

**AVALIAÇÃO DA BIOATIVIDADE DE EXTRATOS DE *Trichilia pallida* E *T. pallens* SOBRE *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith)
(Lepidoptera: Noctuidae)**

Patricia Gabriel¹, Marcio Aurélio Garcia Correia Tavares¹, José Djair Vendramim¹

RESUMO

O objetivo deste trabalho foi avaliar, em laboratório, a bioatividade de extratos vegetais de *Trichilia pallida* e *T. pallens* sobre a lagarta-do-cartucho do milho *Spodoptera frugiperda*. Numa primeira etapa, foram testados extratos aquosos, etanólicos e aquoso/etanólicos (1:1) de folhas e ramos (a 5 %), das duas plantas. Seções de folhas de milho foram imersas nos extratos e após secagem, mantidas em tubos de vidro, sendo inoculada uma lagarta por tubo, num total de 90 por tratamento e avaliada a mortalidade larval. Para a segunda etapa foram selecionados os extratos aquoso/etanólico de folhas e ramos de *T. pallida* e de ramos de *T. pallens* e testados (a 3%), avaliando-se os parâmetros: mortalidade e peso larval, repelência e preferência alimentar das lagartas. Os três extratos reduziram a sobrevivência e o peso larval. O extrato de *T. pallens* foi repelente às lagartas de *S. frugiperda*. Nenhum dos extratos afetou a preferência alimentar das lagartas. Estes extratos aquoso/etanólico de *T. pallida* e *T. pallens* possuem potencial para emprego no MIP da cultura do milho.

Palavras-chave: plantas inseticidas, MIP, extratos vegetais, Meliaceae

¹ Laboratório de Resistência de Plantas a Insetos e Plantas Inseticidas. Departamento de Entomologia, Fitopatologia e Zoologia Agrícola, Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Universidade de São Paulo. C. Postal 9, CEP 13418-900, Piracicaba, SP, Brasil. E-mail: jdvendra@esalq.usp.br

Evaluation of *Trichilia pallida* and *T. pallens* bioactivity in relation to *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith) (Lepidoptera: Noctuidae)

ABSTRACT

This work was done with the objective of evaluating the bioactivity of vegetal extracts from *Trichillia pallida* and from *T. pallens* in relation to fall armyworm *Spodoptera frugiperda* under laboratory conditions. In the first experimental part the aqueous, ethanolic and aqueous/ethanolic (1:1) extracts from leaves and twigs of both vegetal species were researched. Pieces of maize leaves were immersed in one of the extracts (at 5%) or in distilled water (control treatment) during two seconds. After dried, leaves were maintained in glass tubes. One larva was inoculated in each recipient. Ninety larvae were used per treatment and the larval mortality was evaluated. In the second experimental part, the extracts from *T. pallida* (aqueous/ethanolic from leaves and twigs) and the only efficient extract from *T. pallens* (aqueous/ethanolic extract from twigs) were tested (at 3 %). The following parameters were evaluated: mortality, larval weight, larval repellency and larval food preference. The extracts reduced the larval mortality and the larval weight. Aqueous/ethanolic extract from *T. pallens* twigs had repellent effect against *S. frugiperda* larvae, but any one did not present effect on larval food preference. Aqueous/ethanolic extracts from *T. pallida* leaves and branches and from *T. pallens* branches have potential for their use in maize crop IPM.

Key words: insecticidal plants, IPM, vegetal extracts, Meliaceae, pest

INTRODUÇÃO

Spodoptera frugiperda, popularmente conhecida como lagarta-do-cartucho do milho, é uma espécie polífaga, que ataca, entre outras culturas, o milho, podendo reduzir seu rendimento em até 34% (Valicente & Cruz, 1991; Cruz, 1995). O uso indiscriminado de inseticidas sintéticos para o controle dessa praga tem provocado a seleção de populações cada vez mais resistentes aos produtos, tornando-as mais difíceis de serem controladas. Essa realidade leva a buscar alternativas naturais de inseticidas, que causem menos impacto ambiental, não exterminando, mas sim, controlando a espécie, evitando com isso um desequilíbrio ecológico que afetaria ainda mais as plantações, causando prejuízos ao produtor e ao meio ambiente.

Os estudos com inseticidas de origem vegetal evoluíram muito nas últimas décadas. Uma das espécies que tem se destacado e que impulsionou o ressurgimento dos trabalhos nessa linha de pesquisa é a meliácea *Azadirachta indica* comumente conhecida por nim (Martinez, 2002). Atualmente, esta espécie é a mais estudada, tendo seu efeito comprovado sobre uma série de insetos-pragas, inclusive *S. frugiperda*. Os bons resultados verificados com o nim e seu principal composto químico inseticida, a azadiractina, têm estimulado pesquisas com outras plantas da família Meliaceae, dentre as quais se incluem as espécies do gênero *Trichilia* que tem ampla distribuição pelas regiões tropicais das Américas, sendo a grande maioria encontrada no Brasil.

Diversas pesquisas, objetivando sua possível adoção no controle da lagarta-do-cartucho *S. frugiperda*, na cultura do milho, têm demonstrado o potencial dos inseticidas de origem vegetal, especialmente os obtidos a partir de espécies pertencentes à família Meliaceae (Rodríguez & Vendramim, 1997; Prates et al., 2003 e Bogorni & Vendramim, 2005).

Assim, o objetivo desse trabalho foi avaliar a bioatividade de extratos aquosos, etanólicos e aquoso/etanólicos, de folhas e ramos, de

Trichilia pallida e de *T. pallens* em relação a lagartas de *S. frugiperda*, em laboratório.

MATERIAL E MÉTODOS

Os testes foram conduzidos no Laboratório de Plantas Inseticidas do Departamento de Entomologia, Fitopatologia e Zoologia Agrícola da ESALQ/USP, à temperatura de $25 \pm 2^\circ\text{C}$, U.R. do ar: $65 \pm 10\%$ e fotofase de 14 horas. A criação de *S. frugiperda*, iniciada a partir de posturas coletadas no campo, foi mantida em dieta artificial de Burton & Perkins (1972). Periodicamente, foram efetuadas introduções de novas posturas ou lagartas do campo com o intuito de evitar a degeneração da criação.

As estruturas vegetais (ramos e folhas) de *Trichilia pallida* e *T. pallens* foram obtidas em coletas realizadas, respectivamente, no Lajeado das Orquídeas, Sapopema, PR e Fazenda Doralice, Londrina, PR. O material vegetal avaliado nos bioensaios foi seco separadamente em estufa a 40°C , por 48 horas (para os ramos até 96 horas) e posteriormente triturado em moinho de facas, até obtenção de pó. Após a moagem, os pós foram armazenados em vidros hermeticamente fechados e etiquetados. Para preparo do extrato, os pós das estruturas vegetais foram misturados em solução contendo 50% de água destilada e 50% de etanol, seguindo-se agitação para homogeneizar a amostra e manutenção por 24 horas em repouso no solvente para extração e posterior filtragem com tecido fino de *voil* para retirada do material sólido. Após a filtragem, o material resultante foi colocado no rotaevaporador em rotação de 60 RPM e temperatura de 50°C , para a evaporação parcial do solvente (etanol). Os extratos prontos foram utilizados em um período não superior a 48 horas após o preparo.

As folhas de milho usadas nos experimentos foram provenientes de cultivo na área experimental do Setor de Entomologia da ESALQ/USP. Na

primeira etapa foram utilizadas lagartas de primeiro ínstar (pré-alimentadas com folhas de milho por 24 horas).

No primeiro experimento foram testados extratos de folhas e ramos de *T. pallida*, diluídos em etanol e/ou água, num total de sete tratamentos: 1. Extrato aquoso de ramos de *T. pallida*, 2. Extrato aquoso de folhas de *T. pallida*, 3. Extrato etanólico de ramos de *T. pallida*. 4. Extrato etanólico de folhas de *T. pallida*, 5. Extrato aquoso/etanólico (1:1) de ramos de *T. pallida*, 6. Extrato aquoso/etanólico (1:1) de folhas de *T. pallida*, 7. Testemunha (água destilada). No segundo experimento foram utilizados os mesmos tratamentos (solventes), porém com a espécie *T. pallens*.

Em todos os tratamentos foi utilizada uma concentração de 5%. Os extratos foram pulverizados sobre seções (12 cm²) de folhas de milho. Esses extratos foram utilizados por dois dias, sendo substituídos sempre ao terceiro dia, por novo extrato, que recebia o mesmo tratamento descrito acima. As folhas eram trocadas diariamente, por novas folhas tratadas. Folhas de milho pulverizadas com água destilada foram utilizadas como testemunhas. Após o tratamento, lagartas de primeiro ínstar foram colocadas em tubos de vidro (8,5 cm x 2,5 cm), em número de três insetos por tubo, sendo este fechado com algodão hidrófugo. Cada um dos tratamentos foi constituído por 30 tubos de vidro (com três lagartas cada), num total de 90 lagartas. Para tentar homogeneizar ao máximo os tratamentos, os 30 tubos foram divididos em dois grupos. Numa primeira etapa inocularam-se 45 lagartas (três em cada um dos 15 tubos) seqüencialmente do primeiro ao sétimo tratamento, sucessivamente. Na segunda parte, houve uma inversão da seqüência, iniciando-se a inoculação pelo sétimo tratamento até chegar ao primeiro, completando assim os 30 tubos utilizados em cada um dos tratamentos. No terceiro dia, as lagartas sobreviventes foram individualizadas nos recipientes. A eficiência dos tratamentos foi avaliada com base na mortalidade larval ao 7º dia após a

instalação do experimento. Os dados obtidos foram submetidos à análise de variância e as médias comparadas pelo teste de Tukey, a 5% de probabilidade de erro.

Na segunda etapa do experimento foram testados, a 3% de concentração, três extratos: os dois extratos mais eficientes de *T. pallida* (extrato aquoso/etanólico de ramos e de folhas) e o único extrato (aquoso/etanólico de ramos) de *T. palens* com atividade inseticida, os quais, juntamente com a testemunha (água destilada), constituíram os quatro tratamentos usados nessa etapa. Para avaliação da eficiência dos tratamentos, analisou-se a mortalidade larval (ao 7º, 14º dia e ao final da fase), o peso larval (ao 7º dia), a atratividade/repelência e preferência alimentar (consumo). Na avaliação da mortalidade e peso larval foram utilizados os mesmos procedimentos, bem como o número (90) de lagartas utilizadas por tratamento empregados na primeira etapa.

Para os testes de atratividade/repelência e preferência alimentar, foram utilizadas 20 placas de Petri, contendo quatro seções foliares (com 15 cm² de área), sendo três tratadas com os extratos selecionados para essa segunda etapa e um com água destilada. Cada seção foliar foi presa com um pequeno alfinete, sendo as quatro seções distribuídas na placa de modo equidistantes de um ponto central. No teste de repelência, foram liberadas 50 lagartas de primeiro ínstar no centro de cada placa e, após 24 horas, foi contado o número de lagartas encontradas em cada seção foliar (tratamento). No teste de preferência alimentar foi liberada uma lagarta de quarto ínstar no centro de cada placa e após 24 horas, a lagarta foi retirada e as áreas de cada seção foliar foi medida com um medidor de área foliar. Com base na diferença entre a área foliar fornecida e a área que sobrou, calculou-se o consumo de alimento em cada tratamento. Os dados obtidos foram submetidos à análise de variância e as médias comparadas pelo teste de Tukey, a 5% de probabilidade de erro.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

1. Primeira etapa

1.1. Experimento com *T. pallida*

A observação dos dados de mortalidade larval de *S. frugiperda* (Figura 1) permite constatar que todos os extratos à base de ramos e folhas de *T. pallida* foram eficientes, já que os valores de mortalidade em todos eles diferiram daquele registrado na testemunha. Na comparação entre os tratamentos, observa-se que a maior eficiência dentre os tratamentos foi constatada com o uso do extrato aquoso/etanólico de ramos, em que ocorreu mortalidade de 94,44%, embora sem diferir significativamente dos valores constatados para extrato aquoso/etanólico de folhas (80,00%), extrato etanólico de ramos (80,00%) e extrato aquoso de folhas (77,78%). A menor eficiência foi observada para os extratos aquoso de ramos e etanólico de folhas, mas ainda assim os valores encontrados (71,11 e 60,00%, respectivamente) diferiram do registrado na testemunha (36,67%). Roel et al. (2000) avaliaram a atividade inseticida de extratos não aquosos de *Trichilia pallida* sobre *Spodoptera frugiperda*, observando alta mortalidade de lagartas com o uso dos extratos acetônicos de folhas e de ramos, e com extrato metanólico de ramos desta espécie vegetal.

1.2. Experimento com *T. pallens*

Já em relação aos extratos de *T. pallens*, verifica-se que apenas o extrato aquoso/etanólico de ramos foi eficiente, pois foi o único tratamento em que o valor obtido (42,22%) diferiu do encontrado na testemunha (12,22%). Nos demais tratamentos, os valores variaram entre 22,22 e 33,33% e não diferiram nem do extrato aquoso/etanólico e nem da testemunha (Figura 2). Bogorni & Vendramim (2003) avaliaram a bioatividade de extratos aquosos, de seis espécies vegetais pertencentes ao gênero *Trichilia*, em relação a *S. frugiperda*, observando alta mortalidade larval com extratos de folhas de *T. pallens*.

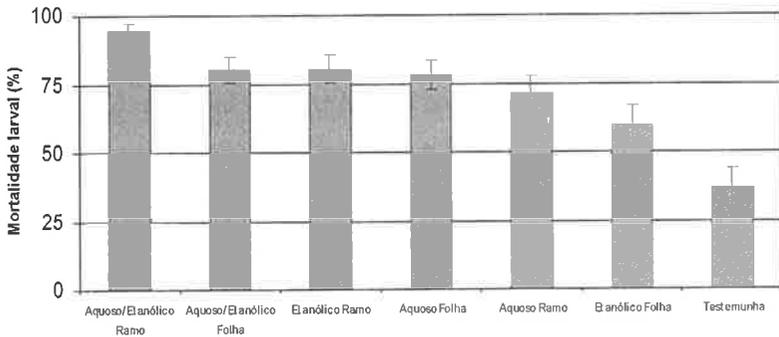


Figura 1. Mortalidade de *Spodoptera frugiperda* alimentada em folhas de milho tratadas com extratos de *T. pallida* a 5%. Médias seguidas pela mesma letra não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

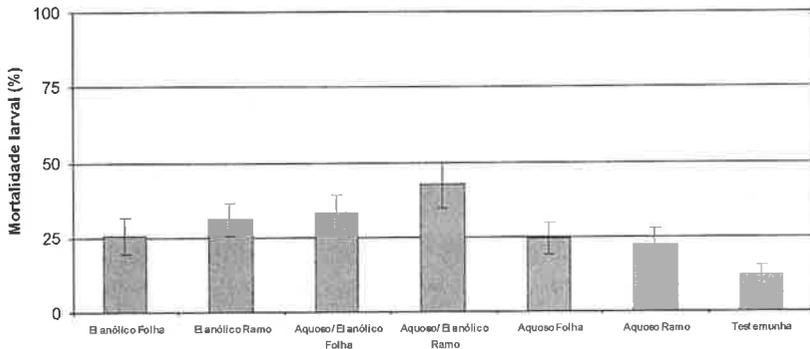


Figura 2. Mortalidade de *Spodoptera frugiperda* alimentada em folhas de milho tratadas com extratos de *T. pallens* 5%. Médias seguidas de mesma letra não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

Assim, com base nos resultados obtidos nos dois experimentos foram selecionados para as etapas seguintes três extratos: aquoso/etanólico de folhas e ramos de *Trichilia pallida* e aquoso/etanólico de ramos de *Trichilia pallens*.

2. Segunda etapa

2.1. Efeito dos extratos sobre o desenvolvimento larval

2.1.1. Mortalidade larval

A observação dos dados de mortalidade larval de *S. frugiperda* (Tabela 1) permite constatar que os extratos à base de ramos e folhas de *T. pallida* foram os mais eficientes, já que houve mortalidade de todas as lagartas inoculadas, antes da pupação. Na comparação entre os três tratamentos obtidos com o uso dos solventes água e etanol em mistura, observa-se que embora o maior valor de mortalidade (100%) tenha sido constatado com o uso dos dois extratos (de ramos e de folhas) de *T. pallida*, também com o extrato de ramos de *T. pallens*, ocorreu alta mortalidade larval (93,33%). A mortalidade na testemunha, por outro lado, foi de 15,55%, o que indica que o experimento foi realizado em boas condições, ratificando assim a eficiência dos extratos utilizados. Embora as médias dos três tratamentos com extrato tenham sido muito próximas quando avaliadas ao final da fase, é possível constatar variações quando as mortalidades são tomadas ao 7º e 14º dia. Assim, verifica-se que, nos dois períodos, os valores constatados nos extratos de *T. pallida* (66,67 e 100% para o extrato de folhas e 56,57 e 98,89% para o extrato de ramos, respectivamente, aos 7 e 14 dias) foram maiores que os correspondentes valores para o extrato de ramos de *T. pallens* (33,33 e 43,33%, respectivamente). Isso evidencia que, embora a eficiência ao final da fase larval, tenha sido semelhante, os extratos de *T. pallida* são mais tóxicos que o de *T. pallens*, visto que matam as lagartas mais rapidamente.

Tabela 1. Mortalidade de lagartas de *Spodoptera frugiperda* alimentadas em folhas de milho tratadas com extratos aquoso/etanólico de *T. pallida* e *T. pallens* a 3%.

Tratamento	Mortalidade (%)	Mortalidade (%)	Mortalidade (%)*
	ao 7º dia	ao 14º dia	total
Folhas de <i>T. pallida</i>	66,67 ± 5,11 a	100,00 ± 0,0 a	100,00 ± 0,0 a
Ramos de <i>T. pallida</i>	56,57 ± 5,65 a	98,89 ± 1,11 a	100,00 ± 0,0 a
Ramos de <i>T. pallens</i>	33,33 ± 6,46 b	43,33 ± 5,88 b	93,33 ± 3,61 a
Testemunha	11,11 ± 3,32 c	13,33 ± 3,61 c	15,55 ± 3,45 b

* Médias seguidas pela mesma letra nas colunas não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

2.1.2. Peso larval

Conforme se pode observar (Figura 3), em todos os tratamentos com extrato, as lagartas de *S. frugiperda* apresentaram, ao 7º dia, peso inferior (variável entre 1,33 e 3,93 mg) ao observado na testemunha (14,36 mg), evidenciando que mesmo as lagartas sobreviventes nos referidos tratamentos apresentavam o seu desenvolvimento afetado quando comparado ao tratamento sem extrato. Torrecillas & Vendramim (2001), estudando o efeito inseticida de extratos aquosos de ramos de *Trichilia pallida* sobre *S. frugiperda*, em dois genótipos de milho, observaram redução da sobrevivência, do peso larval e prolongamento do período de desenvolvimento, com o uso do extrato a 0,1 % de concentração.

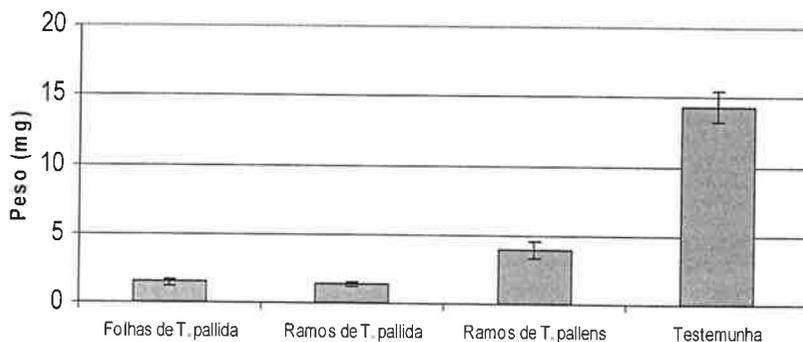


Figura 3. Peso de lagartas de *Spodoptera frugiperda*, ao 7º dia após a instalação do ensaio, alimentadas em folhas de milho tratadas com extratos aquoso/etanólico de *T. pallida* e *T. pallens* a 3%. Médias seguidas pela mesma letra não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

2.2. Efeito dos extratos sobre a preferência alimentar

Não houve efeito dos extratos sobre a preferência alimentar das lagartas de *S. frugiperda*, já que o consumo larval nas folhas tratadas (variáveis entre 0,71 e 2,53 cm²) não diferiu do valor constatado na testemunha (2,20 cm²) (Figura 4). Essa informação é muito importante visto que, com base nela, é possível inferir que, embora as lagartas sejam intoxicadas pelos extratos (Tabela 1), estes não inibem a sua alimentação.

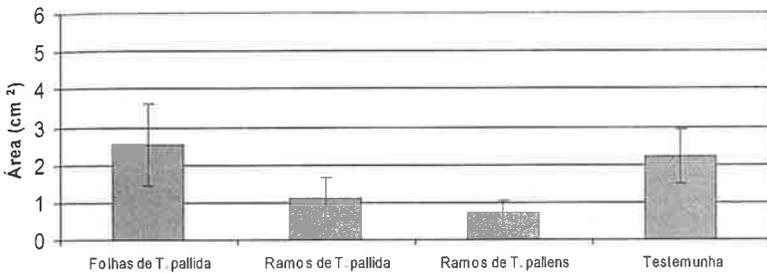


Figura 4. Teste de preferência de lagartas de *Spodoptera frugiperda*, alimentadas em folhas de milho tratadas com extratos aquoso/etanólico de *T. pallida* e *T. pallens* a 3%. Não houve diferença significativa entre as médias pelo teste de Tukey ($P \geq 5\%$)

Estes resultados são semelhantes aos encontrados por Bogorni (2003), o qual não constatou efeito sobre a preferência alimentar das lagartas, em folhas de milho tratadas com extratos aquosos de folhas e ramos de *T. pallida* e *T. pallens*.

2.3. Efeito dos extratos sobre a atratividade/repelência larval

O único extrato que afetou a orientação das lagartas de primeiro instar de *S. frugiperda*, durante o processo de seleção hospedeira para alimentação, foi o extrato aquoso/etanólico de ramos de *T. pallens*, no qual foram encontradas 18,83% das lagartas liberadas se alimentando, sendo esse valor significativamente inferior aos registrados no extrato aquoso/etanólico de folhas de *T. pallida* (26,50%), no extrato aquoso/etanólico de ramos de *T. pallida* (26,59%) e na testemunha (28,07%) (Figura 5). Embora, as variações sejam pequenas, os dados sugerem que o extrato aquoso/etanólico de ramos de *T. pallens* pode apresentar alguma substância volátil que inibe o deslocamento do inseto durante a seleção do substrato alimentar.

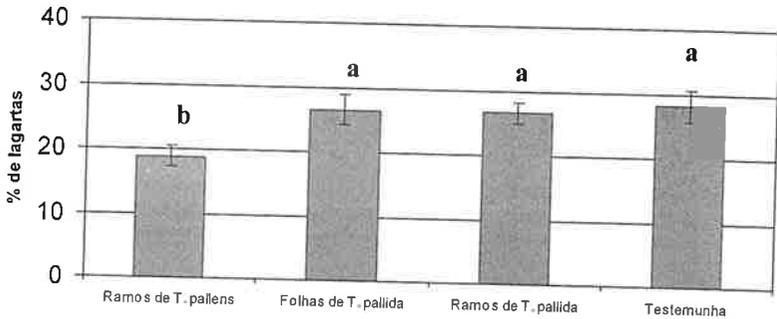


Figura 5. Teste de repelência de lagartas de *Spodoptera frugiperda*, alimentadas em folhas de milho tratadas com extratos aquoso/etanólico de *T. pallida* e *T. pallens* a 3%. Médias seguidas pela mesma letra não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

CONCLUSÕES

De acordo com os resultados obtidos, pode-se concluir que os extratos aquoso/etanólico de folhas e ramos de *T. pallida* e de ramos de *T. pallens* apresentam boas perspectivas para sua adoção futura dentro de um sistema de manejo integrado de *S. frugiperda* em milho.

AGRADECIMENTOS

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) pela concessão de bolsa de estudos aos três autores.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- BOGORNÍ, P.C.; VENDRAMIM, J.D., 2003. Bioatividade de extratos aquosos de *Trichilia* spp. sobre *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith) (Lepidoptera: Noctuidae) em milho. **Neotrop. Entomol.**, 32 (4): 665-669.
- BOGORNÍ, P.C. Efeito de extratos aquosos de *Trichilia* spp. sobre o desenvolvimento de *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith) em milho. Piracicaba, 2003. 65p. **Tese (Doutorado)** - Escola Superior de agricultura "Luiz de Queiroz", Universidade de São Paulo.

- BOGORNI, P.C.; VENDRAMIM, J.D., 2005. Efeito subletal de extratos aquosos de *Trichilia* spp. sobre o desenvolvimento de *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith) (Lepidoptera: Noctuidae) em milho. **Neotrop. Entomol.**, vol.34 (2): 311-317.
- BURTON, R.L.; PERKINS, W.D. 1972. WSB, a new laboratory diet for the corn earworm and the fall armyworm. **J. Econ. Entomol.**, 65(2): 385-386.
- CRUZ, I. 1995. **A lagarta-do-cartucho na cultura do milho**. EMBRAPA – CNPMS, Sete Lagoas. 45p. (Circular Técnica, 21).
- MARTINEZ, S.S. 2002. (ed.). **O Nim - *Azadirachta indica*: natureza, usos múltiplos, produção**. Londrina, Instituto Agronômico do Paraná, 142 p.
- PRATES, H.C.; VIANA, P.A.; WAQUIL, J.M., 2003. Atividade de extrato aquoso de folhas de nim (*Azadirachta indica*) sobre *Spodoptera frugiperda*. **Pesq. Agropec. Bras.**, 38(3): 437-439.
- RODRÍGUEZ H., C.; VENDRAMIM, J.D., 1997. Avaliação da bioatividade de extratos aquosos de Meliaceae sobre *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith). **Revista de Agricultura**, 72(3): 305-318.
- ROEL, A.R.; VENDRAMIM, J.D.; FRIGHETTO, R.T.S.; FRIGHETTO, N., 2000. Atividade tóxica de extratos orgânicos de *Trichilia pallida* (Swartz) (Meliaceae) sobre *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith). **An. Soc. Entomol. Brasil**, 29(4): 799-808.
- TORRECILLAS, S.M.; VENDRAMIM, J.D., 2001. Extrato aquoso de ramos de *Trichilia pallida* e o desenvolvimento de *Spodoptera frugiperda* em genótipos de milho. **Sci. Agric.**, 58(1): 27-31.
- VALICENTE, F.H.; CRUZ, I. 1991. **Controle biológico da lagarta-do-cartucho, *Spodoptera frugiperda*, com o baculovírus**. EMBRAPA-CNPMS, Sete Lagoas. 23p. (Circular Técnica, 15).