

**Avaliação do Efeito de  
Extratos de Folha de Tomateiro  
sobre o Desenvolvimento  
e Sobrevivência Larval de  
*Spodoptera frugiperda***



ISSN 1679-0154  
Dezembro, 2013

**Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária  
Embrapa Milho e Sorgo  
Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento**

# ***Boletim de Pesquisa e Desenvolvimento 93***

## **Avaliação do Efeito de Extratos de Folha de Tomateiro sobre o Desenvolvimento e Sobrevivência Larval de *Spodoptera frugiperda***

Paulo Eduardo de Aquino Ribeiro  
Simone Martins Mendes  
Paulo Afonso Viana  
Aline Silvia Dias  
Christiane Almeida dos Santos  
Cibele Souza Batista  
Eduardo Rezende  
Fabrício Carvalho Hebach  
Geovane Teixeira Rodrigues  
Tatiane Aparecida Nascimento Barbosa

Embrapa Milho e Sorgo  
Sete Lagoas, MG  
2013

Exemplares desta publicação podem ser adquiridos na:

**Embrapa Milho e Sorgo**

Rod. MG 424 Km 45

Caixa Postal 151

CEP 35701-970 Sete Lagoas, MG

Fone: (31) 3027-1100

Fax: (31) 3027-1188

Home page: [www.cnpms.embrapa.br](http://www.cnpms.embrapa.br)

E-mail: [cnpms.sac@embrapa.br](mailto:cnpms.sac@embrapa.br)

**Comitê de Publicações da Unidade**

Presidente: Sidney Netto Parentoni

Secretário-Executivo: Elena Charlotte Landau

Membros: Dagma Dionísia da Silva, Paulo Eduardo de Aquino Ribeiro, Monica Matoso Campanha, Maria Marta Pastina, Rosângela Lacerda de Castro e Antonio Claudio da Silva Barros.

Revisão de texto: Antonio Claudio da Silva Barros

Normalização bibliográfica: Rosângela Lacerda de Castro

Tratamento de ilustrações: Tânia Mara Assunção Barbosa

Editoração eletrônica: Tânia Mara Assunção Barbosa

Foto(s) da capa: Paulo Eduardo de Aquino

**1ª edição**

1ª impressão (2013): on line

**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 Milho e Sorgo**

---

Avaliação do efeito de extratos de folha de tomateiro sobre o desenvolvimento e sobrevivência larval de *Spodoptera frugiperda* / Paulo Eduardo de Aquino Ribeiro... [et al.].—Sete Lagoas: Embrapa Milho e Sorgo, 2013.

32 p. : il. -- (Boletim de Pesquisa e Desenvolvimento / Embrapa Milho e Sorgo, ISSN 1679-0154; 93).

1. Praga de planta. 2. Lagarta-do-cartucho. 3. Controle. I. Ribeiro, Paulo Eduardo de Aquino. II. Série.

CDD 632.9 (21. ed.)

---

© Embrapa 2013

# Sumário

<b>Resumo</b> .....	4
<b>Abstract</b> .....	6
<b>Introdução</b> .....	8
<b>Material e Métodos</b> .....	12
<b>Resultados e Discussão</b> .....	18
<b>Conclusão</b> .....	27
<b>Agradecimentos</b> .....	28
<b>Referências</b> .....	28

# Avaliação do Efeito de Extratos de Folha de Tomateiro sobre o Desenvolvimento e Sobrevivência Larval de *Spodoptera frugiperda* Épocas de Semeio

**Paulo Eduardo de Aquino Ribeiro<sup>1</sup>**

**Simone Martins Mendes<sup>2</sup>**

**Paulo Afonso Viana<sup>3</sup>**

**Aline Sílvia Dias<sup>4</sup>**

**Christiane Almeida dos Santos<sup>5</sup>**

**Cibele Souza Batista<sup>6</sup>**

**Eduardo Rezende<sup>7</sup>**

**Fabricao Carvalho Hebach<sup>8</sup>**

**Geovane Teixeira Rodrigues<sup>9</sup>**

**Tatiane Aparecida Nascimento Barbosa<sup>10</sup>**

## Resumo

A lagarta-do-cartucho-do-milho (*Spodoptera frugiperda*) é a principal praga do milho no Brasil. A identificação de resistência natural de genótipos de milho e de outros hospedeiros é uma das abordagens para enfrentamento dessa praga. Alguns semioquímicos encontrados nos tecidos das plantas têm sido avaliados como ativos sobre a biologia dessa praga, entre eles a alfa-tomatina, o ácido clorogênico e a rutina. Essas três substâncias são encontradas em diversas estruturas de plantas do gênero *Lycopersicon*. Nesse contexto, o objetivo desse

<sup>1</sup>Químico, M.Sc., Pesquisador da Embrapa Milho e Sorgo na área de uso sustentável de Recursos Naturais, Sete Lagoas, MG, paulo.eduardo@embrapa.br

<sup>2</sup>Engenheira Agrônoma, D.Sc. em Entomologia, Pesquisadora da Embrapa Milho e Sorgo, Sete Lagoas, MG, simone.mendes@embrapa.br

<sup>3</sup>Engenheiro Agrônomo, Ph.D. em Entomologia, Pesquisador da Embrapa Milho e Sorgo, Sete Lagoas, MG, paulo.viana@embrapa.br

<sup>4</sup>Graduanda em Engenharia Ambiental, UNIFEMM, Sete Lagoas, MG, alinedias518@gmail.com

<sup>5</sup>Graduanda em Ciências Biológicas, UNIFEMM, Sete Lagoas, MG, chris.as.p@hotmail.com

<sup>6</sup>Estudante do Ensino Médio, Escola Estadual Prof. Cândido Azeredo, Sete Lagoas, MG, cibele.souza@rocketmail.com

<sup>7</sup>Graduando em Engenharia Agrônoma, UFSJ, Sete Lagoas, MG, eduardoalexandre12@hotmail.com

<sup>8</sup>Graduando em Engenharia Agrônoma, UFSJ, Sete Lagoas, MG, fabriciobrom@hotmail.com

<sup>9</sup>Graduanda em Ciências Biológicas, UNIFEMM, Sete Lagoas, MG, gtgouver@gmail.com

<sup>10</sup>Graduanda em Ciências Biológicas, UNIFEMM, Sete Lagoas, MG, taty71@hotmail.com

trabalho foi avaliar, através de bioensaios em laboratório, o potencial de extratos de folhas de tomateiro no controle de *S. frugiperda*, a exemplo do extrato de folhas de nim, planta exaustivamente estudada para essa finalidade. Testes de não preferência demonstraram concentração de larvas de *S. frugiperda* duas vezes maior sobre as folhas de milho em relação às de tomateiro. A sobrevivência e o desenvolvimento do inseto nos primeiros sete dias após eclosão dos ovos foram avaliados em folhas de tomateiro e comparados ao desempenho em folhas de milho. Houve diferença significativa entre o desempenho nos dois tipos de folhas, sendo que no tomateiro a biomassa acumulada e a sobrevivência foram significativamente menores. O teste utilizando extratos aquosos de folhas de tomateiro e de nim incorporados a dieta artificial demonstraram não haver diferença entre a dieta artificial com ou sem o extrato de tomateiro após 11 dias. Entretanto, o extrato de nim apresentou diferença significativa na concentração estudada, comprovando a eficiência do extrato e a adequação da metodologia de avaliação utilizada.

**Palavras-chave:** alfa-tomatina, lagarta-do-cartucho-do-milho, *Lycopersicon* spp., *Zea mays*

# Effect of the Tomato Leaf Extract on the Larval Development and Survival of *Spodoptera frugiperda*

---

Paulo Eduardo de Aquino Ribeiro<sup>1</sup>

Simone Martins Mendes<sup>2</sup>

Paulo Afonso Viana<sup>3</sup>

Aline Silvia Dias<sup>4</sup>

Christiane Almeida dos Santos<sup>5</sup>

Cibele Souza Batista<sup>6</sup>

Eduardo Rezende<sup>7</sup>

Fabrcio Carvalho Hebach<sup>8</sup>

Geovane Teixeira Rodrigues<sup>9</sup>

Tatiane Aparecida Nascimento Barbosa<sup>10</sup>

## Abstract

Fall armyworm (*Spodoptera frugiperda*) is the major pest of maize in Brazil. The identification of natural resistance genotypes of maize and other hosts is one of the approaches for dealing with this pest. Some semiochemicals found in plant tissues have been evaluated as active on the biology of this pest, including alpha-tomatine, chlorogenic acid and rutin. These three substances are found in various structures of plants of the genus *Lycopersicon*. In this context, the aim of this study was to evaluate, through laboratory bioassays, the potential of extracts of tomato leaves against *S. frugiperda*, such as the extract of neem leaves, plant extensively studied for this purpose. No-preference tests showed larvae of concentration *S. frugiperda* twice higher on maize leaves compared to tomato plants. The survival and development of the insect in the first seven days after hatching were evaluated in tomato leaves and compared to performance in maize leaves. There was a significant difference between performance in the two leaves, with biomass accumulated and survival in tomato leaves expressively smaller

than maize leaves. The test using aqueous extracts of tomato leaves and neem incorporated into artificial diet showed no difference between the artificial diet with or without the extract of tomato after 11 days. However, the neem extract showed a significant difference in the concentration studied, proving the efficiency of the extract and the appropriateness of the valuation methodology used in this study.

**Keywords:** alpha-tomatine, fall armyworm, *Lycopersicon* spp., *Zea mays*

## Introdução

A lagarta-do-cartucho-do-milho, *Spodoptera frugiperda* (J. E. Smith, 1797) (Lepidoptera: Noctuidae) é a principal praga do milho no Brasil, sendo responsável por perdas de até 38% da produção nessas lavouras (CRUZ et al., 1996). É uma espécie altamente polífaga, provocando danos em mais de 98 espécies de plantas hospedeiras distribuídas em 27 famílias (POGUE, 2002). Dentre as culturas que sofrem mais danos por essa praga estão o milho e o arroz, mas também são atacadas outras culturas importantes como alfafa, algodão, amendoim, batata, beterraba, cana-de-açúcar, cebola, diversas pastagens de gramíneas forrageiras, milheto, repolho, soja, sorgo, tomate (fruto) e trigo (BOREGAS et al., 2013; POGUE, 2002).

A identificação de fontes de resistência natural de plantas a insetos-praga, em especial de grandes culturas, tem sido foco de estudos há muitos anos. Em alguns casos, a resistência é atribuída à presença ou produção pela planta de semioquímicos que fazem parte da composição natural nas folhas, provocando a morte ou afetando negativamente o desenvolvimento de insetos-praga que delas se alimentam e promovendo, dessa forma, um controle natural (BOREGAS et al., 2013; SIMMONDS, 2006).

Em estudos realizados na Embrapa Milho e Sorgo e no Departamento de Química da UFMG identificou-se a presença de duas substâncias em genótipos de milho tidos como mais resistentes à *S. frugiperda*: a rutina, um flavonoide glicosídico (KARAM et al., 2006) e o ácido clorogênico, um ácido fenólico (MACHADO, 2010).

Esses dois semioquímicos, presentes também em tecidos de outras espécies vegetais, já foram relatados por outros autores como ativos sobre o comportamento de diversas pragas. Muitas espécies selvagens do gênero *Lycopersicon* (que compreende nove espécies de tomate) apresentam resistência a insetos e doenças (MUTHUKUMARAN; SELVANARAYANAN, 2008). Elliger et al. (1981) isolaram e identificaram vários compostos de folhas de *Lycopersicon esculentum* capazes de retardar o crescimento de *Helicoverpa zea* (Boddie, 1850) (Lepidoptera: Noctuidae). Os compostos majoritários identificados foram rutina, ácido clorogênico e alfa-tomatina. Stamp e Orsier (1998) estudaram o efeito desses três semioquímicos sobre o comportamento e desenvolvimento de cinco insetos herbívoros, entre eles a *S. frugiperda*. A quantidade de dieta ingerida pelas larvas nesse estudo foi afetada negativamente pela presença da rutina, do ácido clorogênico e da alfa-tomatina, de forma independente. Quando adicionada à dieta artificial, a tomatina teve um forte efeito sobre a taxa de desenvolvimento de larvas de *S. frugiperda* no quarto ínstar. A duração das fases foi substancialmente afetada por essa substância em regimes de temperaturas mais baixas. Houve redução na massa final da fase larval por causa das três substâncias, mas, entre as três, a alfa-tomatina teve o maior efeito sobre as larvas.

A alfa-tomatina é um glicoalcaloide esteroide encontrado em folhas, raízes, caule, flores e frutos verdes do tomateiro, estando distribuído naturalmente em toda a planta. Sua concentração nos tecidos varia com o estágio de desenvolvimento da planta, condições de crescimento (temperatura, umidade, tipo de solo) e região de cultivo (KOZUKUE et al., 2004; FRIEDMAN, 2004). É encontrada em maior concentração em frutos verdes, em que a degradação desse composto inicia-se no instante da colheita

até a maturação do fruto, podendo cair até 94% após 30 dias da colheita (JUVIK; STEVENS, 1982).

O acesso PI 134417 de tomate selvagem (*Lycopersicon hirsutum* f. *glabratum*) tem sido extensivamente estudado e reconhecido por sua resistência ao ataque de diversas pragas, entre elas *H. zea* e *Spodoptera littoralis*. No caso dessa espécie, a resistência a pragas tem sido associada principalmente à presença de duas cetonas: a 2-undecanona e a 2-tridecanona. Ao lado dessas cetonas, outros compostos, como ácido clorogênico, alfa-tomatina, gumuleno e açúcares redutores, parecem contribuir com a resistência desse acesso a pragas (MAGALHÃES et al., 2001).

Ferreres et al. (2011) caracterizaram 15 compostos fenólicos (sendo nove inéditos) e quatro glicoalcaloides presentes em folhas de *L. esculentum*. Ao estudarem o sistema *L. esculentum*/*Spodoptera exigua*, não detectaram a presença de compostos fenólicos nos tecidos da praga alimentada por folhas de *L. esculentum*, indicando uma habilidade da praga em metabolizar esse tipo de substância. Entretanto, entre os glicoalcaloides, a alfa-tomatina foi considerada o composto mais recorrente, sendo encontrada tanto na folha da planta quanto nos tecidos de todas as fases da praga alimentada com folhas desse hospedeiro (com exceção da fase adulta) e nos excrementos das larvas sendo, portanto, relativamente pouco metabolizada pela *S. exigua*.

Destacando outras atividades biológicas da alfa-tomatina, Chu e Lu (1992) avaliaram sua toxicidade sobre ovos de *Plutella xylostella* (Linnaeus, 1758) (Lepidoptera: Plutellidae), uma importante praga de crucíferas, obtendo a redução de 75% em

sua viabilidade, quando utilizaram soluções com concentração de 0,1% do glicoalcaloide em etanol. Ensaios in vivo e in vitro feitos por Andrino (2010) comprovaram uma potente atividade antifúngica da alfa-tomatina, controlando o crescimento e o desenvolvimento do fungo fitopatogênico *Moniliophthora perniciosa*, causador da vassoura-de-bruxa-do-cacaueiro.

Considerando as restrições de uso de inseticidas sintéticos nos sistemas de produção de base ecológica e de produção orgânica, os chamados métodos alternativos de controle de pragas vêm ganhando uma importância cada vez maior. Em alguns casos, podem garantir produção equiparável ao sistema convencional, porém de forma mais sustentável para o ambiente e saudável para o trabalhador do campo e para o consumidor. Dentre esses métodos, os mais utilizados atualmente na cultura do milho são a aplicação de extratos de plantas inseticidas, como o nim (VIANA et al., 2006), a criação e liberação de inimigos naturais das pragas, como vespas, joaninhas e tesourinha (INIMIGOS..., 2004), e a aplicação de formulações contendo microrganismos como *Bacillus turingiensis* e *Baculovirus spodoptera* (VALICENTE; TUELHER, 2009). Cabe destacar ainda o uso de práticas culturais e de gestão da propriedade que favorecem a manutenção do equilíbrio e da biodiversidade, como manutenção de áreas de preservação, diversificação e rotação de culturas (FINCH; COLLIER, 2012).

Trabalhos desenvolvidos pela Emater-MG mostram que a rotação entre o tomate e o milho pode ser muito vantajosa (PITOMBEIRA, 2013). Após o cultivo do tomate, o produtor precisa fazer uma rotação para evitar o surgimento de pragas e doenças e, para isso, geralmente utiliza a cultura do milho,

do feijão ou até mesmo reforma de pasto, dependendo de cada região. Como o tomateiro é uma planta muito exigente, a adubação acaba sendo intensa para essa cultura. No entanto, nem todos os nutrientes são absorvidos pelo tomateiro. Então, existe uma adubação residual nesse sistema que pode ser aproveitada pela cultura em rotação. Em Turvolândia-MG, essa prática elevou a produtividade do milho em 50%, com grande economia na quantidade de fertilizantes e obtendo um solo mais equilibrado.

Tendo em vista a existência de componentes bioativos nas folhas de tomateiro, a necessidade constante de se desenvolver tecnologias para controle de pragas em sistemas de base ecológica e as vantagens agronômicas da utilização dessas duas culturas em rotação, a possibilidade de aproveitamento das folhas de tomateiro (que normalmente são descartadas ao final da colheita dos frutos) para o manejo de pragas através do uso de caldas pode ser uma grande oportunidade para a agregação de valor econômico e ambiental a esse sistema rotacional. O objetivo desse trabalho foi realizar uma avaliação inicial, em laboratório, do efeito do extrato aquoso de folhas de tomateiro sobre larvas de *S. frugiperda*, para conhecer o real potencial desse insumo como inseticida natural.

## **Material e Métodos**

Folhas de tomateiro foram coletadas em duas épocas e em dois locais diferentes, de acordo com a disponibilidade de material orgânico, ou seja, sem o uso de insumos químicos nas folhas, que poderiam interferir nos bioensaios. No mês de abril de 2013, a coleta foi feita no campo de produção da Fito Alimentos, em Capim Branco-MG, de plantas do híbrido Serato

F1 (Topseed®) semeadas havia 75 dias (Figura 1). O controle de pragas e doenças nessa unidade é feito apenas com produtos registrados para uso em sistemas de produção orgânicos, como Dipel® e Rocksil®. Nenhuma pulverização desses produtos havia sido feita nos 15 dias que antecederam a coleta, período após o qual provavelmente não há atividade residual desses produtos sobre as pragas. No mês de setembro do mesmo ano, a coleta foi feita na Fazenda Vista Alegre, também em Capim Branco-MG.



**Figura 1.** Plantio orgânico de tomate na Fito Alimentos, Capim Branco-MG

Folhas de cartucho de milho convencional foram coletadas de plantios mantidos na área experimental da Embrapa Milho e Sorgo, em Sete Lagoas-MG. Na data da coleta, as plantas do híbrido Pioneer 30F35 estavam entre os estádios V5 e V8. Também na área da Embrapa foram coletadas folhas de nim, de árvores estabelecidas havia mais de 10 anos.

Os bioensaios foram realizados no laboratório de Ecotoxicologia de Insetos da Embrapa Milho e Sorgo, utilizando larvas neonatas de *S. frugiperda* provenientes de criações mantidas em laboratório por vários anos em dieta artificial. Na sala climatizada do laboratório, a temperatura e a umidade relativa do ar são controladas constantemente ( $26\pm 2$  °C e  $65\pm 5\%$ , respectivamente), com fotofase de 12 hs.

Os resultados dos bioensaios foram submetidos a teste de homogeneidade de variâncias e as médias foram comparadas pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade, utilizando o software Sisvar versão 5.3.

## **Bioensaio de Não Preferência Larval com Chance de Escolha**

A não preferência do primeiro ínstar da *S. frugiperda* foi avaliada pelo teste de livre escolha para alimentação (MENDES et al., 2011). Uma folha pequena intacta de tomateiro com aproximadamente 16 cm<sup>2</sup> e uma secção de folha de milho de mesma área foram dispostas em placas de Petri de 20 cm de diâmetro por 2 cm altura em sistema de arena, de forma equidistante (Figura 2). Posteriormente, no centro de cada arena, foram liberadas dez lagartas neonatas. Cada placa foi considerada uma repetição. As placas (40 repetições) foram fechadas com parafilme, cobertas com pano preto para evitar o efeito de fototropismo e mantidas na sala climatizada. Vinte e quatro horas após a liberação, avaliou-se o número de lagartas em cada folha.



**Figura 2.** Bioensaio de não preferência com chance de escolha.

## **Bioensaios de Sobrevivência e Desenvolvimento Larval sem Chance de Escolha**

### **Tecido Vegetal**

Para avaliar a sobrevivência e o desenvolvimento de *S. frugiperda* em folhas de tomateiro durante sete dias, cinco larvas neonatas foram colocadas em copos plásticos de 50 mL contendo duas folhas frescas grandes (cerca de 3,5 g), que foram fechados com tampa de acrílico. Os copos, em 48 repetições, foram acondicionados em bandejas de isopor e mantidos na sala climatizada do laboratório. Como controle, o mesmo número de repetições foi utilizado, substituindo as folhas de tomateiro por três seções de folhas tenras de milho com cerca de 10 cm<sup>2</sup>. Para evitar o canibalismo, as larvas sobreviventes após 2 dias foram confinadas individualmente.

As folhas de tomateiro e de milho foram substituídas por folhas frescas após 2 e 4 dias do início do experimento. A sobrevivência das larvas foi avaliada após 2, 4 e 7 dias. Para a avaliação da sobrevivência de 2 dias, o conjunto de cinco lagartas de cada copo foi considerado uma repetição. Após confinamento individual, ou seja, nas avaliações de sobrevivência de 4 e 7 dias, cada grupo de 4 lagartas foi considerado uma repetição. Após 7 dias, a biomassa das larvas foi determinada utilizando balança analítica (resolução de 0,1 mg).

### **Dieta Artificial Contendo Extrato Aquoso Incorporado**

Para avaliar o efeito do extrato aquoso de folhas de tomateiro sobre a sobrevivência e o desenvolvimento de larvas de *S. frugiperda*, 55 g de folhas de tomateiro foram batidos com 250 mL de água deionizada em liquidificador de aço inox e coados em tecido tipo *voil*. A concentração do extrato foi definida com base na concentração considerada eficiente para controle da *S. frugiperda* com extratos aquosos de nim (VIANA et al., 2006). Em um tubo tipo Falcon de 50 mL, foram adicionados 5 mL do extrato aquoso filtrado e 45 mL de dieta artificial mantida em banho maria a 55 °C. Essa mistura foi agitada vigorosamente por dois minutos, alternando agitação manual e em agitador do tipo Vortex. A dieta artificial contendo o extrato incorporado foi vertida em uma seringa de 50 mL e, utilizando-se uma pipeta de repetição ajustada para dispensar 1 mL por vez, a dieta artificial contendo 10% de extrato aquoso de folhas de tomateiro foi adicionada a 32 células individuais de uma bandeja plástica, contendo 128 células no total (Figura 3). Para preenchimento de todas as células da bandeja, esse procedimento (mistura de extrato e dieta artificial em tubo Falcon) foi repetido mais três vezes. A distribuição dos tratamentos na bandeja foi feita

de forma aleatória. Para que a dieta tivesse tempo de secar e endurecer, a bandeja foi deixada em repouso por uma hora. Em seguida, foi adicionada, a cada célula, uma larva neonata de *S. frugiperda* e cada conjunto de 16 células foi tampado com filme adesivo.



**Figura 3.** Bioensaio utilizando dieta artificial com extrato aquoso de plantas incorporado.

Como controle positivo, foi preparado um tratamento com o mesmo número de repetições do procedimento descrito acima, porém substituindo-se as folhas de tomateiro por folhas de nim, um comprovado bioinseticida (VIANA et al., 2006). Como testemunha, o mesmo número de repetições foi preparado substituindo-se os extratos foliares por água deionizada.

A sobrevivência e a biomassa das larvas de metade das repetições de cada tratamento foram avaliadas após 7 dias, e a outra metade, após 11 dias do início do experimento, tempo limite para alimentação da lagarta com o volume da dieta artificial disponível em cada célula.

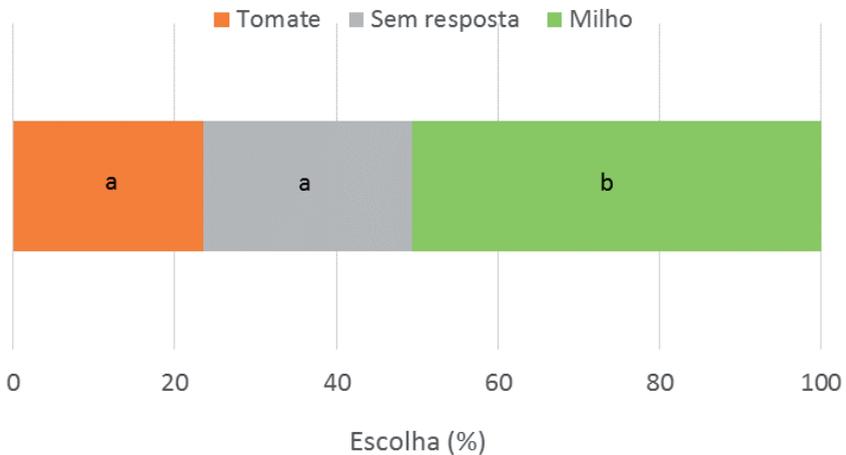
Amostras de folhas de tomateiro e de nim foram encaminhadas para análise de matéria seca, para determinar o teor de umidade nas folhas frescas.

Procurando correlacionar a concentração dos extratos de folhas de tomateiro com seu efeito sobre a sobrevivência e o desenvolvimento das larvas, foram testadas concentrações variadas de extratos a saber: 27,5; 55; 110; 165 e 220 g/250 mL de água.

## **Resultados e Discussão**

### **Não Preferência com Chance de Escolha**

No teste de livre escolha, observou-se diferença significativa no número de larvas de *S. frugiperda* encontradas em folhas de milho e em folhas de tomateiro. Em média, 50,6% das larvas concentraram-se nas folhas de milho, 23,6% nas de tomateiro e as 25,8% restantes ficaram em posições intermediárias, consideradas como não resposta (Figura 4).



**Figura 4.** Porcentagem média de escolha de folhas por larvas neonatas de *S. frugiperda*. Médias seguidas de mesma letra não diferem pelo teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade.

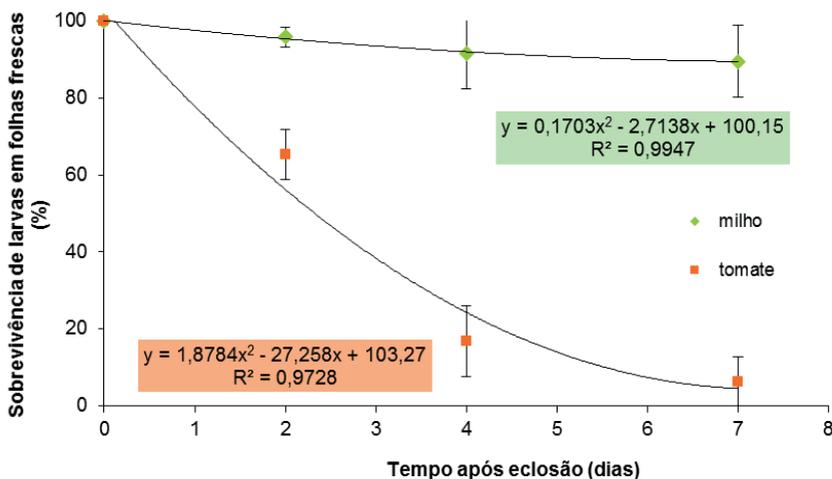
Sendo assim, pode-se inferir que as larvas apresentam não preferência pelas folhas do tomateiro, já que não houve diferença significativa entre a porcentagem de larvas em suas folhas e nas áreas neutras, e que os compostos voláteis emitidos pelas folhas de milho exercem atração sobre larvas neonatas de *S. frugiperda* em busca de alimento. Piesik et al. (2009) também verificaram que a orientação predominante de deslocamento de larvas neonatas da broca do milho europeia, *Ostrinia nubilalis* Hübner (Lepidoptera: Crambinae), foi em direção a folhas de seu hospedeiro preferencial, o milho, quando comparado com folhas de espinafre, um hospedeiro com menor preferência para essa espécie.

Alguns compostos, como por exemplo o linalol, foram anteriormente identificados na composição de voláteis de milho e comprovados como atraentes de larvas (CARROLL et al., 2006), o que explica o comportamento observado nesse experimento. Esse comportamento vai de encontro ainda com as conclusões de Silva et al. (2012), que verificaram uma preferência de larvas de *S. frugiperda* pelas gramíneas milho, trigo e cevada, em detrimento de espécies de outras famílias, como soja e algodão. Ensaios utilizando milho, sorgo, milheto, trigo, arroz e grama tifton demonstraram que, entre as gramíneas, o milho ainda destaca-se como o hospedeiro preferencial da *S. frugiperda*, atraindo até seis vezes mais larvas do que as demais gramíneas (BOREGAS et al., 2013).

## **Sobrevivência e Desenvolvimento Larval em Tecido Vegetal**

Durante todo o período de avaliação do desenvolvimento das larvas em folhas frescas de milho e de tomateiro, a sobrevivência foi significativamente influenciada pela fonte de alimentação, permanecendo próxima a 90% nas folhas de milho ao final de sete dias, mas chegando a menos de 7% nas folhas de tomateiro (Figura 5).

Foram encontradas equações polinomiais de segunda ordem para descrever a sobrevivência das larvas tanto em folhas de milho como de tomateiro, com fatores de determinação acima de 0,97, demonstrando bom ajuste dos pontos observados aos modelos preditos.



**Figura 5.** Sobrevivência de larvas neonatas de *S. frugiperda* em folhas de tomateiro e de milho..

A comparação estatística da biomassa acumulada pelas larvas alimentadas pelas diferentes folhas após sete dias ficou comprometida por causa da baixa sobrevivência de larvas alimentadas com folhas de tomateiro. Apenas três larvas das 48 repetições sobreviveram nas folhas de tomateiro, acumulando biomassa entre 0,5 e 0,9 mg (média de  $0,67 \pm 0,12$  mg), valor muito inferior à biomassa das larvas alimentadas com folhas de milho que foi, em média,  $12,4 \pm 1,2$  mg, ou seja, quase vinte vezes maior. Essa observação reforçou a hipótese da presença de componentes ativos na composição das folhas de tomateiro. Sendo assim, apesar de o tomateiro ser indicado por Pogue (2002) como hospedeiro da *S. frugiperda*, certamente a folha não é uma das estruturas preferencialmente predadas dessa planta. De fato, Guimarães et al. (2011) relatam *H. zea* e *Spodoptera* spp. como brocas-gigantes que atacam o fruto do tomateiro, indicando o controle delas com vespínhas

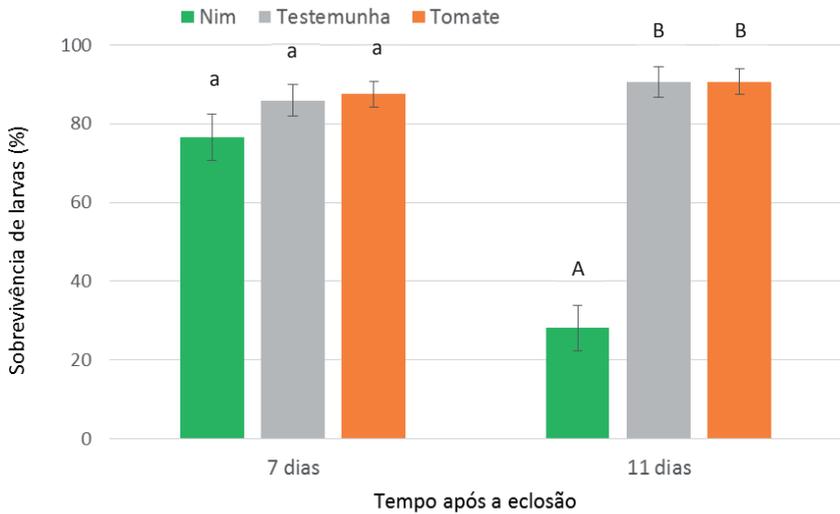
parasitoides de ovos e com inseticidas à base de *Bacillus thuringiensis*.

## **Sobrevivência e Desenvolvimento Larval em Dieta Artificial Contendo Extratos Foliare**

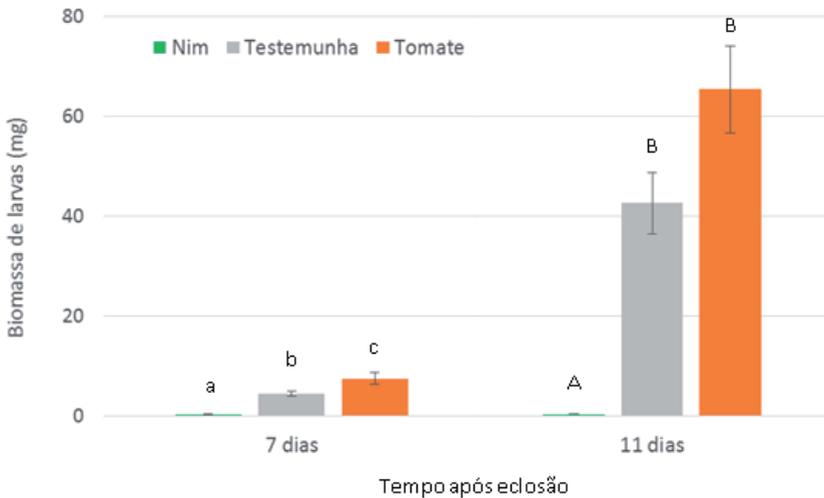
Ao contrário do que foi observado no experimento em que as larvas foram alimentadas diretamente com a folha do tomateiro, a sobrevivência não foi influenciada pela presença de extrato aquoso de folha de tomateiro na dieta artificial oferecida às larvas em nenhuma das avaliações feitas (Figura 6). Já o tratamento que continha extrato aquoso de folha de nim preparado na mesma concentração (peso fresco/volume) do extrato de folha de tomateiro não apresentou diferença de sobrevivência nos primeiros 7 dias do bioensaio, porém diferenciou-se significativamente dos outros dois tratamentos após 11 dias de vida das larvas (sobrevivência de 28% no nim, 91% no tomateiro e 91% na dieta artificial pura - testemunha), confirmando a eficiência dos extratos dessa planta no controle de *S. frugiperda* (VIANA et al., 2006) e demonstrando que a metodologia de incorporação de extratos proposta nesse trabalho foi adequada e eficiente para o que se propôs.

No que se refere à biomassa, houve diferença significativa após 7 dias entre as larvas que se alimentaram de dieta artificial contendo extrato de folhas de tomateiro, de nim e a dieta artificial pura, com médias de 7,65, 4,70 e 0,33 mg respectivamente, o que demonstra, mais uma vez, o efeito negativo do nim sobre a biologia da *S. frugiperda* (Figura 7). O acúmulo de biomassa maior no tratamento contendo extrato de folha de tomateiro pode estar associado à presença de nutrientes da folha incorporados à dieta

artificial que favoreceram o desenvolvimento das larvas nos primeiros ínstares. A avaliação dos tratamentos após 11 dias demonstraram que as larvas sobreviventes do tratamento contendo nim tiveram um ganho de biomassa expressiva e significativamente menor do que os outros dois tratamentos, que por sua vez não se diferenciaram entre si estatisticamente.



**Figura 6.** Sobrevivência (média±erro padrão) de larvas neonatas de *S. frugiperda* em dieta artificial contendo extrato de folhas incorporado. Médias seguidas de mesma letra não diferem pelo teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade.



**Figura 7.** Biomassa (média±erro padrão) de larvas neonatas de *S. frugiperda* em dieta artificial contendo extrato de folhas incorporado. Médias seguidas de mesma letra não diferem pelo teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade.

Durante o preparo dos extratos aquosos das duas plantas estudadas verificou-se, após a filtração, uma diferença muito grande entre a massa da torta residual obtida de cada tipo de folha, sendo que as folhas de nim resultaram em muito mais material sólido do que o mesmo peso de folhas frescas de tomateiro. Dessa observação inferiu-se que o teor de umidade nas folhas de tomateiro, que são mais tenras, seria muito maior do que nas folhas de nim. Essa informação foi confirmada pela análise de matéria seca a 65 °C, que foi de 29,2% para as folhas de tomateiro e 45,8% para as folhas de nim.

Com base nessa informação, decidiu-se realizar novo bioensaio aumentando gradativamente a concentração de folhas de tomateiro no extrato e mantendo a concentração de folhas de nim, de forma a compensar o maior teor de umidade presente nas folhas do primeiro e obter maiores concentrações dos princípios ativos em seus extratos. No tratamento mais concentrado, chegou-se a utilizar massa verde de folha de tomateiro até quatro vezes a massa de folha de nim. Esse aumento na massa de folhas de tomateiro não surtiu efeito significativo sobre a sobrevivência ou sobre a biomassa das larvas de *S. frugiperda* (Tabela 1), levando-nos a concluir que substâncias potencialmente ativas contra a praga, como alfa-tomatina, ácido clorogênico ou rutina, não estavam presentes nas folhas das variedades de tomate usadas nesse trabalho ou, se presentes, não foram solubilizadas através da extração aquosa, que foi bastante efetiva no caso dos extratos preparados a partir de folhas de nim.

**Tabela 1.** Sobrevivência e biomassa (médias  $\pm$  erro padrão) de larvas neonatas de *S. frugiperda* alimentadas com dieta artificial contendo extratos foliares de tomateiro e de nim.

Extrato incorporado à dieta artificial	Concentração (g/250mL água)	Avaliação 7 dias		Avaliação 11 dias	
		Sobrevivência (%)	Biomassa (mg)	Sobrevivência (%)	Biomassa (mg)
Tomateiro	27,5	96,9 $\pm$ 2,1 a	32,8 $\pm$ 2,9 a	96,9 $\pm$ 2,1 a	214,4 $\pm$ 15,6 a
Tomateiro	55	96,9 $\pm$ 2,1 a	27,6 $\pm$ 2,6 a	96,9 $\pm$ 2,1 a	229,5 $\pm$ 15,9 a
Tomateiro	110	96,9 $\pm$ 2,1 a	33,9 $\pm$ 2,9 a	96,9 $\pm$ 2,1 a	255,8 $\pm$ 17,4 a
Tomateiro	165	93,8 $\pm$ 2,8 a	33,7 $\pm$ 3,1 a	95,3 $\pm$ 2,5 a	225,8 $\pm$ 18,5 a
Tomateiro	220	96,9 $\pm$ 3,1 a	33,9 $\pm$ 2,6 a	93,8 $\pm$ 3,6 a	267,3 $\pm$ 19,7 a
Nim	55	68,8 $\pm$ 6,2 b	0,36 $\pm$ 0,04 b	28,1 $\pm$ 5,5 b	0,44 $\pm$ 0,09 b
(Sem folhas - Testemunha)	-	89,1 $\pm$ 3,2 a	28,1 $\pm$ 2,7 a	95,3 $\pm$ 2,5 a	194,4 $\pm$ 19,7 a

Médias seguidas de mesma letra não diferem pelo teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade na coluna.

## Conclusão

Larvas neonatas de *S. frugiperda* distinguem entre folhas de milho e de tomateiro quando submetidas a testes de livre escolha, optando pelas de milho, em número duas vezes maior do que nas folhas de tomateiro.

Quando confinadas, sem chance de escolha, as larvas que se alimentaram das folhas do tomateiro tiveram sua sobrevivência e sua biomassa reduzidas em comparação com o milho convencional, indicando um possível efeito de antibiose nos compostos ativos presentes naquela planta. Apesar desse resultado, quando preparados extratos aquosos de folhas de tomateiro e incorporados à dieta artificial em laboratório, não observou-se efeito negativo sobre a sobrevivência ou o desenvolvimento de larvas neonatas quando comparados com a dieta artificial sem extratos. O uso de um controle negativo contendo extrato aquoso de folhas de nim demonstrou que a metodologia de avaliação de extratos em células individuais foi eficaz, podendo ser utilizado em escala para *screening* de plantas com potencial para controle de pragas importantes nos cultivos de milho em sistemas de base ecológica.

Novos estudos envolvendo folhas de tomateiro deverão priorizar uma avaliação prévia da presença de semioquímicos nas folhas através de análises químicas, além da exploração de solventes mais adequados para a extração desses componentes ativos.

## Agradecimentos

Às equipes da Fito Alimentos (Marcos e Márcio) e da Fazenda Vista Alegre (Lucas e Marcone), pela disponibilização de material vegetal de plantações de alimentos orgânicos para os bioensaios, e a Fernando C. Tinoco França, da Emater-MG, pela indicação desses parceiros.

## Referências

- ANDRINO, F. G. **Estudo químico de compostos de *Solanum lycopersicum* com atividade antifúngica para *Moniliophthora perniciosa***. 2010. 67 f. Dissertação (Mestrado) - Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Piracicaba.
- BOREGAS, K. G. B.; MENDES, S. M.; WAQUIL, J. M.; FERNANDES, G. W. Estádio de adaptação de *Spodoptera frugiperda* (J. E. Smith) (Lepidoptera: Noctuidae) em hospedeiros alternativos. **Bragantia**, Campinas, v. 72, n. 1, p. 61-70, 2013.
- CARROLL, M. J.; SCHMELZ, E. A.; MEAGHER, R. L.; TEAL, P. E. A. Attraction of *Spodoptera frugiperda* larvae to volatiles from herbivore-damaged maize seedlings. **Journal of Chemical Ecology**, New York, n. 32, p. 1911-1924, 2006.
- CHU, Y.; LU, F. The ovicidal effect of tomatine against deposited eggs of the diamondback moth, *Plutella xylostella* L. **Chinese Journal of Entomology**, n. 12, n. 3, p. 213-216, 1992.
- CRUZ, I.; OLIVEIRA, L. J.; OLIVEIRA, A. C.; VASCONCELOS, C. Efeito do nível de saturação de alumínio em solo ácido sobre os

danos de *Spodoptera frugiperda* (J. E. Smith) em milho. **Anais da Sociedade Entomológica do Brasil**, Londrina, v. 25, p. 293-297, 1996.

ELLIGER, C. A.; WONG, Y.; CHAN, B. G.; WAISS JR, A. C. Growth inhibitors in tomato (*Lycopersicon*) to tomato fruitworm (*Heliothis zea*). **Journal of Chemical Ecology**, New York, v. 7, n. 4, p. 753-758, 1981.

FERRERES, F.; TAVEIRA, M.; GIL-IZQUIERDO, A.; OLIVEIRA, L.; TEIXEIRA, T.; VALENTÃO, P.; SIMÕES, N.; ANDRADE, P. B. High-performance liquid chromatography-diode array detection-electrospray ionization multi-stage mass spectrometric screening of an insect/plant system: the case of *Spodoptera littoralis/Lycopersicon esculentum* phenolics and alkaloids. **Rapid Communications in Mass Spectrometry**, Chichester, n. 25, p. 1972-1980, 2011.

FINCH, S.; COLLIER, R. H. The influence of host and non-host companion plants on the behaviour of pest insects in field crops. **Entomologia Experimentalis et Applicata**, Dordrecht, n. 142, p. 87-96, 2012.

FRIEDMAN, M. Analysis of biologically active compounds in potatoes (*Solanum tuberosum*), tomatoes (*Lycopersicon esculentum*), and jimson weed (*Datura stramonium*) seeds. **Journal of Chromatography A**, Amsterdam, v. 1054, n. 1/2, p. 143-155, Oct. 2004.

GUIMARÃES, J. A.; MICHEREFF FILHO, M.; LIZ, R. S. de. **Manejo de pragas em campos de produção de sementes de hortaliças.**

Brasília, DF: Embrapa Hortaliças, 2011. 21 p. il. (Embrapa Hortaliças. Circular técnica, 94).

INIMIGOS naturais de pragas nas culturas de milho e sorgo: técnicas de liberação de *Trichogramma* spp. nas culturas de milho e sorgo. Sete Lagoas: Embrapa Milho e Sorgo, 2004. 1 folder. (Controle biológico, 16).

JUVIK, J. A.; STEVENS, M. A. Physiological mechanisms of host-plant resistance in the genus *Lycopersicon* to *Heliothis zea* and *Spodoptera exigua*, two insect pests of the cultivated tomato. **Journal of the American Society of Horticultural Science**, n. 107, v. 6, p. 1065-1069, 1982.

KARAM, D.; MACHADO, Y.; FERREIRA, A. A.; ABRIL, P. A. S.; RIBEIRO, P. E. A.; PRATES, H. T.; TAKAHASHI, J. A. Desenvolvimento de metodologias para a análise por HPLC de derivados fenólicos presentes em cultivares de milho resistentes à praga de cartucho. In: CONGRESSO NACIONAL DE MILHO E SORGO, 26.; SIMPÓSIO BRASILEIRO SOBRE A LAGARTA-DO-CARTUCHO, SPODOPTERA FRUGIPERDA, 2.; SIMPÓSIO SOBRE COLLETOTRICHUM GRAMINICOLA, 1., 2006, Belo Horizonte. **Inovação para sistemas integrados de produção: trabalhos apresentados**. Sete Lagoas: ABMS, 2006.

KOZUKUE, N.; HAN, J. S.; LEE, K. R.; FRIEDMAN, M. Dehydrotomatine and  $\alpha$ -tomatine content in tomato fruits and vegetative plant tissues. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Easton, v. 52, n. 7, p. 2079-2083, 2004.

MACHADO, Y. **Prospecção química de genótipos de milho com resistência a *Spodoptera frugiperda***. 2010. 97 p. Dissertação

(Mestrado) - Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, 2009.

MAGALHÃES, S. T. V.; JHAM, G. N.; PICANÇO, M. C.; MAGALHÃES, G. Mortality of second-instar larvae of *Tuta absoluta* produced by the hexane extract of *Lycopersicon hirsutum* f. *glabratum* (PI 134417) leaves. **Agricultural and Forest Entomology**, n. 3, p. 297-303, 2001.

MENDES, S. M.; BOREGAS, K. G. B.; LOPES, M. E.; WAQUIL, M. S.; WAQUIL, J. M. Respostas da lagarta-do-cartucho a milho geneticamente modificado expressando a toxina Cry 1A(b). **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 46, n. 3, p. 239-244, mar. 2011.

MUTHUKUMARAN, N.; SELVANARAYANAN, V. Resistance in hybrid derivatives of *Lycopersicon* accessions against leaf caterpillar, *Spodoptera litura* Fab. **Insect Science**, n. 15, n. 2, p. 141-146, 2008.

PIESIK, D.; ROCHAT, D.; PERS, J. van der; MARION-POLL, F. Pulsed odors from maize or spinach elicit orientation in European corn borer neonate larvae. **Journal of Chemical Ecology**, n. 35, p. 1032-1042, 2009.

POGUE, M. **A World revision of the genus *Spodoptera guenee* (Lepidoptera: Noctuidae)**. Washington: American Entomological Society, 2002. (Memoirs of the American Entomological Society, n. 43).

PITOMBEIRA, C. Rotação de tomate com milho aumenta produtividade: prática promove economia em quantidade

de fertilizantes e favorece ao equilíbrio do solo. **Portal Dia de Campo**, 04 set. 2013. Disponível em: <<http://www.diadecampo.com.br/zpublisher/materias/Newsletter.asp?data=12/01/2012&id=25809&secao=Agrotemas#null>>. Acesso em: 06 out. 2013.

SILVA, D. M.; BUENO, A. F.; FRANÇA, L. F.T.; MANTOVANI, M. A. M.; STECCA, S. C.; LEITE, N.; OLIVEIRA, M. C. N.; MOSCARDI, F. Biologia e preferência alimentar de *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: noctuidae) em diferentes fontes hospedeiras. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE SOJA, 6., 2012, Cuiabá. **Soja: integração nacional e desenvolvimento sustentável: anais**. Brasília, DF: Embrapa, 2012. 1 CD-ROM.

SIMMONDS, M. S. J. The search for plant-derived compounds with antifeedant activity. In: RAI, M.; CARPINELLA, M. C. (Ed.). **Naturally occurring bioactive compounds**. Amsterdam: Elsevier, 2006. p. 291-324.

STAMP, N. E.; OSIER, T. L. Response of five insect herbivores to multiple allelochemicals under fluctuating temperatures. **Entomologia Experimentalis et Applicata**, Dordrecht, n. 88, p. 81-96, 1998.

VALICENTE, F. H.; TUELHER, E. de S. **Controle biológico da lagarta do cartucho, *Spodoptera frugiperda*, com baculovírus**. Sete Lagoas: Embrapa Milho e Sorgo, 2009. 14 p. (Embrapa Milho e Sorgo. Circular técnica, 114).

VIANA, P. A.; PRATES, H. T.; RIBEIRO, P. E. de A. **Uso do extrato aquoso de folhas de nim para o controle de *Spodoptera frugiperda* na cultura do milho**. Sete Lagoas: Embrapa Milho e Sorgo, 2006. 5 p. (Embrapa Milho e Sorgo. Circular técnica, 88).



Ministério da  
Agricultura, Pecuária  
e Abastecimento

