P<0,001$), B=sobrevivência no estágio pupal ($F=25,50$; $df=7$; $P<0,001$). ($n=5$ /tratamento)

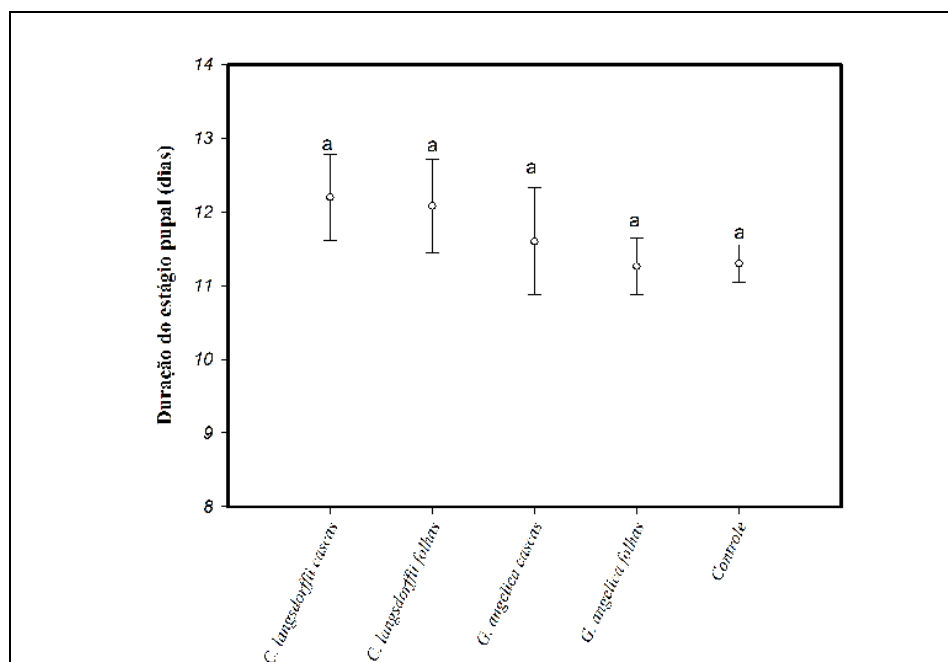


Figura 8 Médias (\pm EP) com mesma letra não diferem entre si pelo teste de Scott–Knott a 5% para duração do estágio pupal. Não significativo ($F=0,640$; $df=4$; $P=0,640$). ($n=5$ /tratamento)

Quanto aos efeitos dos extratos aquosos sobre variáveis nutricionais de *S. frugiperda*, verificou-se que a quantidade de alimento ingerido por grama de peso corpóreo do inseto por dia (RCR) foi maior em todos os tratamentos em relação ao controle. Tal resultado indica que o inseto necessitou se alimentar de uma quantidade maior de alimento para ter o mesmo ganho de peso. A RCR das lagartas submetidas ao extrato aquoso de cascas de *C. langsdorffii* foi cerca de 13 vezes maior em comparação com o controle. O aumento da RCR, observada em todos os tratamentos, foi resultado da maior quantidade de alimento gasto em metabolismo por grama de peso corpóreo (RMR) quando comparado ao tratamento controle. O aumento da taxa metabólica relativa (RMR) pode ser em função do prolongamento da fase larval e também um mecanismo para aumentar a assimilação de nutrientes (Tabela 4).

Também foi verificada menor eficiência de conversão do alimento ingerido (ECI) que representa a percentagem de alimento ingerido que é convertido em biomassa (Tabela 4). A redução na ECI indica que mais alimento está sendo metabolizado para energia e menos está sendo convertido em massa corporal. Segundo Kogan (1980) a presença de aleloquímicos no alimento pode influenciar a capacidade do inseto consumir e digerir o alimento.

De forma análoga, houve redução na eficiência de conversão do alimento digerido convertido em biomassa (ECD) para os tratamentos das cascas de *C. langsdorffii* e *G. angelica*, folhas de *C. langsdorffii* e *C. hydrangeifolia*. Houve aumento do custo metabólico, provocado por todos os extratos aquosos, que indica a porcentagem de alimento metabolizado em energia para a manutenção dos processos vitais do inseto, representado pelo inverso da ECD. O custo metabólico das lagartas que ingeriram extrato aquoso de *C. langsdorffii* foi superior a 95 %, ou seja, quase todo alimento consumido por essas lagartas foi utilizado para produção de energia. Rossi et al. (2012) verificaram que lagartas de *S. frugiperda* que se alimentaram de extratos de folhas de mamona reduziram o consumo alimentar e ECI, mas aumentaram RCR e RMR. A redução na eficiência de conversão do alimento digerido (ECD) e o aumento no na taxa de consumo relativo (RCR) indicam que as lagartas, alimentadas com dieta contendo os extratos aquosos requerem maior quantidade de alimento para obter o mesmo peso se comparada às lagartas do tratamento controle. Essa redução da ECD e ECI provavelmente ocorreu pelo desvio de energia para utilização no mecanismo de detoxificação, justificando o aumento do custo metabólico.

Apesar da redução na eficiência de conversão do alimento observada em todos tratamentos com extratos aquosos, foi constatado um aumento da digestibilidade aparente (AD) em todos os extratos, exceto para as cascas de *R. viburnoides*, porém com um maior custo metabólico (CM) (Tabela 4). Esse fato pode ser explicado no trabalho de Reynolds, Nottingham e Stephens (1985), que

constataram que lagartas de *M. sexta* aumentam o tempo de retenção do alimento no intestino para otimizar a absorção de nutrientes. Os resultados encontrados nesse ensaio corroboram com os trabalhos realizados por Rossi et al. (2012), os quais constataram que lagartas de *S. frugiperda* que se alimentaram de extratos de folhas de mamona apresentaram redução do consumo alimentar e aumento da digestibilidade aparente.

A concentração de proteínas nas fezes de lagartas de *S. frugiperda*, 16 dias após o início do experimento, foi maior nos tratamentos provenientes das folhas de *C. hydrangeifolia*, *R.viburnoides*, *C. langsdorffii* e cascas de *C. langsdorffii*, sendo encontradas médias de 0,741; 0,797; 0,816 e 1,044 $\mu\text{g}\cdot\text{mg}^{-1}$, respectivamente. Para o tratamento controle a média foi de 0,619 $\mu\text{g}\cdot\text{mg}^{-1}$. Os teores de proteína encontrados nas fezes dos demais tratamentos não diferiram estatisticamente da testemunha ($F=5,026$; $df=8$; $P<0,001$) (Tabela 5). O aumento na concentração de proteínas nas fezes das lagartas de *S. frugiperda* pode estar relacionado à presença de inibidores de atividade de enzimas presentes nos extratos aquosos.

Tabela 4 Efeito dos extratos aquosos sobre parâmetros nutricionais de lagartas de *S. frugiperda* que se alimentaram de dieta acrescida de extratos aquosos de *C. langsdorffii*, *C. hydrangeifolia*, *G. angelica* e *R. viburnoides*

Parâmetros nutricionais ¹						
Tratamento	RCR	RMR	ECI (%)	ECD (%)	AD (%)	CM (%)
<i>C. langsdorffii</i> cascas	3,120±0,82 a	3,006±0,82 a	2,737±0,73 c	2,813±0,77 b	97,895±0,61 a	97,187±0,77 a
<i>C. langsdorffii</i> folhas	1,396±0,11 a	1,273±0,11 a	4,585±0,34 c	4,802±0,37 b	95,589±0,56 a	95,198±0,37 a
<i>C. hydrangeifolia</i> cascas	0,497±0,13 b	0,291±0,10 b	15,175±2,66 b	22,595±5,21 a	70,014±3,83 b	77,405±5,21 b
<i>C. hydrangeifolia</i> folhas	0,856±0,09 a	0,730±0,09 a	7,660±0,84 c	8,291±0,94 b	92,526±1,29 a	91,709±0,94 a
<i>G. angelica</i> cascas	2,685±1,61 a	2,458±1,50 a	5,567±1,76 c	5,974±1,90 b	93,959±1,69 a	94,026±1,90 a
<i>G. angelica</i> folhas	0,458±0,07 b	0,291±0,07 b	15,623±3,39 b	23,385±7,46 a	73,759±5,90 b	76,615±7,46 b
<i>R. viburnoides</i> cascas	0,386±0,04 b	0,190±0,03 b	16,960±1,86 b	27,020±3,85 a	64,349±3,37 c	72,980±3,85 b
<i>R. viburnoides</i> folhas	0,327±0,04 b	0,185±0,04 b	20,372±2,42 b	28,648±4,95 a	73,929±4,43 b	71,352±4,95 b
Controle	0,226±0,02 c	0,0739±0,03 c	28,543±2,28 a	50,527±6,39 a	58,694±4,51 c	49,473±6,38 c

¹Médias ±EP seguidas de mesma letra, na coluna, não diferem entre si pelo teste de Scott-Knott a 5% para RCR=taxa de consumo relativo (g/g/dia) (F=18,954; df=8; P<0,001), RMR=taxa metabólica relativa (g/g/dia) (F=17,400; df=8; P<0,001), ECI (%)=eficiência de conversão do alimento ingerido (F=17,545; df=8; P<0,001), ECD (%)=eficiência de conversão do alimento digerido (F=17,318; df=8; P<0,001), AD (%)=digestibilidade aproximada (F=18,963 ; df=8; P<0,001), CM (%)=custo metabólico (F=17,734 ;df=8; P <0,001). (n=5/tratamento)

Tabela 5 Concentração de proteínas nas fezes de lagartas de *S. frugiperda* alimentadas com dieta contendo os extratos aquosos das folhas e cascas de *Copaifera langsdorffii*, *Coussarea hydrangeifolia*, *Guettarda angelica* e *Rudgea viburnoides*

Tratamentos	¹ µg.mg ⁻¹	² (±)EP
<i>C. langsdorffii</i> -cascas	1,044a	0,141
<i>C. langsdorffii</i> -folhas	0,816 b	0,048
<i>C. hydrangeifolia</i> - cascas	0,613 c	0,052
<i>C. hydrangeifolia</i> -folhas	0,741 b	0,066
<i>G. angelica</i> -cascas	0,565 c	0,057
<i>G. angelica</i> -folhas	0,493 c	0,013
<i>R.viburnoides</i> - cascas	0,694 c	0,058
<i>R.viburnoides</i> -folhas	0,797 b	0,068
Controle	0,619 c	0,035

¹Médias seguidas de mesma letra não diferem entre si pelo teste de Scott-Knott a 5%. (F=5,026; df=8; P<0,001). ²Erro padrão da média. (n=4/tratamento)

Alves et al. (2012) constataram que extratos das cascas dos frutos e das folhas de *C. langsdorffii* causaram inibição na atividade de tripsina de *S. frugiperda* e um aumento do teor de proteínas nas fezes das lagartas que se alimentaram desses extratos. Ainda, segundo esses autores, o aumento no teor de proteínas excretadas pelas lagartas, aliado à inibição na atividade de tripsina, evidencia que um dos modos de ação do extrato de *C. langsdorffii* sobre lagartas de *S. frugiperda* seja através da inibição da tripsina.

Para os tratamentos que permitiram a formação de casais adultos, os parâmetros longevidade de machos com médias variando de 11,5 a 13 dias (F=2,166; df=4; P=0,147) (Figura 9A) e de fêmeas com médias variando de 18 a 25 dias (F=1,720; df=4; P=0,222) (Figura 9B), período de pré-oviposição (F=1,298; df=4; P=0,335) (Figura 10A), razão sexual ($\chi^2=2,096$; df=4; P=0,718) (Figura 11), fertilidade (F=1,538; df=4; P=0,264) (Figura 12A) e fecundidade

($F=2,683$; $df=4$; $P=0,094$) (Figura 12B) de *S. frugiperda* não foram afetados pelos extratos. No entanto, verificou-se que houve redução de 5,34 dias no período de oviposição das fêmeas, oriundas de lagartas alimentadas com extrato aquoso de cascas de *G. angelica* em relação ao controle ($F=8,033$; $df=4$; $P<0,004$) (Figura 10B).

As alterações na fase adulta de lagartas de *S. frugiperda* submetidas aos extratos aquosos, foram menos pronunciadas quando comparados com os resultados observados para a fase jovem. Isso pode ser explicado por algum mecanismo de detoxificação mediado por enzimas, conforme relatado no trabalho realizado por (TANZUBIL; MCCAFFERY, 1990).

No teste de preferência alimentar com chance de escolha foi constatada atividade antialimentar, com índices de deterrência variando de 0,27 a 0,42, para as lagartas nos quais foram oferecidos os tratamentos provenientes das cascas de *C. hydrangeifolia* e *R. viburnoides* e das folhas de *C. hydrangeifolia* e *R. viburnoides* (Tabela 6). Levando-se em consideração a redução no consumo de dieta durante a fase larval dos insetos, submetidos a tratamentos com os extratos aquosos de cascas de *C. hydrangeifolia*, e folhas de *C. hydrangeifolia* e *R. viburnoides*, pode-se sugerir que o modo de ação seja devido a antixenose, ou seja, os extratos contêm substâncias que impedem o inseto de alimentar-se adequadamente. No entanto, o aumento no consumo alimentar das lagartas que se alimentaram de dieta contendo extrato aquoso de cascas de *R. viburnoides* aliado a redução no peso desses insetos, pode sugerir que o mecanismo de ação desses metabólitos seja antibiose, ou seja, os extratos apresentam toxinas, inibidores de crescimento e impropriedades de nutrição. Para os tratamentos constituídos das cascas e folhas de *C. langsdorffii* e *G. angelica* as lagartas não evitaram o consumo da área foliar tratada, ou seja, os valores dos índices foram negativos ou próximos de zero. Segundo Magrini et al. (2015), o fato de uma substância não ter efeito deterrente pode contribuir para que o inseto consuma

indiscriminadamente a substância tóxica do extrato. Este efeito é desejável quando o objetivo é introduzir uma substância com ação inseticida.

Assim, os extratos aquosos das folhas de *C. hydrangeifolia* e *R. viburnoides* mostraram-se bastante promissores, pois apresentaram menor TL₅₀ e CL₅₀ em relação aos demais extratos, além de atividade deterrente e aumento no teor de proteínas excretadas nas fezes das lagartas, redução no consumo alimentar e alterações negativas em grande parte das variáveis biológicas avaliadas.

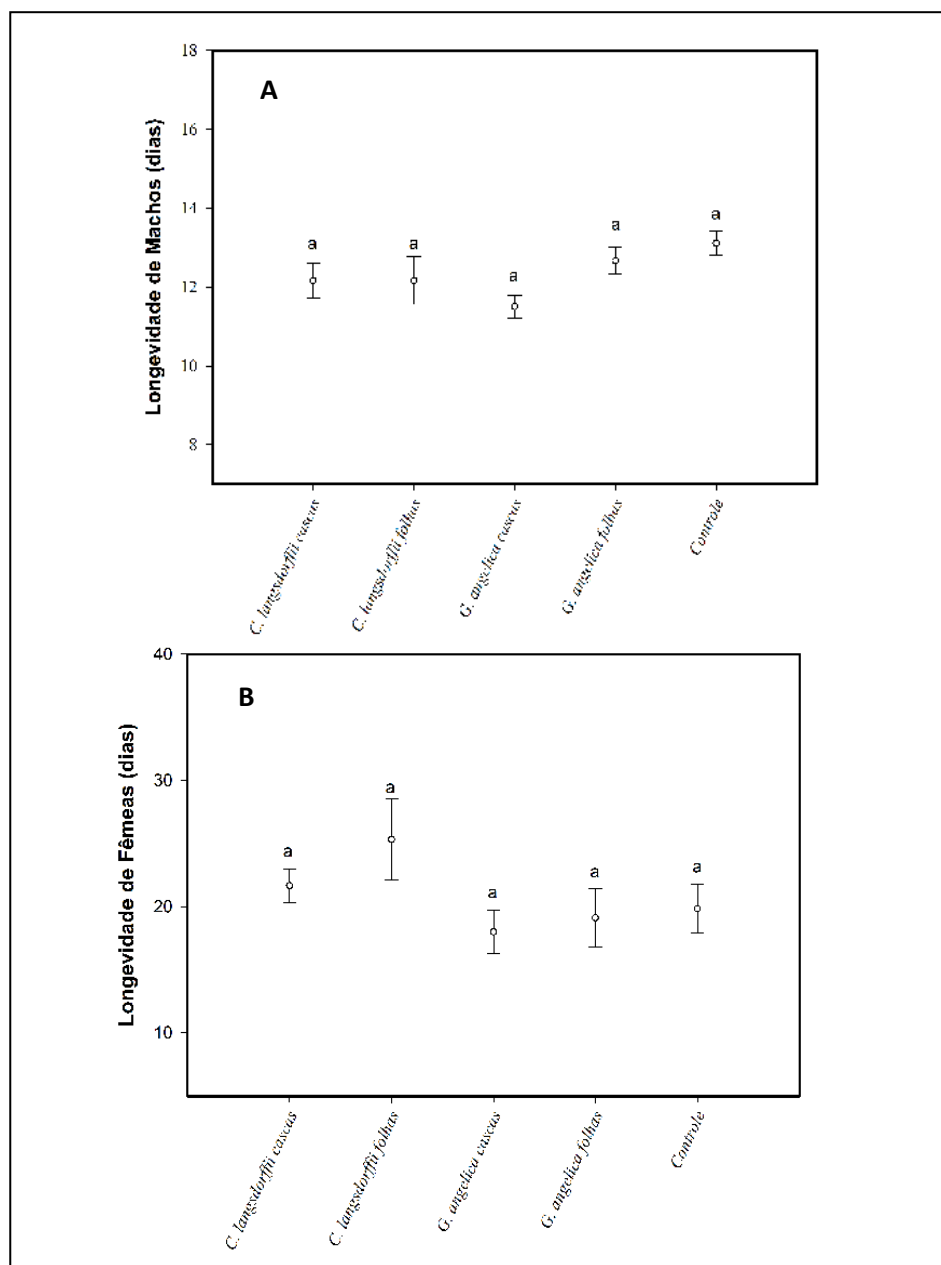


Figura 9 Médias (\pm EP) para A=longevidade de machos ($F=2,166$; $df=4$; $P=0,147$), B=longevidade de fêmeas ($F=1,720$; $df=4$; $P=0,222$). Médias seguidas de mesma letra não diferem entre si pelo teste de Scott-Kotta 5% ($n=5$ /tratamento)

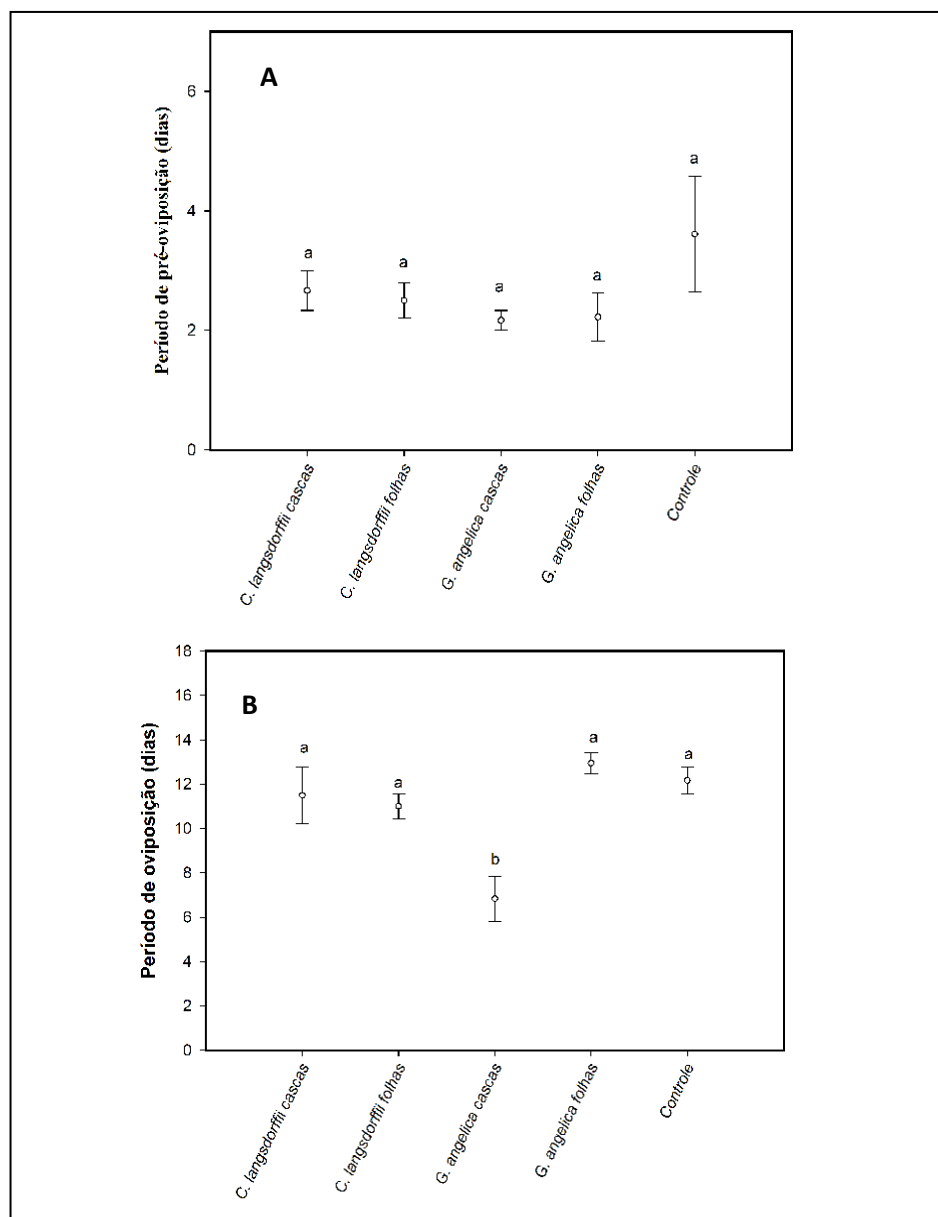


Figura 10 Médias (\pm EP) para A=período de pré-oviposição ($F=1,298$; $df=4$; $P=0,335$), B=período de oviposição ($F=8,033$; $df=4$; $P<0,004$). Médias seguidas de mesma letra não diferem entre si pelo teste de Scott-Kott a 5%. ($n=5$ /tratamento)

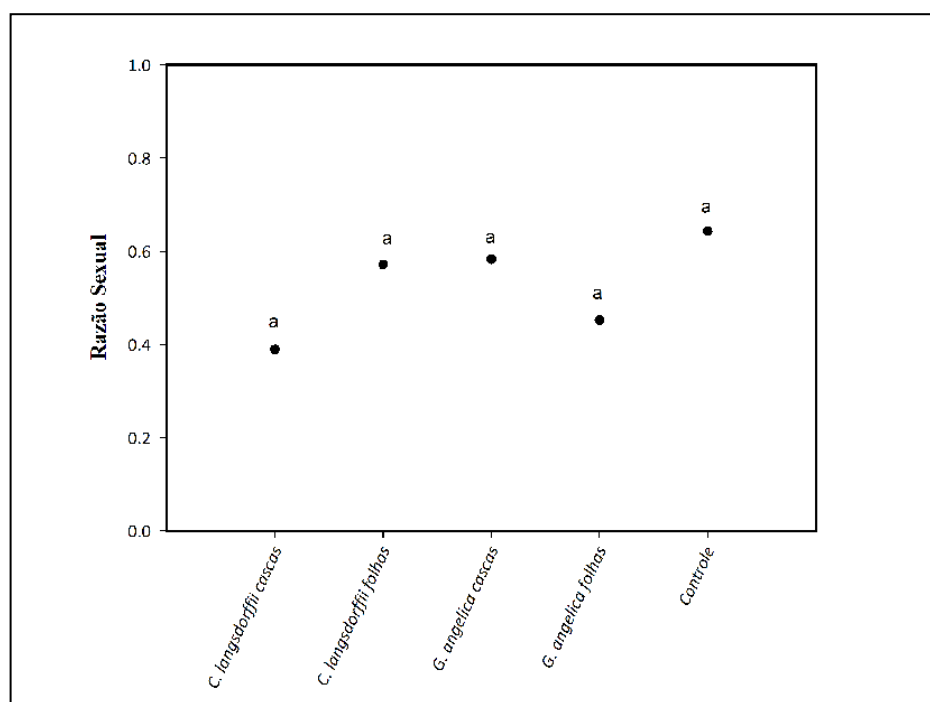


Figura 11 Médias para razão sexual ($\chi^2=2,096$; $df=4$; $P=0,718$) seguidas de mesma letra não diferem entre si pelo teste de Qui-quadrado, $\alpha=5\%$. ($n=5$ /tratamento)

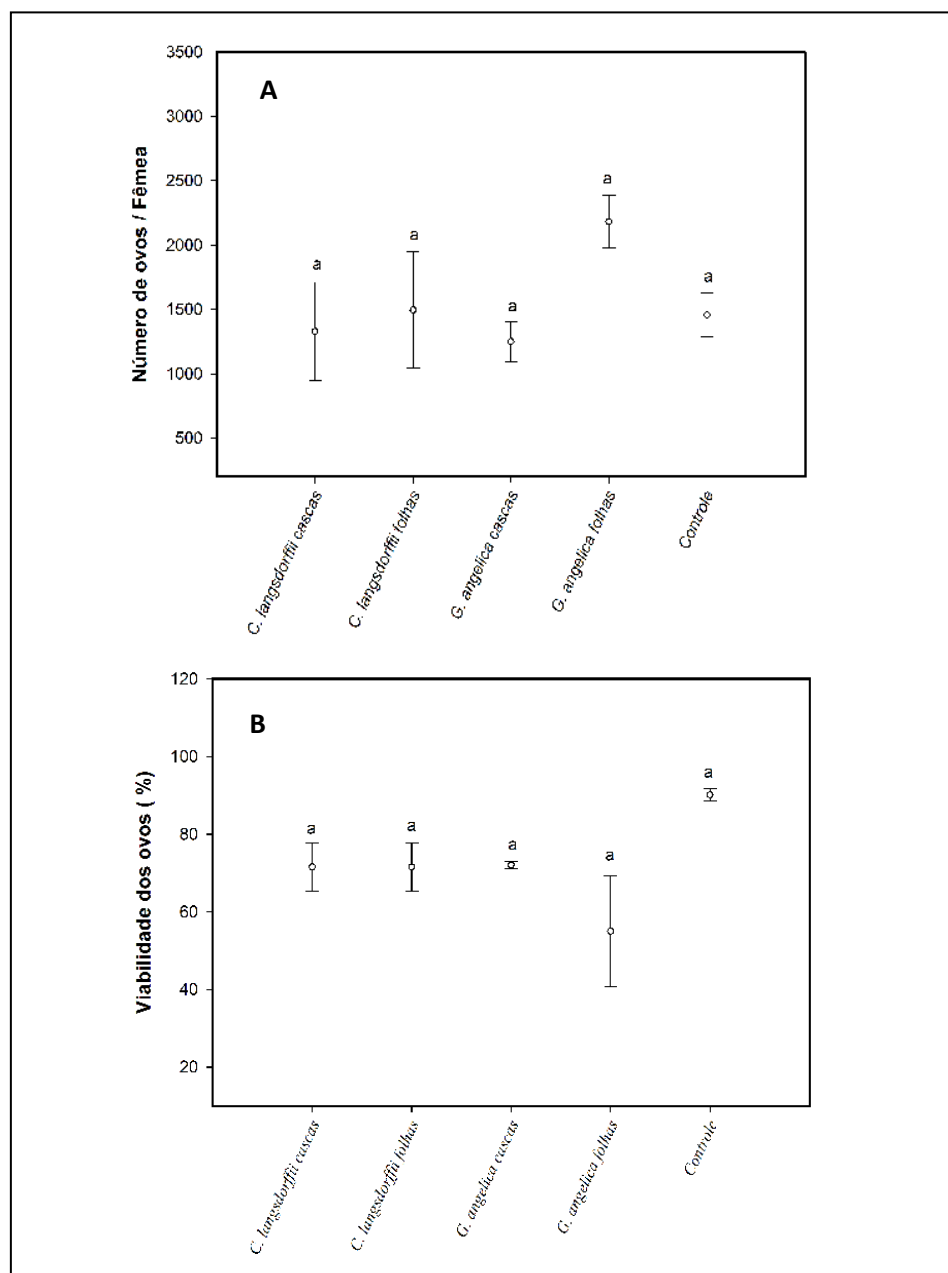


Figura 12 Médias (\pm EP) para A=número de ovos por fêmea ($F=1,538$; $df=4$; $P=0,264$) e B=viabilidade dos ovos ($F=2,683$; $df=4$; $P=0,094$). Médias seguidas de mesma letra não diferem entre si pelo teste de Scott-Kott a 5 %. ($n=5$ /tratamento)

Tabela 6 Índice de deterrência alimentar para lagartas de *S. frugiperda* submetidas a teste de preferência alimentar com livre chance de escolha

Espécie	Parte da planta utilizada	Índice de deterrência¹
<i>Copaiifera langsdorffii</i>	Casca	-0,29
<i>Copaiifera langsdorffii</i>	Folha	-0,19
<i>Coussarea hydrangeifolia</i>	Casca	0,42
<i>Coussarea hydrangeifolia</i>	Folha	0,27
<i>Guettarda angelica</i>	Casca	0,02
<i>Guettarda angelica</i>	Folha	-0,39
<i>Rudgea viburnoides</i>	Casca	0,38
<i>Rudgea viburnoides</i>	Folha	0,34

¹Índice de deterrência=(Ac-At)/(Ac+At). Varia de -1 a 1. (n=10/tratamento)

6 CONCLUSÃO

Os extratos aquosos oriundos das folhas e cascas das espécies *C. langsdorffii*, *C. hydrangeifolia*, *G. angelica* e *R. viburnoides* provocaram efeitos letais e sub-letais em *S. frugiperda*. Destaca-se que os extratos aquosos das folhas de *C. hydrangeifolia* e *R. viburnoides* foram os mais tóxicos para a lagarta-do-cartucho. Os extratos provenientes de cascas de *C. langsdorffii* e folhas de *C. hydrangeifolia*, *R. viburnoides* e *C. langsdorffii* causaram aumento no teor de proteínas excretadas nas fezes dos insetos, logo é possível sugerir que inibidores enzimáticos estejam presentes nos extratos. É possível salientar que os extratos aquosos das cascas e folhas de *C. hydrangeifolia* e *R. viburnoides* causaram deterrência alimentar nas lagartas de *S. frugiperda*, em ensaio realizado com chance de escolha.

Dessa forma, os extratos de cascas e folhas de *C. langsdorffii*, *C. hydrangeifolia*, *G. angelica* e *R. viburnoides* apresentaram toxicidade para *S. frugiperda*, sendo que os extratos aquosos das folhas de *C. hydrangeifolia* e *R. viburnoides* apresentaram resultados mais promissores. Existindo potencial para futuramente serem empregados no controle de insetos.

REFERÊNCIAS

- ALVES, D. S. et al. Toxicity of copaiba extracts to armyworm (*Spodoptera frugiperda*). **African Journal of Biotechnology**, Victoria Island, v. 11, n. 24, p. 6578–6591, 2012.
- ALVES, R. M. et al. Caracterização botânica e química de *Rudgea viburnoides* (Cham .) Benth. (Rubiaceae). **Revista Brasileira de Farmacognosia**, Curitiba, v. 14, n. 1, p. 49–56, 2004.
- ARAÚJO, F. C. V. et al. Terpenos Isolados de *Coussarea platyphylla* Müll. Arg. (Rubiaceae). **Química Nova**, São Paulo, v. 32, n. 7, p. 1760–1763, 2009.
- ÁVILA, C. J.; DEGRANDE, P. E.; GOMEZ, S. A. **Insetos-pragas: reconhecimento, comportamento, danos e controle**. Dourados: Embrapa Milho, 1997. (Informações Técnicas).
- BARBOSA, F. S. et al. Insecticide effects of *Ruta graveolens*, *Copaifera langsdorffii* and *Chenopodium ambrosioides* against pests and natural enemies in commercial tomato plantation. **Acta Scientiarum**, Maringá, v. 33, n. 1, p. 37–43, 2011.
- BARROS, A. V. et al. Avaliação in vitro do potencial antiviral de *Guettarda angelica* contra herpesvírus animais. **Acta Scientiae**, Porto Alegre, v. 40, n. 4, p. 1-8, 2012.
- BECERRA, J. X. The impact of herbivore-plant coevolution on plant community structure. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, Stanford, v. 104, n. 18, p. 7483–7488, 2007.
- BOEKE, S. J. et al. Safety evaluation of neem (*Azadirachta indica*) derived pesticides. **Journal of ethnopharmacology**, Amsterdam, v. 94, n. 1, p. 25–41, 2004.

BRADFORD, M. M. A rapid and sensitive method for quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye-binding. **Analytical Biochemistry**, New York, v. 72, p. 248-254, 1976.

CARVALHO, R. A. et al. Investigating the molecular mechanisms of organophosphate and pyrethroid resistance in the fall armyworm *Spodoptera frugiperda*. **Plos One**, California, v. 8, n. 4, p. e62268, 2013.

CHEVREUIL, L. R. et al. Detecção de inibidores de tripsina e atividade hemaglutinante em sementes de leguminosas arbóreas da amazônia. **Acta Amazonica**, Manaus, v. 39, n. 1, p. 199–206, 2009.

COHEN, A.C. **Insect diets science and technology**. Boca Raton: CRC, 2004. 324 p.

COMPANHIA NACIONAL DE ABASTECIMENTO. **Indicadores da Agropecuária**. Brasília, 2014. v. 23, p. 1- 78.

COSTA, M. A. G. et al. Eficácia de diferentes inseticidas e de volumes de calda no controle de *Spodoptera frugiperda* nas culturas do milho e sorgo cultivados em várzea. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 35, n. 6, p. 1234–1242, 2005.

CRUZ, I. **A lagarta-do-cartucho na cultura do milho**. Sete Lagoas: EMBRAPA/CNPMS, 1995. 45 p. (Circular Técnica, 21).

CRUZ, I. et al. **Monitoramento de parasitoides de lagartas de *Spodoptera frugiperda* (J.E.Smith) (Lepdoptera: Noctuidae) em municípios de Minas Gerais, Brasil**. Sete Lagoas: Embrapa Milho e Sorgo, 2009. 29 p. (Documentos, 92).

CRUZ, I.; FIGUEIREDO, M. L. C.; CRUZ, J. C. C. **Avaliação da importância econômica da lagarta-do-cartucho na cultura do milho cultivado em sistema orgânico**. Sete Lagoas: Embrapa Milho e Sorgo, 2006.

CRUZ, I. **Manejo da resistência de insetos-praga a inseticidas, com ênfase em *Spodoptera frugiperda* (Smith)**. Sete Lagoas: Embrapa Milho e Sorgo, 2002. 15 p. (Documentos, 21).

DIEZ-RODRÍGUEZ, G. I.; OMOTO, C. Herança da resistência de *Spodoptera frugiperda* (J. E. Smith) a Lambda-Cialotrina. **Neotropical Entomology**, Londrina, v. 30, n. 2, p. 311–316, 2001.

DUBEY, N. K. et al. Prospects of botanical pesticides in sustainable agriculture. **Current Science**, Bengaluru, v. 98, n. 4, p. 479–480, 2010.

EL-WAKEIL, N. E. Botanical pesticides and their mode of action. **Gesunde Pflanzen**, Berlin, v. 65, n. 4, p. 125–149, 2013.

FERREIRA, A. D. **SISVAR**: sistema de análise de variância. Versão 5.3. Lavras: UFLA, 2010.

FIDALGO, O.; BONONI, V. L. R. **Técnica de coleta, preservação e herborização de material botânico**. São Paulo: Instituto de Botânica, 1989. 62 p. (Série Manuais, 2).

FILGUEIRAS, C. C. et al. O. Bioactivity of aqueous extracts of *Clibadium sylvestre* (AUBL.) Baill. and *Derris amazonica* Killip on the Aphid *Myzus persicae* (Sulzer, 1776) (Hemiptera: Aphididae). **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 35, n. 6, p. 1059–1066, 2011.

FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION OF THE UNITED NATIONS, Disponível em: <<http://faostat.fao.org/>>. Acesso em: 25 abr. 2014.

GERSHENZON, J.; CROTEAU, R. Terpenoids. In: KELMAN, D.; BENAYAHU, Y.; KASHMAN, Y. Variation in secondary metabolite concentrations in yellow and grey morphs of the red sea soft coral *Parerythoropodium fulvum fulvum*: possible ecological implications. **Journal of Chemical Ecology**, New York, v. 26, n. 5, p. 165-219, 2000.

GONZAGA, A. D. et al. Toxicity of cassava manípueira (*Manihot esculenta* Crantz) and erva-de-rato (*Palicourea marcgravii* St. Hill) to adults of *Toxoptera citricida* Kirkaldy (Homoptera: Aphididae). **Acta amazonica**, Manaus, v. 38, n. 1, p. 101–106, 2008.

GREENE, G. L.; LEPPLA, N. C.; DICKERSON, W. A. Velvetbean cartepillar: a rearing procedure and artificial medium. **Journal of Economic Entomology**, Lanham, v. 69, n. 4, p.487-488, Aug. 1976.

HARBORNE, J.B. **Introduction to Ecological biochemistry**. 2nd ed. London: Academic, 1982. 278 p.

HARDSTONE, M. C.; SCOTT, J. G. A review of the interactions between multiple insecticide resistance loci. **Pesticide Biochemistry and Physiology**, San Diego, v. 97, n. 2, p. 123–128, 2010.

KANIS, L. A. et al. Larvicidal activity of *Copaifera* sp. (Leguminosae) oleoresin microcapsules against *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae) larvae. **Parasitology Research**, Berlin, v. 110, n. 3, p. 1173–1178, 2012.

KESTENHOLZ, C.; STEVENSON, P. C.; BELMAIN, S. R. Comparative study of field and laboratory evaluations of the ethnobotanical *Cassia sophora* L. (Leguminosae) for bioactivity against the storage pests *Callosobruchus maculatus* (F.) (Coleoptera: Bruchidae) and *Sitophilus oryzae* (L.) (Coleoptera: Curculionidae). **Journal of Stored Products Research**, Oxford, v. 43, n. 1, p. 79–86, 2007.

KOGAN, M. Criação de insetos: bases nutricionais e aplicação em programas de manejo de pragas. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE ENTOMOLOGIA, 6., Campinas, 1980. **Anais**. Campinas: Fundação Cargill, 1980. p. 45-75.

KOVENDAN, K. et al. Evaluation of larvicidal and pupicidal activity of *Morinda citrifolia* L. (Noni) (Family: Rubiaceae) against three mosquito vectors. **Asian Pacific Journal of Tropical Disease**, Haikou, v. 2, p. 362–369, 2012. Suppl.

KRISHNAPPA, K. DHANASEKARAN, S.; ELUMALAI, K. Larvicidal, ovicidal and pupicidal activities of *Gliricidia sepium* (Jacq.) (Leguminosae) against the malarial vector, *Anopheles stephensi* Liston (Culicidae: Diptera). **Asian Pacific Journal of Tropical Medicine**, Haikou, v. 5, n. 8, p. 598–604, 2012.

LANDAU, E. C. et al. **Áreas de concentração da produção de milho no Brasil entre 2008 e 2010**. Sete Lagoas: Embrapa Milho e Sorgo, 2012. 21 p. (Boletim de Pesquisa e Desenvolvimento, 58).

LANGENHEIM, J.H. Higher plant terpenoids: a phytocentric overview of their ecological roles. **Journal of Chemical Ecology**, New York, v.20, n.6, p.1223–1280, 1994.

LIMA, F. W. N. et al. Avaliação de acessos de milho para resistência a *Spodoptera frugiperda* (Smith) (Lepidoptera: Noctuidae) em laboratório. **Acta Amazonica**, Manaus, v. 36, n. 2, p. 147-150, 2006.

LORENZI, H. **Árvores brasileiras**: manual de identificação e cultivo de plantas arboreas nativas do Brasil. 4. ed. Nova Odessa: Instituto Plantarum de Estudos da Flora, 2009.

MAGRINI, E. F. et al. Antifeedant activity and effects of fruits and seeds extracts of *Cabralea canjerana canjerana* (Vell.) Mart. (Meliaceae) on the immature stages of the fall armyworm *Spodoptera frugiperda* (JE Smith)

(Lepidoptera: Noctuidae). **Industrial Crops and Products**, Oxford, v. 65, p. 150-158, 2015.

MARTINEZ, S. S.; ENDEM, H. F. Redução do crescimento, deformidades e mortalidade *Spodoptera littoralis* (Boisduval) (Lepidoptera:Noctuidae) causadas por Azadiractina. **Neotropical Entomology**, Piracicaba, v. 30, n. 1, p. 113-125, mar. 2001.

MINORSKY, P. V. Glucosinolates in insect and pathogen defense. **Plant Physiology**, Bethesda, v. 126, p. 465-466, 2001.

MIRESMALLI, S.; ISMAN, M. B. Botanical insecticides inspired by plant-herbivore chemical interactions. **Trends in Plant Science**, Oxford, v. 19, n. 1, p. 29-35, 2014.

MITHÖFER, A.; BOLAND, W. Plant defense against herbivores: chemical aspects. **Annual Review of Plant Biology**, Palo Alto, v. 63, p. 431-50, 2012.

MONTEIRO, J. C. et al. Liver morphology and morphometry and plasma biochemical parameters of wistar rats that received leaf infusion of *Rudgea viburnoides* Benth. (Rubiaceae). **Brazilian Archives of Biology and Technology**, Curitiba v. 52, p. 407-412, 2009.

MORILLO, F.; NOTZ, A. Resistencia de *Spodoptera frugiperda* (Smith) (Lepidoptera : Noctuidae) a lambdacihalotrina y metomil. **Entomotropica**, Maracay, v. 16, n. 2, p. 79-87, 2007.

NTALLI, N. G.; MENKISSOGLU-SPIROUDI, U.; GIANNAKOU, I. Nematicidal activity of powder and extracts of *Melia azedarach* fruits against *Meloidogyne incognita*. **Annals of Applied Biology**, Malden v. 156, n. 2, p. 309-317, 2010.

OLIVEIRA FILHO, A. T. et al. Espécies de ocorrência do domínio do cerrado e da caatinga. In: OLIVEIRA FILHO, A. T.; SCOLFORO, J. R. (Ed.). **Inventário**

Florestal de Minas Gerais: espécies arbóreas da flora nativa. Lavras: UFLA, 2008. cap. 8, p. 541-575.

OLIVEIRA FILHO, A. T. **Neon Trop Tree, flora arbórea da América do Sul cisandina tropical e subtropical:** um banco de dados envolvendo biogeografia, diversidade e conservação. Belo Horizonte: Universidade Federal de Minas Gerais, 2014. Disponível em: <<http://www.icb.ufmg.br/treetatlan/>>. Acesso em: 12 fev. 2015.

PAVELA, R.; VRCHOTOVÁ, N.; SERÁ, B. Growth inhibitory effect of extracts from *Reynoutria sp.* plants against *Spodoptera littoralis* larvae. **Agrociencia**, Cidade do México, v. 42, n. 5, p. 573-584, 2008.

RAFFA, K. F.; BERRYMAN, A. A. The role of host plant resistance in the colonization behavior and ecology of bark beetles (Coleoptera: Scolytidae). **Ecological Monographs**, Ithaca, v. 53, p. 27-49, 1983.

RAJESWARY, M.; GOVINDARAJAN, M. Adulticidal properties of *Pithecellobium dulce* (Roxb.) Benth. (Family: Fabaceae) against dengue vector, *Aedes aegypti* (Linn.) (Diptera: Culicidae). **Asian Pacific Journal of Tropical Disease**, Haikou, v. 4, p. 449-452, 2014. Suppl.

RATTAN, R. S. Mechanism of action of insecticidal secondary metabolites of plant origin. **Crop Protection**, Brunswickv, v. 29, n. 9, p. 913-920, 2010.

R DEVELOPMENT CORE TEAM. **R:** a language and environment for statistical computing. Vienna, 2013. Disponível em: <<http://www.R-project.org/>>. Acesso em: 21 jan. 2014.

RESENDE, D. C. et al. A. Adoção da área de refúgio e manejo de resistência de insetos em milho Bt. **Revista de Política Agrícola**, Brasília, v. 23, n. 1, jan./fev./mar. 2014.

REYNOLDS, S. E.; NOTTINGHAM, S. F.; STEPHENS, A. E. Food and water economy and its relation to growth in fifth-instar larvae of the tobacco hornworm, *Manduca sexta*. **Journal of Insect Physiology**, Oxford, v. 31, n. 2, p.119-127, Mar./Apr. 1985.

RITZ, C. **Package 'drc'**: analysis of dose-response curve data. 2013. Disponível em: <<http://cran.r-project.org/web/packages/drc.pdf>>. Acesso em: 25 jan. 2015.

RODRIGUEZ, C. H.; VENDRAMIM, J. D. Toxicidad de extractos acuosos de Meliaceae en *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae). **Manejo Integrado Plagas**, Turrialba, v. 42, n. 1 p. 14-22, 1996.

ROSA, A. P. S. A.; MARTINS, J. F. S. **Manejo da resistência de *Spodoptera frugiperda* a inseticidas na cultura do milho**: situação atual. Brasília: Embrapa Clima Temperado, 2011. 18 p.

ROSA, A. P. S. A.; BARCELOS, H. T. **Bioecologia e controle de *Spodoptera frugiperda* em milho**. Brasília: Embrapa Clima Temperado, 2012. 30 p. (Documentos, 344).

ROSSI, G. D. et al. Biochemical analysis of castor bean leaf extract and its insecticidal effects against *Spodoptera frugiperda* (Smith) (Lepidoptera: Noctuidae) **Neotropical Entomology**, Londrina., v. 41, n. 6 , p. 503-509, 2012.

SAITO, M. L. et al. Avaliação de Plantas com Atividade Deterrente Alimentar em *Spodoptera frugiperda* (J. E. Smith) e *Anticarsia gemmatalis* Hubner. **Pesticidas: Revista de Ecotoxicologia e Meio Ambiente**, Curitiba, v. 14, p. 1-10, jan./dez. 2004.

SARMENTO, R. A. et al. Revisão da biologia, ocorrência e controle de *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera, Noctuidae) em milho no Brasil. **Bioscience Journal**, Uberlândia, v. 18, n. 2, p. 41-48, 2002.

SCAPINELLO, J. et al. Insecticidal and growth inhibiting action of the supercritical extracts of *Melia azedarach* on *Spodoptera frugiperda*. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, Campina Grande, v. 18, n. 8, p. 866-872, 2014.

SCHWARZ, B.; WRAY, V.; PROKSCH, P. A cyanogenic glycoside from *Canthium schimperianum*. **Phytochemistry**, Oxford, v. 42, n. 3, p. 633–636, 1996.

SIGMA Plot For windows, version 12.5.0.38 **Systat Software**, 2011.

SIMMONDS, M. S. J. et al. The antifeedant activity of clerodane diterpenoids from *Teucrium*. **Phytochemistry**, Oxford, v. 28, n. 4, p. 1069-1071, 1989.

SLANSKY, F. J.; SCRIBER, J. M. Food consumption and utilization. In: KERKUT, G. A.; GILBERT, L. I. (Ed). *Comprehensive insect physiology. Biochemistry and Pharmacology*, Amsterdam, v. 4, p. 165-211, 1985.

SODERLUND, D. M.; BLOOMQUIST, J. R. Neurotoxic actions of pyrethroid insecticides. **Annual Review of Entomology**, Stanford, v. 34, p. 77-96, 1989.

SOUSA, M. P. et al Triterpenoids from *Guettarda Angelica*. **Phytochemistry**, Oxford, v. 23, n. 11, p. 2589–2592, 1984.

SOUZA, R. K. D.; MENDONÇA, A. C. A. M.; SILVA, M. A. P. Aspectos etnobotânicos , fitoquímicos e farmacológicos de espécies de Rubiaceae no Brasil. **Revista Cubana de Plantas Medicinales**, La Habana, v. 18, n. 1, p. 140–156, 2013.

SOUZA, V. C.; LORENZI, H. **Botânica sistemática: guia ilustrado para identificação das famílias de Fanerógamas nativas e exóticas no Brasil, baseado em APG II**. 2. ed. Nova Odessa: Instituto Plantarum, 2008. 703 p.

TANZUBIL, B. P.; MCCAFFERY, R. A. Effects of azadirachtin and aqueous neem seed extracts on survival, growth and development of the African armyworm, *Spodoptera exempta*. **Crop Protection**, Tehran, v. 9, p. 383-386, Oct. 1990.

THACKER, J. R. M. **An introduction to arthropod pest control**. Cambridge: University of Paisley, 2002.

TIRELLI, A. A. et al. Efeitos de frações tânicas sobre parâmetros biológicos e nutricionais de *S. frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae). **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 34, n. 6, p. 1417-1424, nov./dez. 2010.

TOMIZAWA, M.; CASIDA, J. Neonicotinoid insecticide toxicology: mechanisms of selective action. **Annual Review of Pharmacology and Toxicology**, Palo Alto, v. 45, p. 247-268, 2005.

UNITED STATES DEPARTMENT OF AGRICULTURE. **Programa Nacional dos Recursos Genéticos**. Beltsville, 2014. Disponível em :<<http://www.arsgrin.gov/cgi-bin/npgs/html/family.pl?2099>>. Acesso em: 25 abr. 2014.

VALE, F. X. R. et al. QUANT: a software plant disease severity assessment. INTERNATIONAL CONGRESS OF PLANT PATHOLOGY, 8., 2003, Christchurch **Proceedings...** Christchurch: Plant Pathology Society , 2003. p.105.

VETTER, J. Plant cyanogenic glycosides. **Toxicon**, Elmsford, v. 38, n. 1, p. 11–36, 2000.

WALDBAUER, G. P. The consumption and utilization of food by insects. **Advances in Insect Physiology**, San Diego, v. 5, n. 7, p. 229-288, 1968.

WINK, M.; SCHMELLER, T.; LATZ-BRÜNING, B. Modes of action of allelochemical alkaloids: interaction with neuroreceptors, DNA , and other

molecular targets. **Journal of Chemical Ecology**, New York, v. 24, n. 11, p. 1881–1937, 1998.

YAZAKI, K. et al. Secondary transport mechanism for plant secondary metabolites. **Phytochemistry Reviews**, Cham, v. 7, p. 513-524, 2008.

YU, S. J. Insecticide resistance in the fall armyworm, *Spodoptera frugiperda* (J. E. Smith). **Pesticide Biochemistry and Physiology**, San Diego, v. 39, n. 1, p. 84–91, 1991.