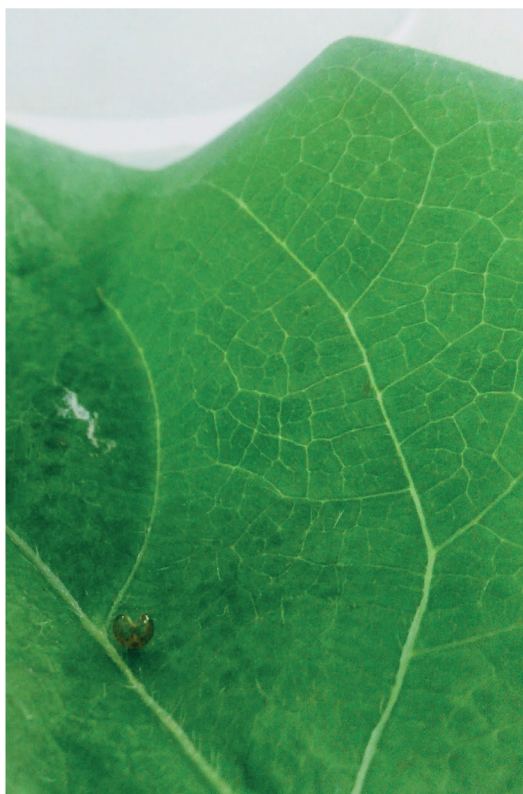


Bioatividade de extratos de plantas sobre lagartas
de *Anticarsia gemmatalis* e *Helicoverpa armigera*



***Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária
Embrapa Meio Ambiente
Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento***

**BOLETIM DE PESQUISA
E DESENVOLVIMENTO
78**

Bioatividade de extratos de plantas sobre lagartas
de *Anticarsia gemmatalis* e *Helicoverpa armigera*

*Jeanne Scardini Marinho-Prado
Sonia Claudia Nascimento Queiroz
Simone Souza Prado
Marta Camargo Assis*

***Embrapa Meio Ambiente
Jaguariúna, SP
2018***

Exemplares desta publicação podem ser adquiridos na:

Embrapa Meio Ambiente
Rodovia SP-340, Km 127,5, Tanquinho Velho
Caixa Postal 69, CEP: 13918-110, Jaguariúna, SP
Fone: +55 (19) 3311-2610
Fax: +55 (19) 3311-2640
www.embrapa.br/meio-ambiente/
SAC: www.embrapa.br/fale-conosco/sac

Comitê Local de Publicações
da Embrapa Meio Ambiente

Presidente
Ana Paula Contador Packer

Secretária-Executiva
Cristina Tiemi Shoyama

Membros
*Rodrigo Mendes, Joel Leandro de Queiroga,
Marco Antonio Ferreira Gomes, Maria Cristina
Tordin, Nilce Chaves Gattaz, Ricardo Antonio
Almeida Pazianotto, Vera Lucia Ferracini, Victor
Paulo Marques Simão*

Revisão de texto
Nilce Chaves Gattaz

Normalização bibliográfica
Victor Paulo Marques Simão, CRB-8/5139

Projeto gráfico
Carlos Eduardo Felice Barbeiro

Editoração eletrônica
Silvana Cristina Teixeira

Foto da capa
Jeanne Scardini Marinho-Prado

1ª edição eletrônica (2018)

Todos os direitos reservados.

A reprodução não autorizada desta publicação, no todo ou em parte,
constitui violação dos direitos autorais (Lei nº 9.610).

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)

Embrapa Meio Ambiente

Bioatividade de extratos de plantas sobre lagartas de *Anticarsia gemmatilis*
e *Helicoverpa armigera* / Jeanne Scardini Marinho-Prado... [et al.]. –
Jaguariúna: Embrapa Meio Ambiente, 2018.

22 p.: 16cm x 22cm. - (Boletim de Pesquisa e Desenvolvimento / Embrapa
Meio Ambiente. ISSN 1516-4675 ; 78).

1. Extrato vegetal. 2. Controle biológico. 3. *Anticarsia gemmatilis*. 4.
Helicoverpa armigera. I. Marinho-Prado, Jeanne Scardini. II. Série.

CDD (21 ed.) 632.96

© Embrapa, 2018

Sumário

Resumo5

Abstract6

Introdução.....7

Material e Métodos8

Resultados e Discussão12

Conclusões.....19

Agradecimentos.....19

Referências20

Bioatividade de extratos de plantas sobre lagartas de *Anticarsia gemmatalis* e *Helicoverpa armigera*

Jeanne Scardini Marinho-Prado¹

Sonia Claudia Nascimento Queiroz²

Simone Souza Prado³

Marta Camargo Assis⁴

Resumo - Os extratos vegetais de quatro espécies das famílias Asteraceae e Verbenaceae foram avaliados quanto a bioatividade sobre as lagartas *Anticarsia gemmatalis* Hubner, 1818 (Lepidoptera: Erebididae) e *Helicoverpa armigera* (Hubner) (Lepidoptera: Noctuidae). Os extratos hexânicos, diclorometânicos, metanólicos e aquosos de *Clerodendrum splendens*, *Conyza canadensis*, *Tithonia diversifolia* e *Vernonanthura westiniana* foram oferecidos às lagartas por ingestão em ensaios, avaliando-se a biologia e o comportamento desses insetos. Os extratos vegetais de *C. splendens* em diclorometano e hexano e de *V. westiniana* em metanol avaliados sobre *A. gemmatalis* causaram altas taxas de mortalidade observadas nas lagartas, sendo que o extrato de *C. splendens* em diclorometano causou também redução no tempo de vida e peso larval de pupas. Quando oferecido a lagartas de *H. armigera*, o extrato metanólico de *V. westiniana* causou aumento no consumo foliar e redução no peso de pupas, sendo observada mortalidade de apenas 20% da população avaliada. Este é o primeiro registro de bioatividade de extratos de *C. splendens* e *V. westiniana* sobre insetos.

Termos para indexação: *Clerodendrum splendens*, *Conyza canadensis*, *Tithonia diversifolia*, *Vernonanthura westiniana*, biologia, comportamento, Lepidoptera.

¹ Engenheira-agrônoma, doutora em Entomologia, pesquisadora da Embrapa Meio Ambiente, Jaguariúna, SP.

² Química, doutora em Química Analítica, pesquisadora da Embrapa Meio Ambiente, Jaguariúna, SP.

³ Engenheira-agrônoma, doutora em Entomologia, pesquisadora da Embrapa Meio Ambiente, Jaguariúna, SP.

⁴ Bióloga, doutora em Botânica, pesquisadora da Embrapa Meio Ambiente, Jaguariúna, SP.

Bioactivity of plant extracts on *Anticarsia gemmatalis* and *Helicoverpa armigera*

Abstract - Plant extracts from five species of the Asteraceae and Verbenaceae families were evaluated for bioactivity on *Anticarsia gemmatalis* Hubner, 1818 (Lepidoptera: Erebidiae) and *Helicoverpa armigera* (Hubner) (Lepidoptera: Noctuidae) caterpillars. The hexane, dichloromethane, methanolic and aqueous extracts from *Clerodendrum splendens*, *Conyza canadensis*, *Tithonia diversifolia* and *Vernonanthura westiniana* were offered to caterpillars by ingestion in trials evaluating the biology and behavioural response of these insects. Among the extracts evaluated on *A. gemmatalis*, *C. splendens* in dichloromethane and hexane and *V. westiniana* in methanol caused high mortality rates observed for the caterpillars. Dichloromethane extract from *C. splendens* also caused a reduction in the larval life, pupae weight and weight gain of caterpillars. When offered to *H. armigera* caterpillars, *V. westiniana* methanolic extract caused an increase in foliar consumption and reduction in pupae weight, with mortality of only 20% of the evaluated population. This present study is the first record of the bioactivity of *C. splendens* and *V. westiniana* extracts on insects.

Index terms: *Clerodendrum splendens*, *Conyza canadensis*, *Tithonia diversifolia*, *Vernonanthura westiniana*, biology, behavior, Lepidoptera.

Introdução

Produtos derivados de plantas podem apresentar ação tóxica, de repelência ou deterrence aos insetos e, por isso, têm sido usados no controle de pragas por milhares de anos (Isman, 2006). Muitos dos produtos comercializados hoje são formulados a partir de compostos derivados de plantas, como é o caso da piretrina, um composto originado da planta *Chrysanthemum cinerariaefolium*, base para uma variedade de inseticidas sintéticos chamados piretróides (Copping; Duke, 2007). Além desses, há também os óleos essenciais, que podem ser derivados de diversas espécies vegetais (Copping; Duke, 2007; Moraes; Marinho-Prado, 2016).

Inseticidas com alto grau de toxicidade ou de grande persistência no ambiente vêm sendo proibidos em diversos países, e observa-se aumento da ocorrência de populações de insetos resistentes aos produtos que permanecem regulamentados (Isman, 2006). Além disto, tem aumentado a quantidade de insetos resistentes às plantas transgênicas, reduzindo a eficiência dessa tecnologia (Tabashnick; Carrière, 2017). Esses fatores motivam a busca por moléculas que sirvam de base para o desenvolvimento de novos produtos a serem utilizados no controle de pragas, com diferentes oportunidades de pesquisa (Miresmailli; Isman, 2014) visando a rotação de compostos ativos dentro do manejo integrado de pragas. Ademais há um crescente interesse pela produção orgânica de alimentos, que pode se beneficiar da identificação de novos extratos de plantas com potencial para a aplicação contra insetos-praga.

A busca por moléculas vegetais com efeito deletério a insetos pode ser iniciada a partir da avaliação de extratos e óleos sobre a praga alvo e, neste trabalho, foram escolhidas como objeto de estudo as espécies *Anticarsia gemmatalis* Hubner, 1818 (Lepidoptera: Erebiidae) e *Helicoverpa armigera* (Hubner) (Lepidoptera: Noctuidae).

Conhecida como lagarta-da-soja, *A. gemmatalis* é considerada a principal praga da soja, sendo um importante desfolhador desta cultura no Brasil (Hoffmann-Campo et al., 2000; Bueno et al., 2011). Embora existam outras plantas hospedeiras, essa espécie se alimenta preferencialmente de leguminosas e, excepcionalmente, já foi encontrada em algodoeiro, quiabo, trigo, girassol, begônia e arroz, entre outras (Moscardi et al., 2013).

Entretanto, não é comum a alimentação de *A. gemmatalis* em hospedeiros não preferenciais, e sua importância na soja deve-se principalmente à sua grande abundância e ocorrência frequente em todas as regiões do Brasil onde há a cultura (Moscardi et al., 2013).

A espécie *H. armigera* era considerada praga quarentenária ausente no Brasil (A1) até ser identificada em território nacional (Czepak et al., 2013) e retirada da lista de pragas A1, fornecida pelo Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA), através da Instrução Normativa (IN) nº 59, de 18 de dezembro de 2013. Estima-se que, no ano em que se detectou a espécie no Brasil, os danos causados pelas lagartas aos agricultores ultrapassaram R\$ 10 bilhões (Rodrigues, 2013). Com grande capacidade de dispersão e fase larval com hábito altamente polífago (com mais de 60 famílias vegetais hospedeiras) (Czepak et al., 2013), *H. armigera* encontra-se hoje amplamente distribuída no território nacional, e ataca principalmente culturas de milho, soja, feijão e algodão (Specht et al., 2013).

Assim, dada a importância em se buscar moléculas inseticidas ainda não exploradas e considerando a relevância dessas pragas às culturas brasileiras, o presente trabalho avaliou o potencial de extratos de cinco espécies de plantas das famílias Asteraceae e Verbenaceae sobre lagartas de *A. gemmatalis* e *H. armigera*.

Material e Métodos

Coleta das plantas e obtenção dos extratos

As plantas foram coletadas, georreferenciadas e identificadas com auxílio de lupa e bibliografia pertinentes. As exsicatas (*vouchers*) foram depositadas no Herbário Dom Bento José Pickel, do Instituto Florestal (São Paulo, SP). A secagem das plantas foi realizada em estufas com circulação de ar, a 30°C, por 3 dias.

Pesou-se em um Erlenmeyer uma determinada massa de 25 g da planta seca moída, que foi submetida à extração sequencial com os seguintes solventes: n-hexano, diclorometano, metanol e água. O volume de cada solvente foi de 150 mL. Sob agitação constante, cada etapa da extração (uma extração com cada solvente) durou cerca de 24h. Após o período de extração com cada solvente, foi executada a filtração a vácuo com funil de Büchner e papel filtro. Os solventes foram evaporados em um rotaevaporador sob pressão reduzida à temperatura de 25°C. Os extratos hexânicos, diclorometânicos e metanólicos foram secos com o auxílio de fluxo de nitrogênio e extrato aquoso de um liofilizador (após ser congelado), de acordo com a metodologia de Silva et al. (2016).

Os extratos hexânicos, diclorometânicos, metanólicos e aquosos foram pesados, diluídos em seus respectivos solventes, de acordo com a concentração final desejada (de acordo com os valores informados na Tabela 1), e completados para o volume final de 50 mL com solução de Triton X-100 a 0,01%.

Tabela 1. Plantas utilizadas para a obtenção dos extratos vegetais, concentrações avaliadas e as espécies de Lepidoptera utilizadas.

Espécie e família	Nome popular	Concentração (mg/mL)	Lepidoptera avaliada
<i>Vernonanthura westiniana</i> (Less.) H.Rob. (Asteraceae)	Assa-peixe-roxo ou chamarrita	2,5	<i>A. gemmatalis</i>
		10	<i>H. armigera</i>
<i>Conyza canadensis</i> (L.) Cronquist (Asteraceae)	Buva, voadeira ou avoadinha	2,5	<i>A. gemmatalis</i>
<i>Tithonia diversifolia</i> (Hemsl.) A.Gray (Asteraceae)	Margaridão	2,5	<i>A. gemmatalis</i>
<i>Clerodendrum splendens</i> G.Don (Verbenaceae)	Clerodendro-vermelho	2,5	<i>A. gemmatalis</i>

Manutenção dos insetos e condução dos bioensaios de biologia e comportamento

Neste estudo, a espécie *A. gemmatilis* foi utilizada para avaliar os extratos das quatro espécies vegetais em diferentes solventes e, a partir dos resultados obtidos selecionou-se aquele com melhor resultado em mortalidade, redução do consumo foliar e redução de peso larval, nesta ordem de prioridade. O extrato selecionado foi, então, avaliado sobre *H. armigera*. Tal procedimento deveu-se a dificuldades de multiplicação da espécie *H. armigera* em quantidade suficiente para realizar todos os bioensaios de avaliação de compostos.

Insetos das espécies *H. armigera* e *A. gemmatilis* foram mantidos em sala de criação do Laboratório de Entomologia e Fitopatologia (LEF) da Embrapa Meio Ambiente, com temperatura de $25\pm 1^{\circ}\text{C}$, umidade relativa de $70\pm 5\%$ e fotoperíodo de 12:12 (L:E). A criação foi mantida utilizando-se dieta artificial e seguindo a metodologia proposta em Vilela et al. (2014). Os bioensaios foram também realizados no LEF, utilizando plantas de feijão comum (*Phaseolus vulgaris*) cultivar BRS Pérola, cultivadas a partir de sementes fornecidas pela Embrapa Arroz e Feijão. O feijão foi semeado, mantido em casa-de-vegetação e utilizado, preferencialmente, em fase vegetativa V3 (quando os folíolos do primeiro nó vegetativo ao 4º nó foliar estão desenrolados), como planta hospedeira para avaliação da biologia e do comportamento das lagartas.

Em todos os bioensaios foi aplicado o delineamento inteiramente casualizado (DIC) e os tratamentos aplicados constaram de extrato de cinco diferentes espécies de plantas, conforme descrição da Tabela 1. Primeiramente, o extrato de cada espécie de planta foi avaliado na concentração de 2,5 mg/mL e em quatro solventes, a saber: diclorometano (DCM), hexano, metano e água. Para cada solvente e extrato de cada espécie vegetal, houve uma solução controle correspondente, composta do respectivo solvente (0,14 mL/mL), mas sem o extrato, adicionado de Triton X-100 a 0,01%. As soluções contendo o extrato da planta foram também compostas pelo respectivo solvente utilizado na extração (0,14 mL/mL), adicionado de Triton X-100 a 0,01%. Posteriormente, foi realizada a avaliação do extrato vegetal de *V. westiniana* em metanol (selecionado a partir dos resultados obtidos com *A. gemmatilis*) sobre lagartas de *H. armigera* na concentração de 10 mg/mL,

que foi elaborado conforme descrito anteriormente, mas com o solvente na concentração de 0,04 mL/mL. O aumento da concentração do extrato vegetal e a redução da concentração do solvente foram realizados no intuito de elevar a eficiência do extrato e reduzir a mortalidade no tratamento controle com o solvente.

Cada repetição foi feita em uma placa de Petri contendo uma lagarta e uma folha de feijão. Foram realizadas 15 repetições para cada um dos tratamentos. Folhas de feijão foram submetidas ao medidor de área foliar Li-3100C antes do início do bioensaio e após 24 horas, para obtenção do consumo foliar de cada uma das lagartas. As folhas foram imersas na solução correspondente ao seu tratamento, deixadas secar à sombra e individualizadas em placas de Petri (6,5 cm de diâmetro) contendo uma lagarta de terceiro ínstar que permaneceu em jejum por duas horas antes de cada bioensaio. As massas das lagartas foram aferidas em balança analítica imediatamente antes do início do bioensaio e após três dias. Após 24 horas, cada lagarta foi transferida para um copo plástico (50 mL) identificado conforme o tratamento recebido e contendo dieta artificial (a mesma utilizada para a manutenção da criação), onde permaneceram até a fase de pupa. As pupas de *A. gemmatalis* foram pesadas em balança analítica, à exceção daquelas do tratamento com extrato de *V. westiniana*. A duração de vida (em dias) foi descrita apenas para os insetos que chegaram à fase adulta e a mortalidade foi avaliada diariamente durante toda a fase larval. O ganho de peso (GP, em gramas) foi calculado considerando-se as massas das lagartas no dia da montagem (M1) e três dias após a instalação do bioensaio (M2): $GP = M2 - M1$. O consumo larval (CL, em cm²) foi calculado através da medição da área foliar no dia da montagem (AF1) do bioensaio e 24h depois (AF2): $CL = AF2 - AF1$. O consumo larval de *H. armigera* foi avaliado também 48 horas após o início do bioensaio.

Análises estatísticas

As análises foram realizadas comparando os tratamentos dentro de uma mesma espécie vegetal (DIC) e não entre espécies. Em relação à mortalidade, foi realizada somente uma análise descritiva dos dados, reportando quanto da população avaliada morreu (%) em cada tratamento. Com exceção da

mortalidade, todas as variáveis foram submetidas à análise de variância (ANOVA), e as médias foram comparadas pelo teste de Duncan. Quando a análise de resíduos mostrou problemas de normalidade e homocedasticidade, utilizou-se o teste não-paramétrico de Kruskal Wallis em vez da ANOVA. Em todas as análises o nível de significância adotado foi de 5% de probabilidade. As análises estatísticas foram realizadas utilizando o Programa R (R Development Core Team, 2011).

Resultados e Discussão

Dentre os tratamentos avaliados sobre lagartas de *A. gemmatilis*, os extratos de *C. splendens* em DCM e em hexano causaram mortalidade acima de 60% e o extrato de *V. westiniana* em metanol causou mortalidade acima de 80% na população avaliada de lagartas de *A. gemmatilis* (Figura 1), o que motivou a escolha deste último para a avaliação sobre lagartas de *H. armigera*.

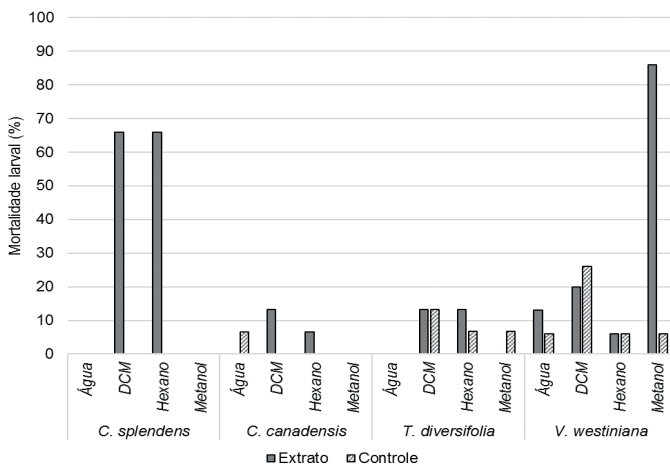


Figura 1. Mortalidade observada (%) de lagartas de *Anticarsia gemmatilis* alimentadas com folhas de feijão tratadas com extratos vegetais de *Clerodendrum splendens*, *Conyza canadensis*, *Thitonia diversifolia* e *Vernonanthura westiniana* em quatro solventes: água, diclorometano (DCM), hexano e metanol. Barras não aparentes indicam valores iguais a zero.

Os extratos vegetais de *C. splendens* em água e metanol, de *C. canadensis* em DCM e de *V. westiniana* em água, DCM e hexano foram deterrentes à alimentação de lagartas de *A. gemmatalis* quando oferecidos em folhas de feijão e em comparação aos seus respectivos controles (Tabela 2). Porém, o consumo foliar das lagartas aumentou em relação ao respectivo controle quando foram oferecidas folhas de feijão tratadas com *C. canadensis* e *T. diversifolia*, ambas em metanol.

Tabela 2. Médias seguidas por desvio padrão de consumo foliar (cm²/dia), ganho de peso larval (g) em três dias, tempo de vida (dias) de lagartas que chegaram à fase adulta e peso de pupas (g) (exceto *Vernonanthura westiniana*) de *Anticarsia gemmatilis* alimentadas com folhas de feijão tratadas com extratos vegetais de *Conyza canadensis*, *Clerodendrum splendens*, *Thitonia diversifolia* e *V. westiniana* em quatro solventes: água, diclorometano (DCM), hexano e metanol. Médias de uma mesma espécie vegetal seguidas por letras diferentes na mesma coluna diferem estatisticamente entre si pelo teste de Duncan ou de Kruskal Wallis a 5% de probabilidade. (*) O asterisco destaca a existência de diferença estatística do valor do extrato em relação ao seu controle. (•) O símbolo indica os parâmetros avaliados pelo teste de Kruskal Wallis.

<i>Clerodendrum splendens</i>					
	Consumo foliar (cm ² /dia) •	Ganho de peso larval (g) •	Peso de pupas (g)	Tempo de vida (dias)	
Água	Extrato	13,33 ± 6,46	bcd*	0,06 ± 0,02	ab
	Controle	16,17 ± 3,31	a	0,06 ± 0,02	a
DCM	Extrato	17,13 ± 10,88	ac	0,02 ± 0,01	c *
	Controle	12,34 ± 3,34	cd	0,06 ± 0,01	ab
Hexano	Extrato	13,05 ± 2,98	bcd	0,03 ± 0,01	c *
	Controle	15,20 ± 5,03	ab	0,04 ± 0,06	b
Metanol	Extrato	10,27 ± 5,24	d *	0,07 ± 0,01	a *
	Controle	15,68 ± 2,61	a	0,06 ± 0,00	b
<i>Conyza canadensis</i>					
	Consumo foliar (cm ² /dia)	Ganho de peso larval (g) •	Peso de pupas (g)	Tempo de vida (dias)	
Água	Extrato	5,89 ± 2,88	b	0,08 ± 0,02	bc
	Controle	5,04 ± 2,35	b	0,08 ± 0,05	ac
DCM	Extrato	6,01 ± 2,61	b *	0,07 ± 0,02	cd
	Controle	10,27 ± 3,43	a	0,06 ± 0,09	ac
Hexano	Extrato	9,42 ± 3,8	a	0,05 ± 0,03	d *
	Controle	10,95 ± 2,86	a	0,09 ± 0,02	ab
Metanol	Extrato	11,27 ± 3,7	a *	0,08 ± 0,01	ac
	Controle	6,71 ± 2,14	b	0,10 ± 0,02	a

Tabela 2. Continuação.

Tithonia diversifolia									
		Consumo foliar (cm²/dia)	Ganho de peso larval (g)	Peso de pupas (g) •	Tempo de vida (dias) •				
Água	Extrato	5,76 ± 3,03	c	0,02 ± 0,01	ab	0,2 ± 0,03	a	32,23 ± 5,05	bc
	Controle	5,11 ± 2,81	c	0,02 ± 0,01	a	0,2 ± 0,04	a	32,61 ± 3,9	ab
DCM	Extrato	5,30 ± 2,37	c	0,01 ± 0,01	c *	0,18 ± 0,03	a	29,33 ± 1,77	c *
	Controle	6,67 ± 3,11	bc	0,02 ± 0,01	a	0,2 ± 0,04	a	33,50 ± 6,15	ab
Hexano	Extrato	8,93 ± 2,11	a	0,016 ± 0,01	bc *	0,2 ± 0,03	a	30,00 ± 3,06	bc
	Controle	8,09 ± 3,02	ab	0,023 ± 0,01	a	0,21 ± 0,02	a	30,92 ± 2,7	bc
Metanol	Extrato	9,04 ± 2,7	a *	0,03 ± 0,01	a	0,2 ± 0,03	a	31,53 ± 4,61	bc *
	Controle	5,59 ± 1,84	c	0,03 ± 0,01	a	0,21 ± 0,03	a	34,78 ± 4,96	a
Vernonanthura westiniana									
		Consumo foliar (cm²/dia) •	Ganho de peso larval (g) •	Peso de pupas (g)	Tempo de vida (dias) •				
Água	Extrato	0,34 ± 0,3	e *	0,03 ± 0,01	a	31,80 ± 5,69	a		
	Controle	1,38 ± 0,86	bc	0,03 ± 0,01	a	35,58 ± 5,38	a		
DCM	Extrato	1,24 ± 2,35	de *	0,03 ± 0,01	a	29,80 ± 4,79	a		
	Controle	3,08 ± 2,02	ab	0,03 ± 0,01	a	27,80 ± 8,19	a		
Hexano	Extrato	1,37 ± 1,93	cd *	0,03 ± 0,01	a	30,80 ± 4,65	a		
	Controle	3,36 ± 2,5	a	0,02 ± 0,01	a	29,80 ± 6,15	a		
Metanol	Extrato	0,92 ± 1,52	de	0,06 ± 0,00	b *	33,00 ± 0,00	a		
	Controle	1,06 ± 1,04	cd	0,00 ± 0,01	a	30,70 ± 4,19	a		

Os extratos que causaram redução no ganho de peso nas lagartas de *A. gemmatalis*, em relação aos seus controles, foram *C. splendens* em DCM e hexano, *C. canadensis* em hexano e *T. diversifolia* em DCM e hexano. Os extratos metanólicos de *C. splendens* e *V. westiniana* provocaram ganho de peso larval maior do que os controles. Os extratos de *C. splendens* em DCM e em hexano ocasionaram redução no peso de pupas de *A. gemmatalis* em relação aos seus controles. O tempo de vida de insetos que chegaram à fase adulta foi significativamente menor do que de seus controles para indivíduos de *A. gemmatalis* submetidos a ingestão de extratos de *C. splendens* em DCM e de *T. diversifolia* em DCM e metanol (Tabela 2).

Em trabalho realizado por Ajaib et al. (2014), extratos preparados com casca e folhas de *C. splendens* em solvente éter de petróleo apresentaram ação antimicrobiana quando avaliados sobre as bactérias *Klebsiella pneumoniae*, *Pseudomonas aeruginosa* e *Escherichia coli*, e sobre os fungos *Aspergillus niger* e *A. oryzae*. A espécie *C. splendens* e outras do mesmo gênero são utilizadas na medicina tradicional em alguns países para o tratamento de doenças como inflamações, malária, diabetes, hipertensão, viroses, doenças de pele, doenças venéreas, úlceras, e como contraceptivo, entre outros. (Faiella et al., 2013; Frazão-Moreira, 2016).

Outra espécie do gênero *Clerodendrum*, a planta *C. thomsonae* teve seu extrato avaliado em solventes hexano e DCM sobre *Daphnia magna*, causando 100% de imobilidade neste microcrustáceo após 48h de bioensaio (Silva et al., 2016). Nove compostos da parte aérea de *C. splendens* já foram caracterizados, sendo quatro diterpenos e cinco fenilpropanoides (Faiella et al., 2013). Apesar de nenhuma ação inseticida ter sido investigada para tais compostos isolados de *C. splendens* (Faiella et al., 2013), sabe-se que fenilpropanoides estão ligados à resistência das plantas contra insetos (Gaquerel et al., 2014) e que diterpenos podem apresentar ação inseticida (Zhong et al., 2006). Diterpenos de extrato hexânico de *C. inerme* foram caracterizados e reportados como responsáveis por inibir o crescimento e a alimentação de insetos da ordem Diptera (moscas e mosquitos) (Rao et al., 1990) e diterpenos caracterizados de outro gênero vegetal, *Rhododendron molle* G. Don, apresentaram potencial inseticida sobre lagartas de *Pieris rapae* (L.) (Lepidoptera: Pieridae) (Zhong et al., 2006).

A relação entre os insetos e as plantas é regulada por substâncias denominadas aleloquímicos que, ao serem liberadas pelas plantas, são percebidas pelos insetos e podem agir sobre seu comportamento (antixenose) ou alterar características do ciclo (antibiose) (Vendramim; Castiglioni, 2000). Em relação ao comportamento, se o estímulo for positivo, o inseto se dirigirá à planta (substância atraente), caso seja negativo, irá em direção contrária (substância repelente). Após contato com a planta, outro estímulo positivo levará à picada ou mordida de prova (substância incitante) ou, no caso de um estímulo negativo, o inseto não provará da planta e se afastará (substância supressora). Por fim, após a prova, o inseto pode receber estímulo para continuar se alimentando (substância fagoestimulante) ou para parar com a alimentação (fagoinibitória) (Vendramim; Castiglioni, 2000). Lagartas de *A. gemmatalis* consumiram maior área de folhas contendo extratos metanólicos de *C. canadensis* e *T. diversifolia* do que de folhas contendo somente água (dentro das análises de cada espécie vegetal), sugerindo que possa existir nesses extratos, substâncias agindo como fagoestimulantes a esses insetos. O consumo elevado de uma planta nem sempre representa vantagens aos insetos, uma vez que pode haver nas folhas outras substâncias com efeitos de antibiose, que causam mortalidade ou redução de tamanho, peso, longevidade e fecundidade.

O extrato metanólico de *V. westiniana* não alterou o apetite das lagartas nas primeiras 24 horas de consumo, além disso aumentou o consumo foliar de lagartas de *H. armigera* após 48 horas de avaliação, porém reduziu o peso de pupas, indicando um efeito de antibiose (Tabela 3).

Tabela 3. Mortalidade observada (%) e médias seguidas por desvio padrão de consumo foliar (cm²/dia) no primeiro e segundo dias, ganho de peso larval (g) dos três primeiros dias e peso de pupas de *Helicoverpa armigera* alimentadas com folhas de feijão tratadas com extratos vegetais de *Vernonanthura westiniana* em solvente metanol. Médias seguidas por letras diferentes na mesma coluna diferem estatisticamente entre si pelo teste de Duncan ou de Kruskal Wallis a 5% de probabilidade. O símbolo (*) indica os parâmetros avaliados pelo teste de Kruskal Wallis.

<i>Vernonanthura westiniana</i>									
		Mortalidade (%)	Consumo foliar no 1º dia (cm ² /dia) *		Consumo foliar no 2º dia (cm ² /dia)		Ganho de peso larval (g) *		Peso de pupas (g) *
Metanol	Extrato	20	2,16	a	3,84	a	0,04	a	0,27 b
	Controle	26	1,62	a	2,31	b	0,05	a	0,33 a

A espécie *Vernonanthura westiniana* (conhecida também por *Vernonia westiniana*) (Cervi et al., 1989; The Plant..., 2012), foi estudada quanto ao teor e composição do óleo essencial de sua parte aérea, e apresentou majoritariamente o componente espatulenol (11,5%) (Amaral et al., 2013). Em trabalho realizado por Silva et al. (2016), o extrato diclorometânico de *Vernonia* sp. causou imobilidade em 83% dos organismos de *D. magna* avaliados nas primeiras 24h e 100% de imobilidade após 48h. A presença do sesquiterpeno espatulenol foi identificada em óleos de plantas que apresentaram ação inseticida e repelente em pragas de grãos armazenados (Jemâa et al., 2012; Sadeghi et al., 2016) e o composto espatulenol isolado apresentou atividade repelente a *Aedes aegypti* e *Anopheles stephensi* (Cantrell et al., 2005). Apesar de ter causado alta mortalidade em lagartas de *A. gemmatilis*, o extrato de *V. westiniana* em metanol não teve o mesmo efeito sobre lagartas de *H. armigera* (Tabela 3).

A resistência de populações de *H. armigera* a inseticidas é alvo de diversos estudos e está associada a características intrínsecas da espécie, tais como, o hábito alimentar altamente polífago, ciclo de desenvolvimento curto, alta capacidade de dispersão e alta variabilidade genética (McCaffery, 1998; Durigan et al., 2017; Shi et al., 2018).

Foi apresentada neste trabalho a primeira etapa referente a avaliação da bioatividade de extratos das plantas *C. splendens*, *C. canadensis*, *T.*

diversifolia e *V. westiniana* sobre lagartas de *A. gemmatalis* e *H. armigera*. Novos bioensaios devem ser realizados com *H. armigera* utilizando as espécies vegetais que não foram avaliadas. As etapas seguintes abrangem a identificação da(s) molécula(s) responsável(is) pela ação de antibiose ou antixenose observada nos extratos e a avaliação dessa(s) quanto a especificidade à praga alvo e seletividade a organismos não-alvo. Destaca-se que este é o primeiro registro sobre o potencial inseticida das espécies *C. splendens* e *V. westiniana* sobre lagartas.

Conclusões

Os extratos vegetais de *C. splendens* em DCM ou hexano apresentam bioatividade sobre lagartas de *A. gemmatalis*, tendo causado mortalidade acima de 60%, além de redução no ganho de peso de larvas e pupas;

Em água ou metanol, o extrato de *C. splendens* reduz o consumo foliar de lagartas de *A. gemmatalis*;

Observa-se o efeito de deterrência alimentar em lagartas de *A. gemmatalis* alimentadas com o extrato diclorometânico de *C. canadensis* e redução no peso larval por essa mesma espécie vegetal em solvente hexano;

Extratos diclorometânico e hexânico de *T. diversifolia* reduzem o ganho de peso larval de *A. gemmatalis*;

O extrato metanólico de *V. westiniana* apresenta ação inseticida sobre lagartas de *A. gemmatalis*, tendo provocado mortalidade acima de 80%, mas não sobre lagartas de *H. armigera*, embora cause redução do peso de pupas desta última.

Agradecimentos

Agradecemos a Embrapa pelo financiamento do projeto e ao Conselho Nacional de Pesquisa Científica (CNPq) pela concessão de bolsas de iniciação científica. Agradecemos também às equipes de apoio do Laboratório de Entomologia e Fitopatologia e da Central de Resíduos e Contaminantes, e ao Ricardo Antônio Almeida Pazianotto pela análise estatística dos dados.

Referências

- AJAIB, M.; BOOTA, F.; KHAN, K. M.; PERVEEN, S.; SAH, S. *Clerodendrum splendens*: a potential source of antimicrobials. **Journal of the Chemical Society of Pakistan**, v. 36, n. 4, p. 763-770, 2014.
- AMARAL, W.; DESCHAMPS, C.; BIZZO, H. R.; DUNAISKI, A.; ROSA, G. M.; FRANCISCO, F. Teor e composição dos óleos essenciais de Asteraceae dos Campos Gerais da Floresta Atlântica do estado do Paraná. In: SIMPÓSIO BRASILEIRO DE ÓLEOS ESSENCIAIS, 7., 2013, Santarém. **Ciência, tecnologia e inovação na Amazônia**: anais. Santarém: UFOPA, 2013. 1 CD-ROM
- BUENO, A. F.; BATISTELA, M. J.; BUENO, R. C. O. F.; FRANÇA-NETO, J. B.; NISHIKAWA, M. A. N.; LIBÉRIO FILHO, A. Effects of integrated pest management, biological control and prophylactic use of insecticides on the management and sustainability of soybean. **Crop Protection**, v. 30, n. 7, p. 937-945, 2011.
- CANTRELL, C. L.; KLUN, J. A.; BRYSON, C. T.; KOBASIS, M.; DUKE, S. O. Isolation and identification of mosquito bite deterrent terpenoids from leaves of American (*Callicarpa americana*) and Japanese (*Callicarpa japonica*) beautyberry. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 53, n. 15, p. 5948-5953, 2005.
- CERVI, A. C.; PACIORNICK, E. F.; VIEIRA, R. F.; MARQUES, L. C. Espécies vegetais de um remanescente de floresta de araucária (Curitiba, Brasil): estudo preliminar I. **Acta Biológica Paranaense**, v. 18 n. 1-4, p. 73-114, 1989.
- COPPING, L. G.; DUKE, S. O. Natural products that have been used commercially as crop protection agents. **Pest Management Science**, v. 63, n. 6, p. 524-554, 2007.
- CZEPAK, C.; ALBERNAZ, K. C.; VIVAN, L. M.; GUIMARÃES, H. O.; CARVALHAIS, T. Primeiro comunicado de ocorrência de *Helicoverpa armigera* (Hübner) (Lepidoptera: Noctuidae) no Brasil. **Pesquisa Agropecuária Tropical**, v. 43, n. 1, p. 110-113, 2013.
- DURIGAN, R. M.; CORRÊA, A. S.; PEREIRA, R. M.; LEITE, N. A.; AMADO, D.; SOUSA, D. R.; OMOTO, C. High frequency of CYP337B3 gene associated with control failures of *Helicoverpa armigera* with pyrethroid insecticides in Brazil. **Pesticide Biochemistry and Physiology**, v. 143, p. 73-80, 2017.

FAIELLA, L.; TEMRAZ, A.; COTUGNO, R.; DE TOMMASI, N.; BRACA, A. Diterpenes and phenylpropanoids from *Clerodendrum splendens*. **Planta Medica**, v. 79, n. 14, p. 1341-1347, 2013.

FRAZÃO-MOREIRA, A. The symbolic efficacy of medicinal plants: practices, knowledge, and religious beliefs amongst the Nalu healers of Guinea-Bissau. **Journal of Ethnobiology and Ethnomedicine**, v. 17, p. 12-24, 2016.

GAQUEREL, E.; GULATI, J.; BALDWIN, I. T. Herbivory-induced phenolamide metabolism: from single genes to metabolic network plasticity analysis. **The Plant Journal**, v. 79, p. 679-692, 2014.

JEMÂA, J. M. B.; TERSIM, N.; TOUDERT, K. T.; KHOUJA, M. L. Insecticidal activities of essential oils from leaves of *Laurus nobilis* L. from Tunisia, Algeria and Morocco, and comparative chemical composition. **Journal of Stored Products Research**, v. 48, p. 97-104, 2012.

HOFFMANN-CAMPO, C. B.; MOSCARDI, F.; CORREA-FERREIRA, B. S.; OLIVEIRA, L. J.; SOSA-GOMEZ, D. R.; PANIZZI, A. R.; CORSO, I. C.; GAZZONI, D. L.; OLIVEIRA, E. B. de. **Pragas da soja no Brasil e seu manejo integrado**. Londrina: Embrapa Soja, 2000. 70 p. (Embrapa Soja. Circular Técnica, 30).

ISMAN, M. B. Botanical insecticides, deterrents, and repellents in modern agriculture and an increasingly regulated world. **Annual Review of Entomology**, v. 51, p. 45-66, 2006.

MCCAFFERY, A. Resistance to insecticides in heliothine Lepidoptera: a global view. **Philosophical Transactions of the Royal Society of London. Series B**, v. 353, p. 1735-1750, 1998.

MIRESMALLI, S.; ISMAN, M. B. Botanical insecticides inspired by plant-herbivore chemical interactions. **Trends in Plant Science**, v. 19, n. 1, p. 29-25, 2014.

MORAIS, L. A. S. de; MARINHO-PRADO, J. S. Plantas com atividade inseticida. In: HALFELD-VIEIRA, B. de A.; MARINHO-PRADO, J. S.; NECHET, K. de L.; MORANDI, M. A. B.; BETTIOL, W. (Ed.). **Defensivos agrícolas naturais: uso e perspectivas**. Brasília, DF: Embrapa, 2016. p. 542-593.

MOSCARDI, F.; BUENO, A. de F.; SOSA-GOMEZ, D. R.; ROGGIA, S.; HOFFMANN-CAMPO, C. B.; POMARI, A. F.; CORSO, I. C.; YANO, S. A. C. Artrópodes que atacam as folhas da soja. In: HOFFMANN-CAMPO, C. B.; CORRÊA-FERREIRA, B. S.; MOSCARDI, F. (Ed.). **Soja: manejo integrado de insetos e outros Artrópodes-praga**. Brasília, DF: Embrapa, 2012. p. 213-334.

R DEVELOPMENT CORE TEAM. **R: A language and environment for statistical computing**. Vienna: R Foundation for Statistical Computing, 2011. 2630 p.

RAO, L. J. M.; PEREIRA, J.; GURUDUTT, K. N. Neo-clerodane diterpenes from *Clerodendron inerme*. **Phytochemistry**, v. 34, n. 2, 572-574, 1990.

RODRIGUES, P. **O ataque da lagarta**. Disponível em: <<https://www.embrapa.br/busca-de-noticias/-/noticia/1930990/o-ataque-da-lagarta>>. Acesso em: 7 jun. 2018.

SADEGHI, A.; POURYA, M.; SMAGGHE, G. Insecticidal activity and composition of essential oils from *Pistacia atlantica* subsp. *kurdica* against the model and stored product pest beetle *Tribolium castaneum*. **Phytoparasitica**, v. 44, n. 5, p. 601-607, 2016.

SHI, Y.; WANG, H.; LIU, Z.; WU, S.; YANG, Y.; FEYEREISEN, R.; HECKEL, D. G.; WU, Y. Phylogenetic and functional characterization of ten P450 genes from the CYP6AE subfamily of *Helicoverpa armigera* involved in xenobiotic metabolism. **Insect Biochemistry and Molecular Biology**, v. 93, p. 79-91, 2018.

SILVA, D. R.; JONSSON, C. M.; ASSIS, M. C.; QUEIROZ, S. C. N. Toxicidade de extratos de plantas em *Daphnias magna*. In: CONGRESSO INTERINSTITUCIONAL DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA, 10., 2016, Campinas. **Anais...** Campinas: Embrapa Monitoramento por Satélite, 2016. Resumo 16403. 9 p.

SPECHT, A.; SOSA-GOMEZ, D. R.; PAULA-MORAES, S. V.; YANO, S. A. C. Identificação morfológica e molecular de *Helicoverpa armigera* (Lepidoptera: Noctuidae) e ampliação de seu registro de ocorrência no Brasil. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 48, n. 6, p. 689-692, 2013.

TABASHNICK, B.E.; CARRIÈRE, Y. Surge in insect resistance to transgenic crops and prospects for sustainability. **Nature Biotechnology**, v. 35, n. 10, p. 926-935, 2017.

THE PLANT List. Version 1.1. 2013. Disponível em: <<http://www.theplantlist.org/tpl1.1/record/gcc-122494>>. Acesso em: 24 jan. 2018.

VENDRAMIM, J. D.; CASTIGLIONI, E. Aleloquímicos, resistência de plantas e plantas inseticidas. In: GUEDES, J. C.; COSTA, I. D.; CASTIGLIONI, E. **Bases e técnicas do manejo de insetos**. Santa Maria: UFSM, 2000. p. 113-128.

VILELA, M.; MENDES, S. M.; VALICENTE, F. H.; CARVALHO, S. S. de S.; SANTOS, A. E. dos; SANTOS, C. A. dos; ARAÚJO, O. G.; BARBOSA, T. A. N.; CARVALHO, E. A. R. de; COSTA, V. H. D. da. **Metodologia para criação e manutenção de *Helicoverpa armigera* em laboratório**. Sete Lagoas: Embrapa Milho e Sorgo, 2014. 7 p. (Embrapa Milho e Sorgo. Circular Técnica, 203).

ZHONG, G.; LIU, J.; WENG, Q.; HU, M.; LUO, J. Laboratory and field evaluations of rhodojaponin-III against the imported cabbage worm *Pieris rapae* (L.) (Lepidoptera: Pieridae). **Pest Management Science**, v. 62, n. 10, p. 976-81, 2006.



MINISTÉRIO DA
AGRICULTURA, PECUÁRIA
E ABASTECIMENTO